

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2007-129973

(P2007-129973A)

(43) 公開日 平成19年5月31日(2007.5.31)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 P 9/00 (2006.01)	C 1 2 P 9/00	4 B O 6 4
C 1 1 B 11/00 (2006.01)	C 1 1 B 11/00	4 H O 5 9
A 2 3 J 7/00 (2006.01)	A 2 3 J 7/00	
C 1 2 R 1/01 (2006.01)	C 1 2 P 9/00	
C 1 2 R 1/645 (2006.01)	C 1 2 P 9/00	
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 8 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2005-327704 (P2005-327704)

(22) 出願日 平成17年11月11日 (2005.11.11)

(71) 出願人 504224153

国立大学法人 宮崎大学

宮崎県宮崎市学園木花台西1丁目1番地

(74) 代理人 110000176

一色国際特許業務法人

(72) 発明者 林 雅弘

宮崎県宮崎市学園木花台西1丁目1番地

国立大学法人宮崎大学内

Fターム(参考) 4B064 AE63 CA02 CA05 CA06 CA08

CA21 DA01 DA10

4H059 BA83 BB05 BB06 BB07 BC48

CA12

(54) 【発明の名称】 不飽和脂肪酸含有リン脂質の製造方法

(57) 【要約】

【課題】 脂肪酸組成をコントロールできるリン脂質の製造方法を提供すること。

【解決手段】 不飽和脂肪酸またはその化合物を添加した培養液中で微生物を培養し、培養した微生物から脂質を抽出することにより、添加した不飽和脂肪酸を取り込んだリン脂質が製造できる。さらに、アルコール化合物とホスホリパーゼDを添加して塩基交換反応を行わせることにより、所望の分子種の不飽和脂肪酸含有リン脂質を製造することができる。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

構成脂肪酸として不飽和脂肪酸を含有するリン脂質の製造方法であって、
前記不飽和脂肪酸または前記不飽和脂肪酸の化合物を添加した培養液中で微生物を培養する培養工程と、

前記培養した微生物から前記リン脂質を抽出する抽出工程と、
を含むことを特徴とする製造方法。

【請求項 2】

前記抽出工程によって得られたリン脂質に、アルコール化合物とホスホリパーゼ D を添加して、塩基交換反応を行わせる反応工程をさらに含むことを特徴とする、請求項 1 に記載の製造方法。 10

【請求項 3】

前記アルコール化合物がセリンであることを特徴とする、請求項 2 に記載の製造方法。

【請求項 4】

前記不飽和脂肪酸の化合物が、前記不飽和脂肪酸のエステル、前記不飽和脂肪酸の塩、及び前記不飽和脂肪酸のアミドからなる群から選ばれた少なくとも一つであることを特徴とする、請求項 1～3 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 5】

前記不飽和脂肪酸が、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレイン酸、 γ -リノレイン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、ジホモ- γ -リノレイン酸、共役リノール酸、共役リノレイン酸、共役アラキドン酸、共役エイコサペンタエン酸、共役ドコサペンタエン酸、及び共役ドコサヘキサエン酸からなる群から選ばれた少なくとも一つであることを特徴とする、請求項 1～4 のいずれかに記載の製造方法。 20

【請求項 6】

前記微生物が、バクテリア、酵母、糸状菌、微細藻類、及びラビリンチュラからなる群から選ばれた少なくとも一つであることを特徴とする、請求項 1～5 のいずれかに記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】 30

【技術分野】

【0001】

構成脂肪酸として不飽和脂肪酸を含有するリン脂質の製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

生体膜の主要な成分であるリン脂質は、リン酸化アルコールと脂肪酸とから構成される化合物である。リン脂質はそのリン酸化アルコール成分の違いにより複数の分子種があり、たとえばホスファチジルコリン (PC) やホスファチジリエタノールアミン (PE) は生体膜リン脂質の主要な組成を占めている。また別のリン脂質であるホスファチジルグリセロール (PG) は、その高い乳化性から食品素材などとしても有用性が高い。さらにホスファチジルセリン (PS) は、脳機能に深く関わるリン脂質であり、その摂取により、加齢とともに低下する脳機能の改善効果が知られている。 40

