

神奈川工科大学

バイオメディカル研究センター

研究報告

第 5 号

2024 年度

研究推進機構

目次

- ・ 焼成ホタテ貝殻粉末処理による鶏肉の既存細菌および接種された
リステリア菌の不活性化

管理栄養学科 澤井 淳

- ・ シャペロニンを反応場とした 2-アントラセンカルボン酸の位置選択的光環化二量化
反応

応用化学生物学科 小池 あゆみ

- ・ 味覚 Display 開発への基礎検討

情報メディア学科 服部 元史

- ・ タンパク質分子構造の仮想空間表示ツールの教育的活用を検討

情報ネットワーク・コミュニケーション学科 井上 哲理

応用化学生物学科 小池 あゆみ

応用化学生物学科 高村 岳樹

教育開発センター（応用化学生物学科）依田 ひろみ

焼成ホタテ貝殻粉末処理による鶏肉の既存細菌および接種された リステリア菌の不活性化

管理栄養学科 澤井 淳

1. 研究の目的

本研究では、焼成ホタテ貝殻粉末（Heated Scallop Shell Powder: HSSP）の食肉への応用として、鶏腿肉に元から存在する細菌および接種した *Listeria monocytogenes* に対する HSSP 処理の効果を検証し、冷蔵保存中における微生物制御および保存性の向上への影響を明らかにすることを目的とする。

2. 研究の必要性及び従来の研究

ホタテ貝殻の多くは産業廃棄物として処理されており、産地では悪臭などの公害問題となっている。焼成処理により得られる HSSP は、抗菌性を示す酸化カルシウム（CaO）を主成分とし、細菌・真菌・芽胞・ウイルス・バイオフィームなど幅広い微生物に対する殺菌効果が報告されている。さらに、近年ではナノ粒子化による抗菌性の向上や、透明性のある抗菌塗料、さらには医療分野への応用可能性（創傷治療用軟膏など）も示されている。

食品分野への応用も進んでおり、野菜、果物、魚肉製品、包装材料などにおいて殺菌・除菌効果が認められている。しかしながら、食肉、特に鶏肉への応用に関する研究例は少ない。特に *L. monocytogenes* は、低温でも増殖可能であるため冷蔵食品からの食中毒リスクが高く、高齢者や妊婦、免疫低下者においては致命的な症状を引き起こすことがある重大な食中毒起因菌である。そのため、冷蔵保存中における *L. monocytogenes* の制御は、食品安全の観点から極めて重要である。

3. 期待される効果

HSSP 処理を鶏腿肉に適用することで、*L. monocytogenes* を含む微生物の増殖を抑制し、冷蔵保存中の衛生状態および保存性の向上が期待される。特に *L. monocytogenes* は、他の多くの細菌と異なり低温環境でも増殖可能であり、冷蔵庫で保存される調理済み食品や生鮮食品において深刻な食中毒を引き起こすリスクがある。HSSP による抑制効果が確認できれば、食肉の安全性を高める手段として大きな意義を持つ。また、HSSP は食品中のカルシウム補給源としても機能するため、栄養価の向上も見込める。加えて、産業廃棄物であるホタテ貝殻を有効資源として利活用することにより、環境負荷の軽減や地域の公害問題の緩和にも貢献する。これらの成果は、食品の安全性向上と持続可能な資源循環の双方に寄与する。

4. 研究の経過及び結果・評価

4.1 実験方法

市販の鶏もも肉を使用し、2つの実験を行った。一つ目の実験では、鶏もも肉に元々存在する自然汚染菌に対する HSSP 処理の効果を検討するため、鶏もも肉をそのまま使用した。二つ目の実験では、*L. monocytogenes* に対する影響を調べるため、*L. monocytogenes* を接種した鶏もも肉を使用した。これらの鶏もも肉を 1%および 5%濃度の HSSP スラリーで 60 分間処理した。処理後、10°Cで保存中の各日（0、3、5、7 日目）における一般生菌数、大腸菌群数、および *L. monocytogenes* 数の変化を評価した。

