

**2Gp21 擬微小重力環境下における腎血管網構築法の開発**

○西川 和範, 王 碧昭  
(筑波大院・生命環境)  
s10212126@u.tsukuba.ac.jp

[背景・目的] 近年、腎不全患者は年々増加しており、その治療法として移植療法や透析が挙げられるが、それらの治療法には慢性的なドナー不足や免疫拒絶反応などの問題があり、再生医療技術を用いた新たな治療法の開発に大きな期待が寄せられている。これまで、組織工学的な手法により皮膚・軟骨・筋肉などの組織の再生には成功しているが、非常に複雑かつ精巧な構造を持つ腎臓は未だ構築できていない。ネフロンを構築する際、糸球体内の複雑な血管網を構築することは依然として難しく、血管系の形成は腎臓再生への大きな障壁となっている。本研究では擬微小重力培養装置(RWV:Rotary Wall Vessel)を用いて、組織の培養環境が腎血管網の形成に与える影響を評価し、腎組織再生の際にネックとされている血管形成を促進する培養法の確立を目的として研究を進めていく。

[方法と結果] 胎生11.5～15.5日目のICRマウスの胎仔から後腎を摘出し、静置培養、擬微小重力培養という2種類の方法で組織培養を行った。血管網の形成については培養した後腎の組織学的解析と血管形成初期、中期と後期に発現する各種タンパク質(Flk-1、Flt-1、Tie-2など)の局在や遺伝子発現の解析を行い、in vivoの結果とそれぞれの培養法の結果を比較した。結果、従来法である静置培養を行った後腎では血管様構造は確認されなかったが、擬微小重力培養を行ったものでは、生体由来の後腎には及ばないものの血管様構造が確認された。また、血管形成遺伝子の発現を解析した結果、擬微小重力培養における各種遺伝子の発現はより生体由来のものに近い結果となり、擬微小重力培養の腎血管形成における有用性が示唆された。

**A constructive method of renal blood vessel network under simulated microgravity**

○Kazunori Nishikawa, Pi-Chao Wang  
(Grad. Sch. Life Env. Sci., Univ. Tsukuba)

**Key words** Renal blood vessel network, simulated microgravity

**2Ha01 *Penicillium purpurogenum* IAM15392におけるPKSpp2の機能解析**

○佐藤 寛子, 荻原 淳, 加藤 順, 春見 隆文  
(日大・生資料)  
j-ogihara@brs.nihon-u.ac.jp

【目的】 *Penicillium purpurogenum* IAM15392株は特定培地条件下で培養することにより新規azaphilone系 *Monascus* 色素同族体を生成する。さらに、この色素生成は酢酸を出発物質とした polyketide 鎖伸長反応によることが示された。したがって、polyketide synthases が関与していると考えられた。以前、当研究室で行われたプロテオーム解析の結果、polyketide synthase に関連した各 domain と高い相同性を有したアミノ酸配列情報が得られている。また、本系菌株のドラフトシーケンス解析を行い、データ解析を行ったところ、多数のPKS遺伝子の存在が予想される。そこで本研究では、新規に取得したPKSpp2の機能を解析することを目的とした。

【方法・結果】 本研究では、*P. purpurogenum* IAM15392のプロテオーム解析から得られた他菌株間で保存性の高いβ-ketoacylsynthases N-terminal domainのアミノ酸配列を選択し、設計した縮重プライマーと、他系菌株のPKSにおいて保存性の高いβ-ketoacylsynthases C-terminal domainのアミノ酸配列を元に設計した縮重プライマーを用い、*P. purpurogenum* IAM15392より抽出したゲノムDNAに対しPCRを行った。その結果得られた塩基配列を元に、ゲノムDNAを鋳型としてPCRを行い、PKSpp2の部分的な塩基配列を取得した。さらに、本系菌株のゲノムドラフトシーケンスの解析結果より、PKSpp2の完全長を取得し、その周辺領域を解析した。その結果、methyltransferase などと遺伝子クラスターを形成していることがわかった。現在、PKSpp2が色素生産に関与する遺伝子であるかを確認している。

**Functional analysis of PKSpp2 in *Penicillium purpurogenum* IAM15392**

○Hiroko Sato, Jun Ogihara, Jun Kato, Katakumi Kasumi  
(Dept. Agric. Biol. Chem., Nihon Univ.)