【0003】

リン脂質は分子内に 2 つの脂肪酸を結合しているが、脂肪酸群のうちの一部はヒトを含む動物の体内では合成できないため、食事や他の動植物の補食により摂取する必要がある。しかしながら、PS や PG のようなリン脂質の一般食品中の含有量は微量であるため、十分量を食事から摂取することは困難である。

【0004】

そこで、従来、牛脳から抽出されたリン脂質が市販されていたが、牛海綿状脳症 (BSE) 問題の発生により安全な供給源が必要とされ、大豆レシチンから抽出されたリン脂質 50

も市販されるようになった。さらに、大豆リン脂質を原料として、ホスホリパーゼ D による塩基交換反応により、純度のより高い P S が製造可能となっている。

【0005】

また、従来からの動物や植物由来の原料を用いる代わりに、微生物を培養して、その微生物の細胞膜から脂質を抽出する方法も知られていた。

【0006】

一方、リン脂質の生理活性は、リン脂質を構成する脂肪酸（本願では、構成脂肪酸と称する）の成分にも大きく左右されることが示されている。脂肪酸のうち、例えば分子内に不飽和炭素結合を有する不飽和脂肪酸、中でも不飽和度の高い高度不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸（E P A）やドコサヘキサエン酸（D H A）は、循環器系や神経系に 10 対する効果が注目されている。そこで、高度不飽和脂肪酸を豊富に含有する魚卵（例えば特許文献 1、2 を参照）やイカ皮（例えば特許文献 3 を参照）をリン脂質の原料として用いることが提案されている。

【特許文献 1】特開平 1-160989 号広報

【特許文献 2】特開平 8-59678 号広報

【特許文献 3】特開平 9-77782 号広報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

このように、動物、植物、及び微生物由来の原料を用いたリン脂質の製造方法が開発されてきたが、これらの従来技術においてはいずれの場合も、リン脂質を構成する脂肪酸の組成には原料リン脂質の脂肪酸組成が反映されるため、脂肪酸組成を任意に幅広くコントロールすることはできなかった。 20

【0008】

本発明は、上記の問題点に鑑み、脂肪酸組成をコントロールできるリン脂質の製造方法を提供するものである。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者らは、リン脂質を構成する不飽和脂肪酸の組成をコントロールする方法を見いだそうと鋭意努力した結果、微生物を培養する際、培地に不飽和脂肪酸を添加することにより、抽出されるリン脂質の組成をコントロールできることを見だし、本発明の完成に至った。 30

【0010】

本発明に係るリン脂質の製造方法は、リン脂質を構成する脂肪酸に不飽和脂肪酸を含有するリン脂質の製造方法であって、不飽和脂肪酸またはその化合物を添加した培養液中で微生物を培養する培養工程と、培養した微生物から脂質を抽出する抽出工程とを含むことを特徴とする。

【0011】

上記の製造方法によって得られたリン脂質に、アルコール化合物とホスホリパーゼ D を添加して、塩基置換反応をさらに行わせることによって、不飽和脂肪酸含有リン脂質を製造することもできる。 40

【0012】

本発明に係るアルコール化合物はセリンであってもよい。

【0013】

本発明に係る不飽和脂肪酸の化合物は、不飽和脂肪酸のエステル、不飽和脂肪酸の塩、及び不飽和脂肪酸のアミドからなる群から選ばれた少なくとも一つであってもよい。

【0014】

本発明に係る不飽和脂肪酸は、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレイン酸、 γ -リノレイン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、ジホモ γ -リノレイン酸、共役リノール酸、共役リノレイン酸、共役アラキドン 50

酸、共役エイコサペンタエン酸、共役ドコサペンタエン酸、及び共役ドコサヘキサエン酸からなる群から選ばれた少なくとも一つであってもよい。

【0015】

本発明に係る微生物は、バクテリア、酵母、糸状菌、微細藻類、及びラビリンチュラからなる群から選ばれた少なくとも一つであってもよい。

【発明の効果】

【0016】

本発明の方法によって、脂肪酸組成をコントロールできるリン脂質の製造方法を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