4.2 鶏肉の自然汚染菌への効果

未処理の鶏肉の一般生菌数は、冷蔵保存中でも 3 日目には 1 オーダー増加して $5\log_{10}$ CFU/g を超え、7 日目には約 2 オーダー増加し、 $6.7\log_{10}$ CFU/g に達した。一方、HSSP 処理（1%、5%）した場合は、7 日後においても未処理の場合より 1~3 オーダー低く抑えられた。大腸菌群では、未処理の鶏肉では 7 日目には $5\log_{10}$ CFU/g を超えた。一方、HSSP 処理にいては、日が経つにつれ大腸菌群の増加は見られたが、7 日目でも 1%では $5\log_{10}$ CFU/g 未満、5%では $4\log_{10}$ CFU/g 未満に抑えられていた。

4.3 鶏肉に摂取した *L. monocytogenes* への効果

L. monocytogenes を接種した鶏肉サンプルを作製し、4.2 で有効であった 5%の HSSP 処理を行った。Control を比較すると、*L. monocytogenes* と一般生菌の菌数に殆ど差がないことから、これはアルコール処理により鶏もも肉中に存在する細菌の殆どが接種した *L. monocytogenes* で占められていると考えられた。未処理肉（Control）での *L. monocytogenes* は、冷蔵保存中の 7 日間で、接種後の $5\log_{10}$ CFU/g から $9\log_{10}$ CFU/g まで増加した。一方、HSSP5%処理した鶏肉では、処理により *L. monocytogenes* は約 2 オーダーほど減少した（0 日目）。そして、その後も保存期間中における *L. monocytogenes* の有意な増加は認められず（ $p < 0.05$ ）、7 日目における Control との差は約 6 オーダーにもなった。以上の結果より、鶏もも肉への HSSP 処理の有効性が示された。

5. 今後の計画

現在多くの分野で、薬剤耐性菌が問題となっている。耐性菌と食品との繋がりも世界的な喫緊の課題であり、One Health として取り組みが始まっている。Persister cell は遺伝子の変異に基づく耐性化と異なり、細胞集団の一定数が代謝を止めることで耐性を獲得していることが分かってきた。今後は、persister cell に対する HSSP 処理の効果を検討する。

6. 研究成果の発表： 上記の1.~4.は以下の論文の内容を要約したものである。

Omura, K., Kaibara, E., Yamaguchi, S., Aoyagi, H., Nishio, M., Tomita, K., Sawai, J.: Effect of treatment with heated scallop shell powder on the inactivation of naturally existing bacteria and *Listeria monocytogenes* inoculated on chicken meat. *Foods*, **13**, 370 (2024).

シャペロニンを反応場とした 2-アントラセンカルボン酸の位置選択的光環化二量化反応

応用化学生物学科 小池 あゆみ

1. 研究の目的

我々は、生体高分子が有するキラル環境を活用し、アキラルな反応基質を取り込ませた超分子への光照射によりキラル生成物を合成する「超分子不斉光反応（SMAP）系」構築へのシャペロニンの応用を目指した。疎水性基質に対する結合キャビティを有し、ATP 結合により大きな構造変化が誘起されることが報告されている大腸菌シャペロニン GroEL をキラル反応場とする AC の超分子不斉光反応について検討した（図 1）。