**Key words** *Penicillium*, PKS

**2Gp22 脱細胞化臓器を用いた肝組織再構築に関する基礎的検討**

○井嶋 博之, 白木川 奈葉, 藤澤 智也, 武井 孝行, 川上 幸衛  
(九大院・工・化工)  
ijima@chem-eng.kyushu-u.ac.jp

[目的] 肝臓は代謝の中心臓器であり複雑な構造を有しているため、機能性肝組織を再構築する肝組織工学(Liver Tissue Engineering; LTE)は組織工学(Tissue Engineering)領域の中で最も重要かつ困難な課題の一つである。特に肝細胞の酸素消費速度の高さから、臨床スケールの組織再構築技術の開発が大きな課題となっている。そこで本研究では生体肝が元来有している血管網構造を鋳型とすることで上記課題を克服した実用的肝組織工学技術の開発を目的としている。今回は脱細胞化肝臓の作製とその評価について報告する。

[実験方法及び結果] 肝臓は6-8週齢のWistarラットから取得した。Triton X-100を用いることで大小さまざまな血管網の鋳型構造を有した脱細胞化肝臓を得ることが出来、末梢部の鋳型間隔は1mm以下であった。得られた脱細胞肝臓の門脈から血管内皮細胞播種することによって、細胞は血管の鋳型構造の内表面特異的に付着し、それ以外の領域への漏洩は確認できなかった。

一方、1mm厚みの肝細胞包埋ヒドロゲルをラット皮下へ移植することにより、赤血球を含む毛細血管様構造を有する肝組織体の構築が観察された。つまり、ホストの血管から移植肝細胞に向けた血管新生が生じたことが期待された。

以上の結果より、脱細胞化肝臓は臨床スケールの肝組織再構築技術のためのscaffoldとして有望であることが示唆された。

**Basic Study for Liver Tissue Engineering by Using Decellularized Organ**

○Hiroyuki Ijima, Nana Shirakigawa, Tomoya Fujisawa, Takayuki Takei, Koei Kawakami  
(Dept. Chem. Eng., Fac. Eng., Kyushu Univ.)

**Key words** Liver tissue engineering, Decellularized organ, Endothelial cell, Hepatocytes

**2Ha02 放線菌 *Streptomyces ficellus* による寄生植物種子発芽阻害剤ノジリマイシンの生産**

黒野 友理香<sup>1</sup>, 長澤 沙弥<sup>1</sup>, 小田 知佳<sup>1</sup>, 松浦 秀幸<sup>1</sup>, 東久保 諒<sup>2</sup>, 若林 孝俊<sup>2</sup>, 吉本 千壽<sup>3</sup>, 野村 早紀<sup>3</sup>, 村中 聡<sup>4</sup>, 杉本 幸裕<sup>3</sup>, 岡澤 敦司<sup>2</sup>, ○原田 和生<sup>1</sup>, 平田 収正<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 阪大院・薬, <sup>2</sup> 阪大院・工・生命先端, <sup>3</sup> 神大院・農, <sup>4</sup> 国際農研センター)  
harada6@phs.osaka-u.ac.jp

【背景・目的】 *Orobanch* 属や *Striga* 属をはじめとする根寄生植物はヨーロッパ、アフリカを中心とした乾燥～半乾燥地域における農業へ甚大な被害を及ぼしている。岡澤らは糖加水分解阻害剤であるノジリマイシン(NJ) 亜硫酸付加物が、根寄生植物の種子発芽を選択的に阻害することを見出した<sup>1)</sup>。現在、市販されているNJは *S. ficellus* 培養物の精製品であり、その流通量は極めて少ない。本研究ではNJの大量生産および生産低コスト化を志向し、培養状態のモニタリング、および培養物での根寄生植物種子発芽阻害活性の評価を行った。

【結果】 まず、NJ生産培養時の培地組成について検討した。その結果、marine brothもしくはpharmamediaを添加した培地において、極めて高濃度のNJが検出された。続いて菌体、基質、生成したNJ量を経時的に測定した。その結果、培地中のNJ濃度は培養開始後4～6日で最大となり、その後、減少することが明らかとなった。培養後4日目の培地を発芽刺激処理後の寄生植物に処理したところ、*O. minor*, *S. gesnerioides* では顕著な発芽阻害が見られた。*S. hermonthica* では発芽阻害は見られないものの、吸器伸長の阻害が確認された。

1) 岡澤敦司, バネシュジョセフ, 特願 2008-273361

**Production of nojirimycin, an inhibitor of parasitic weed germination, by *Streptomyces ficellus***

Yurika Kurono<sup>1</sup>, Saya Nagasawa<sup>1</sup>, Tomoka Oda<sup>1</sup>, Hideyuki Matsuura<sup>1</sup>, Ryo Higashikubo<sup>2</sup>, Takatoshi Wakabayashi<sup>2</sup>, Chizuru Yoshimoto<sup>3</sup>, Saki Nomura<sup>3</sup>, Satoru Muranaka<sup>4</sup>, Yukihiko Sugimoto<sup>3</sup>, Atsushi Okazawa<sup>2</sup>, ○Kazuo Harada<sup>1</sup>, Kazumasa Hirata<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Grad. Sch. Pharm. Sci., Osaka Univ., <sup>2</sup> Dept. Biotech., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ., <sup>3</sup> Grad. Sch. Agr., Kobe Univ., <sup>4</sup> JIRCAS)

**Key words** *Streptomyces ficellus*, nojirimycin, parasitic weed