10

【0017】

上述したように、微生物を培養し、その微生物の細胞膜から脂質を抽出することにより、リン脂質を製造することができる。本発明に係るリン脂質の製造方法によると、こうした製造方法において、不飽和脂肪酸またはその化合物を添加した培養液で微生物を培養することによって、微生物の脂質代謝を利用することができ、所望の不飽和脂肪酸を含有したリン脂質を得ることができる。

【0018】

ここで、この培養に用いる微生物は、その細胞膜から脂質を抽出することのできる微生物であればどんなものであってもよい。そのような微生物の例としては、バクテリア、酵母、糸状菌、微細藻類、及びラビリンチュラ（ラビリンチュラ科、ヤブレッツボカビ科のい

20

ずれの科をも含む）などが挙げられるが、クロレラやユグレナなどの微細藻類が好ましい。

【0019】

また、脂質を抽出するための方法は、細胞膜から脂質を抽出するための一般的な方法であればよく、例えばBligh & Dyer法を用いることができる。

【0020】

次に、リン脂質に含有させるための不飽和脂肪酸は、微生物が代謝することができるものであればいずれのものでもよく、その例としてはオレイン酸、リノール酸、 α -リノレイン酸、 γ -リノレイン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、ジホモ γ -リノレイン酸、共役リノール酸、共役リノレイン酸

30

、共役アラキドン酸、共役エイコサペンタエン酸、共役ドコサペンタエン酸、及び共役ドコサヘキサエン酸、またはこれらを組み合わせたものが挙げられる。

【0021】

しかしそれらのうちでも、リン脂質に含有させる不飽和脂肪酸としてより好ましいのは、動物に対して生理活性を持つ脂肪酸であり、たとえばエイコサペンタエン酸（EPA）やドコサヘキサエン酸（DHA）、またはそれらの共役酸である。

【0022】

一方、リン脂質に含有させるために培地に添加する不飽和脂肪酸は、微生物が細胞内に取り込むことができればよく、上述の不飽和脂肪酸の遊離の形のものであってもよいし、あるいは上述の不飽和脂肪酸の化合物、例えばエステル、塩、またはアミド、もしくはそれらの組み合わせであってもよい。

40

【0023】

また、上述の不飽和脂肪酸を培地に添加する際には、ビタミンEやビタミンCなどの抗酸化成分を共存させることもできる。さらに不飽和脂肪酸を培地に効率よく分散させるため、天然あるいは合成の乳化剤を用いることは差し支えない。

【0024】

そして、培地に添加する不飽和脂肪酸またはそれらの化合物の含量は、微生物を培養してそれらを取り込ませることを妨げない範囲であればよく、例えば、培地の重量に対して0.005重量%～5重量%の範囲内であってよい。

【0025】

50

また、不飽和脂肪酸を添加する際の培地の pH は、微生物が不飽和脂肪酸を取り込む事を妨げない範囲であればよく、微生物の増殖が可能である pH に限定されない。例えば pH 2.0~9.0 の範囲であってよい。

【0026】

さらに、前述の抽出方法によって得られたリン脂質に対し、アルコール化合物を添加して塩基交換反応をさらに行わせることにより、その化合物由来のアルコールを含むような所望の分子種の不飽和脂肪酸含有リン脂質を製造することもできる。この反応を行わせるにはリン脂質の塩基交換反応を促進する触媒の添加が望ましく、そのような触媒の好ましい例としては、取り扱いの容易なホスホリパーゼ D (酵素番号 EC 3.1.4.4) があり、例えば放線菌の一種 *Actinomadura* sp. 由来のものが市販されている。