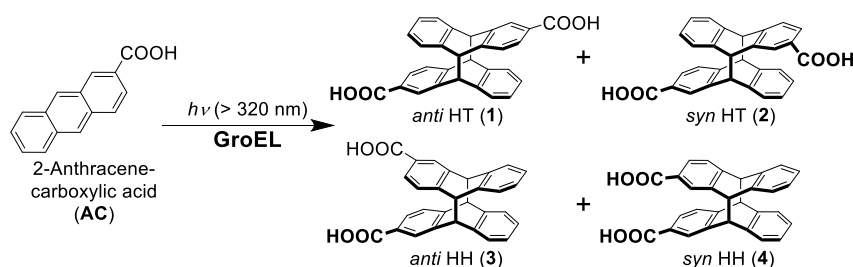


図 1 GroEL を介した AC の光環化二量化反応

2. 研究の必要性及び従来の研究

シャペロニン GroEL/GroES は、複合体内に形成される直径約 5 nm の空洞内で変性タンパク質の構造形成を介助する機能をもつが、タンパク質の他に金属粒子や化合物を取り込むことが我々のこれまでの研究により確認されており、工学的応用が期待できる。また、共同研究者の西嶋らは、血清アルブミン（SA）をキラル場とする、2-アントラセンカルボン酸（AC）の不斉光二量化を検討し、95%を超える高い光学収率（ee）が得られることを報告してきた。そこで、新規な不斉合成法の構築を目指し、GroEL 共存下での 2-アントラセンカルボン酸（AC）の不斉光環化二量化反応を行ったところ、エナンチオ選択性を確認することができた。AC と GroEL の錯形成挙動を最近実用的になりつつある分子ドッキングシミュレーションを用いて検証し、効率的な反応場となる GroEL 変異体設計を行った。

3. 期待される効果

本研究は、新しい不斉合成法として注目されている超分子不斉光反応の反応場としてタンパク質を用い、高効率な不斉光反応を達成しようとするものである。キラル化合物の選択合成は、現代化学の最重要課題の一つであり、希少金属触媒と有機溶媒を用いる系などの合成法が開発されているが、環境負荷が大きく、合成出来る化合物の制限もある。自然に優しい光を用い、タンパク質の立体構造認識機能や構造変化を活用し、従来合成困難であったキラル化合物を高い選択で得る反応系が見出せれば、自然に優しいキラル合成法として大いに貢献すると期待できる。本研究は、シミュレーション（情報）・タンパク質工学（生物）・有

機光反応（化学）を結び付ける学際領域研究であり、創薬化学や機能性素材開発といった精密合成技術への応用に期待が持てる研究成果である。

4. 研究の経過及び結果・評価

4.1 GroEL-AC 複合体のドッキングシミュレーション

GroEL-GroES 構造 (PDB ID: 1AON) を初期構造として、307～309 番目のアミノ酸配列をアラニンに置換した変異体 GroEL^{MEL} の相溶性モデルは、YASARA View (v. 22.9.24) を用いて構築した (Yasara Biosciences GmbH, Wien, Austria)。GroEL^{MEL} のアミノ酸側鎖の不要なねじれは、YASARA FoldX プラグインを用いたエネルギー最小化によって修正した。AC（リガンド）と GroEL（ホスト）のドッキングシミュレーションは、AutoDock Tools (The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA) を用いて、GroEL の原子座標ファイルの (81.119, -96.406, 2.871) を中心とするグリッドボックス (74 Å×76 Å×200 Å) を配置し行った。AutoDock Vina によるシミュレーション結果は PyMOL にて表示し、GroEL モデル表面の静電ポテンシャルマッピングは Adaptive Poisson-Boltzmann Solver (APBS) プラグインを使用して計算した。100 個の AC 分子の結合予測から、GroEL 上に 5 つの特徴的な結合部位 (I~V) が見られ、予測結合親和性からは野生型 GroEL に比べて GroEL^{MEL} の方が AC と安定な複合体が形成されると示唆された。

4.2 GroEL を介した AC の光環化二量化反応

野生型 GroEL と GroEL^{MEL} を介した AC の光環化二量化を ATP の有無で実施した。その結果、GroEL への ATP 結合および加水分解によって引き起こされた構造変化により、生成物の制御が達成されたことを示した。ドッキングシミュレーションによると、野生型 GroEL と GroEL^{MEL} の最も顕著な違いは、Location I 内での AC 配向の反転にあった。Met³⁰⁷、Glu³⁰⁸、および Leu³⁰⁹ の Ala への 3 変異は、位置 I の形状と表面電位を変化させ、AC は Lys272 と新しい水素結合ネットワークを形成した。さらに、これらの Ala 変異による疎水性の増加は、励起された AC が Lys272-AC を攻撃し、HH 体の形成を促進したことを示唆していた。

5. 今後の計画

ドッキングシミュレーションで選択された変異型 GroEL は、AC の位置選択的な光環化二量化を可能にするだけでなく、AC の配向に基づいた反応機構を考察するために役立った。今後は、水素結合ネットワークと疎水性相互作用を協調的に利用して AC の高親和および高配向性部位を *de novo* デザインした GroEL 変異体を作製することにより、より高度な反応制御を目指す。

6. 研究成果の発表

Masaki Nishijima, Kota Kobayashi, Megumi Masuda-Endo, Hiromi Yoda, Ayumi Koike-Takeshita: Regioselective photocyclodimerization of 2-anthracenecarboxylic acid through ATP hydrolysis-driven conformational change using simulation prediction-designed GroEL mutant. *J. Biosci. Bioeng.*, **138** (4), 283 (2024).

味覚 Display 開発への基礎検討

情報メディア学科 服部 元史

1. 研究の目的

Virtual Reality の研究開発において 視覚 VR や聴覚 VR については、（ Head Mounted Display や立体音響 Head Phone が製品として販売されているように ）、実用研究を進めるレベルの高さに到達している。

力覚 VR についても、空気圧装置で手に力を与える force feedback によって、手で触っている物体の形状を仮想的に提示する 力覚 VR 装置が（ 2 千万円を超える高価格ながら ）発売され始めている。

上記の 視覚 VR, 聴覚 VR, 力覚 VR に比べると、嗅覚 VR の研究開発が遅れているために、筆者達の研究グループは 科研費 基盤研究 C によって、嗅覚 Display を研究開発している。この嗅覚 Display 研究を更に進めるために、味覚 Display も研究開発するが、下記に述べる理由から望ましいと 筆者達は判断した [1]。

2. 研究の必要性および従来の研究

嗅覚 Display から ユーザーの鼻元へ 香り気体を提示するためには、化学的に香り液体を作成しておく必要がある。所望の香りを得るために、どのような化学成分を組み合わせれば良いのかに関する知見は、「香りの有機化学」における経験則に依存しており、理論的・体系的な設計方法が 今のところ 無い。

それに対して、人間の味覚については、基本的な 5 つの要素「甘味・塩味・酸味・苦味・うま味」が定説となっており、所望の味を化学的に合成するための理論的・体系的な設計方法が提案されて来ている [1]。

3. 期待される効果

筆者達の研究グループが自由に使用できる味覚 Display を独自に開発し、様々な所望する味の液体を 化学的に合成しながら、多くの被験者達の舌の上で感じて頂き 完成計測実験を実施して行く事で、人間の味覚に対する基礎研究を進めながら、香り液体を化学的に合成して行く 理論的・体系的な設計方法へ 参考にして行く。

健康医療の分野で 人間の味覚を基礎研究して行く場合に、様々な味の液体を 0.5cm 四方の濾紙に含ませて その濾紙を人間の舌の上に置く手法（ 濾紙ディスク法 ）が、主流である[2]。しかし 様々な種類の味の 様々な濾紙を 次々に取り換えて行く作業は 煩雑である。また 人間の舌に与えた 味の液体の量を 定量的に評価し難い欠点が、濾紙ディスク法にはある。

そこで 味の液体を ピコ リットル pL の精度で 人間の舌の上に 噴霧できる

ような 味覚 Display を 地道に開発して行くべく、基礎検討を実施した。

4. 研究の経過及び結果・評価

科研費 基盤研究 C で研究開発している嗅覚 Display のために設計・制作した Piezo 圧電素子と同じモノを、当面の間は使用して行く。この Piezo 圧電素子に 直径 9 マイクロメートル（ $9\mu\text{m}$ ）の孔を 100 個だけ開けており、味の液体を 噴霧 atomeize して 味 Spray として、人間の舌の上に噴霧することができる。