10

【0027】

そして、添加するアルコール化合物としては、例えばセリンを用いることができ、この場合、反応の産物としてホスファチジルセリンが得られる。また別の例として、グリセリンやエタノールアミンを用いることができ、この場合はそれぞれ天然型リン脂質であるホスファチジルグリセロールやホスファチジルエタノールアミンを得ることができるし、あるいはその他のアルコール化合物を用いて、有機合成では一般に合成が困難な新規リン脂質分子種を製造することもできる。

【0028】

以下に、本発明の好ましい実施の態様を実施例を用いてより詳細に説明する。なお、本発明の目的、特徴、利点、及びアイデアは、本明細書の記載により当業者には明らかであり、本明細書の記載に基づき、当業者が本発明を再現することは容易である。以下に記載された具体的な実施例などは、本発明の好ましい実施態様を示すための例示又は説明として示されているのであって、本発明をそれらに限定するものではない。本明細書で開示されている本発明の意図並びに範囲内で、本明細書の記載に基づき、様々な改変並びに修飾ができることは、当業者にとって明らかである。

20

【実施例】

【0029】

=== DHA 含有リン脂質の製造 ===

[実施例 1] 500ml 容振とうフラスコで、グルコースを炭素源、尿素を窒素源とする従属栄養培養液 (1L 中にグルコース 20g、リン酸 1 カリウム 1.2g、硫酸マグネシウム 7 水和物 0.6g、尿素 1.5g、EDTA-Fe-Na 15mg、A5 金属塩溶液 2ml を含む) を用いて、クロレラ (*Chlorella vulgaris* C-30) (国立環境研究所より入手) を 28℃、暗所にて振とう培養した。増殖が定常期に達した 48 時間後に、培養液 100ml に対して 0.5 重量% のドコサヘキサエン酸 (DHA) (遊離脂肪酸、備前化成 (株) より入手) (純度 99.0%) を無菌的に添加し、さらに振とう培養を 24 時間継続した。次に、遠心分離 3000rpm × 10min) によりクロレラ細胞を回収し、凍結乾燥後、Bligh & Dyer 法に従い、乾燥細胞 1500mg から、クロロホルム-メタノール混液 (クロロホルム: メタノール: 水 (1:2:0.7)) 30ml で 3 回繰り返し総脂質を抽出した。

30

【0030】

得られた総脂質 230mg から、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、以下のようリン脂質混合物を分画した。まず、クロロホルムに懸濁したシリカゲル 10g を、内径 20mm のオープンカラムに充填し、2ml のクロロホルムに溶解した総脂質をシリカゲルに吸着させた。次に、クロロホルム 300ml、アセトン 200ml、メタノール 300ml の順にカラムに流し、メタノール溶出画分をリン脂質混合物とした。これにより、85mg のリン脂質混合物を得た。このリン脂質混合物の脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーで測定した。まず、リン脂質混合物 20mg をスクリュウキャップ付き試験管にとり、10% 塩化水素-メタノール溶液を 1ml 加えて 80℃ で 3 時間加熱してメタノリシスを行った。放冷後、蒸留水 6ml とヘキサン 1ml を添加して激しく振とうしてヘキサン層に脂肪酸メチルエステルを抽出し、ガスクロマトグラフィー用試料とした。ガスクロマトグラフィーは (ガスクロマトグラフ シマヅ GC-2000、カラム HR-Thermon 30

40

50

00B, 30m X 0,25mm ID、カラム温度 150→220℃ 2℃/min、インジェクション温度 250℃、検出器 FID、検出器温度 250℃、キャリアーガス ヘリウム) の条件で分析した。結果は (C16:0 10.3%、C16:1 1.1%、C16:2 3.1%、C16:3 4.7%、C18:0 1.6%、C18:1 4.1%、C18:2 14.2%、C18:3 1.1%、C20:5 0.9%、C22:6 55.0%、その他 3.9%) となり、総脂肪酸の 55% が DHA であった。また、リン脂質組成を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で測定したところ、リン脂質中の 57% がホスファチジルコリン (PC)、32% がホスファチジルエタノールアミン (PE) であった。