嗅覚 Display のために設計・制作した液体タンクを小型化して、人間の口の中に入る大きさまで小さくできるように、3D CAD ソフトウェア Autodesk Fusion と 3D プリンター Raise3D E2 で試行しているが、作業スキルを level up するために 2025 年度からは KAIT 工場の 3D CAD や 3D プリンターも使用し、3D CAD や 3D プリンターを駆使できておられる自動車開発工学 Laboratory との交流も図って行く。

Piezo 圧電素子から味 Spray を 人間の舌の上に噴霧するべく Piezo 圧電素子に電圧を加える Microsoft Visual C++ プログラムを Dynamic Link Library 化し ゲーム開発エンジン Unity から駆動できるようにしたために、人間の目に（食べ物や飲み物などを描画する）3DCG おじゅジェクトを Head Mounted Display から視せながら、その 3DCG オブジェクトに相当する味を 人間の舌の上に噴霧できるように成る。

5. 今後の計画

人間の口腔内に入る大きさで味覚 Display を作るために、味覚 Display の液体タンクに入れる事のできる味液体の量は、嗅覚 Display の液体タンクに入れる事のできる香り液体の量に比べて、はるかに少ない。液体タンクに入っている味液体が少ない状況で Piezo 圧電素子から味 Spray を噴霧すると、噴霧される Spray の質量にバラツキが生じている。この課題を解決するべく、下記 2 つの方法で進めて行く。（5-A）このバラツキを踏まえたうえで 感性計測実験データを統計的に計算処理する方法と、（5-B）Piezo 圧電素子から噴霧される Spray の質量のバラツキを小さくする HardWare 加工方法と、両方を追求して行く。

6. 研究成果の発表

ゲーム学会 健康科学研究部会 7 月 25 日（金）にて、研究発表を予定しています。

参考文献

- [1] 「特集 VR における香り・味の提示」
日本ヴァーチャルリアリティ学会誌 Volume 29, Number 1, 2024/04/10
（筆者達の研究グループによる 嗅覚 Display 解説も 掲載いただいています）
- [2] 「ろ紙ディスクによる味覚定性定量検査用試薬」, 2021 年 6 月改訂（第 1 版）
一般財団法人日本医薬情報センター(JAPIC) <https://pins.japic.or.jp>

タンパク質分子構造の仮想空間表示ツールの教育的活用の検討

情報ネットワーク・コミュニケーション学科 井上 哲理

応用化学生物学科 小池 あゆみ

応用化学生物学科 高村 岳樹

教育開発センター（応用化学生物学科）依田 ひろみ

1. 研究の目的

タンパク質の分子構造は生理機能の発現に直結することから、バイオサイエンス分野ではタンパク質分子の複雑な三次元構造を詳細に理解することが望ましい。しかし、教科書やパソコンなどの液晶画面ではどうしても平面的な図示になってしまうため、初学者はタンパク質分子が持つ立体構造をイメージしにくい。これまで、バイオメディカルセンターが創薬研究支援のために企業と共同開発してきた仮想現実（VR）分子構造共有ソフトウェアシステムを用い、VR 空間でタンパク質分子構造表示を人と同じサイズ（ライフサイズ）に表示することは、初学者のタンパク質立体構造の学習に有用であるかを調査した。

2. 研究の必要性及び従来の研究

VR 分子構造共有ソフトウェアシステム「MolCollabo（フィアラックス社）」は、分子の三次元コンピュータ・グラフィックス（3DCG）を VR 空間に表示するものであり、頭部に装着するヘッドマウントディスプレイ（HMD）によってタンパク質分子の立体構造を人と同程度の大きさに表示することができる。これまで我々は、フィアラックス社と共同で、タンパク質データバンク（PDB）に登録されている立体構造データを読み込み、比較的大きな複合体レベルの分子モデルであっても表示でき、HMD 付属のコントローラーの操作によって分子を拡大したり、近づいて原子の配置やアミノ酸番号を確認でき、分子構造の内部を歩くことも可能な MolCollabo の開発をすすめてきた。タンパク質分子の構造や挙動の詳細は、殊に創薬研究においては重要な情報源となるため、特に研究推進のための VR 表示に照準を定めることが多く見られる。MolCollabo も創薬研究支援をターゲットとしたツールであったが、肉眼では見えない小さなタンパク質分子が VR 空間で巨視化できる技術は、バイオサイエンス分野の初学者や高等学校の生物学習者がタンパク質立体構造を直感的に学ぶことに適していると考え、その効果検証のために本研究に至った。

3. 期待される効果

教科書の写真やパソコンの画面ではタンパク質の分子構造がどうしても平面的な図示となるため、初学者には分子が持つ立体的な構造をイメージしにくい。その点、MolCollabo は HMD を通してタンパク質分子の複雑な三次元構造を直感的に理解することができる。国産ソフトウェアであるため表示言語が日本語対応しており、日本の初学者に

適するだけでなく対象年齢を幅広く捉えられる可能性がある。HMD が高価であるため普及しにくい面があることから、可搬性を考慮したスマートフォン版 VR 分子構造表示システムへの転用も考えられる。汎用性のあるツールでの表示を可能にすることで、高等学校などの教育現場への拡大普及の実現が期待できる。

4. 研究の経過及び結果・評価

中高生向け学会（サイエンスキャッスル 2024、リバネス株式会社主催）の出展ブースで MolCollabo の体験展示を行い、体験希望者（計 29 人）に事後アンケートを回答してもらうことで、学習教材としての VR 分子構造表示システムの有用性を評価した。その結果、「①タンパク質分子の VR 表示の重要性」は体験希望者の 9 割に肯定的に評価された。「②分子構造を見やすいと思う学習ツール（複数回答可）」は、HMD（74%）、パソコン等の液晶画面（16%）、教科書の図（10%）の順であった。さらに、「③分子構造の観察に集中できそうな教材（複数回答可）」は、背景が 3DCG の VR（52%）、背景が実写ライブ映像の複合現実（32%）、パソコン等の液晶画面（10%）、教科書の図（6%）の順であった。②と③の結果を考慮すると、特に没入型の VR 分子構造表示システムはタンパク質の立体構造の学習手段として期待が高いことが体験者のアンケート結果から分かった。

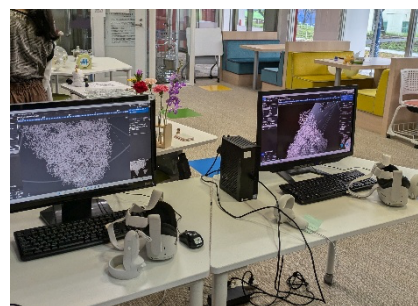


図 1. MolCollabo 体験展示の様子
(上) HMD とリンクした PC 上の MolCollabo の画面, (下) 体験の様子.

5. 今後の計画

高性能 HMD による VR 分子構造表示システムを使用している学習者の身体症状における主観的評価を行い、学習利用上の安全性を評価する。MolCollabo の機能を基盤として、教育現場でスマートフォンやタブレット端末を用いて手軽に活用できる、VR および AR (拡張現実) に対応した分子構造表示システムの開発を検討する。

6. 研究成果の発表

本研究の一部は、日本私立学校振興・共済事業団の 2024 年度女性研究者奨励金「タンパク質分子の構造・機能の理解向上のための仮想空間の活用（代表者：依田ひろみ）」の支援を受けて行ったもので、本報告書のアンケート結果は、同事業団への実績報告書の一部として提出予定である。また、より詳細なアンケート解析結果をまとめ、2025 年度の教育系学会に発表予定である。