【0031】

[比較例 1] 実施例 1 と同様に、500ml 容振とうフラスコ内で培養定常期に達したクロレラの培養液 100ml を、さらに 24 時間振とう培養し、遠心分離 (3000rpm X 10min) によりクロレラ細胞を回収し、凍結乾燥後、実施例 1 と同様に総脂質を抽出し、得られた総脂質 145mg を分画・分析したところ、結果は (C16:0 25.8%、C16:1 3.7%、C16:2 6.8%、C16:3 8.2%、C18:0 4.6%、C18:1 7.6%、C18:2 29.7%、C18:3 6.3%、C22:6 0.0% その他 7.3%) となり、リン脂質混合物の総脂肪酸中に DHA は検出されなかった。しかし、リン脂質組成は、59% が PC、30% が PE であり、実施例 1 と同様、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミンが主成分であった。

【0032】

=== DHA 含有 PS の製造 ===

[実施例 2] 上記実施例 1 あるいは比較例 1 で得られたリン脂質混合物それぞれ 100mg を別のスクリーキャップつき試験管に入れ、各試験管に酢酸エチル 2ml、L-セリン 120mg を含有する水溶液 500μl、ホスホリパーゼ D (名糖産業製) 20unit を含有する水溶液 500μl を加えた後、ヘッドスペースを窒素置換して 50℃ で 12 時間激しく振とうすることにより塩基交換反応を行った。反応終了後、各試験管を氷冷し、クロロホルムを 2ml 添加してリン脂質混合物を溶解した。クロロホルム層を HPLC により分析してリン脂質組成を確認したところ、実施例 1 で得られたリン脂質は (PS 43%、PC 21%、PE 12%、その他 24%)、比較例 1 で得られたリン脂質は (PS 45%、PC 19%、PE 13%、その他 22%) を含有していた。それぞれのリン脂質混合物より、以下のように薄層クロマトグラフィーを用いて PS 画分を単離し、それぞれの PS の脂肪酸組成を測定した。すなわち、シリカゲル HPTLC プレート (メルク製) にリン脂質混合物をスポットし、クロロホルム/1-プロパノール/酢酸エチル/メタノール/0.25% 塩化カリウム水溶液 (23:25:25:15:9) を展開溶媒として展開し、PS 標品 (Dittmer 試薬で発色) と同様の Rf 値のシリカゲル層を書き取った。シリカゲルからクロロホルム:メタノール (2:1) により PS を抽出した。結果は (C16:0 9.7%、C16:1 2.1%、C16:2 2.7%、C16:3 5.1%、C18:0 1.9%、C18:1 5.1%、C18:2 16.0%、C18:3 1.0%、C20:5 0.3%、C22:6 53.0%、その他 3.1%) となり、実施例 1 により得られたリン脂質混合物を原料とした PS には、DHA が総脂肪酸の 53% 含まれていた。一方、比較例 1 により得られたリン脂質混合物を原料とした PS の脂肪酸組成は (C16:0 23.0%、C16:1 2.9%、C16:2 8.9%、C16:3 9.2%、C18:0 4.9%、C18:1 8.6%、C18:2 29.0%、C18:3 7.0%、C22:6 0.0% その他 6.5%) であり、DHA が全く検出されなかった。

【0033】

=== EPA 含有リン脂質の製造 ===

[実施例 3] 500ml 容振とうフラスコで、グルコース-ペプトン培地 (1L 中にグルコース 20g、ペプトン 5g、硫酸アンモニウム 0.25g、リン酸 1 カリウム 0.25g、硫酸マグネシウム 7 水和物 0.6g、炭酸カルシウム 0.12g、Na2EDTA 50mg、モール塩 50mg、硫酸マンガン 18mg、硫酸亜鉛 25mg、塩酸チアミン 2.5mg、シアノコバラミン 0.5mg を含む) を用いて、ユーグレナ (*Euglena gracilis* Z) (国立環境研究所より入手) を 28℃、暗所にて振とう培養し、増殖が定常期に達した 48 時間後に、培養液 100ml に対して 0.5 重量% のエイコサペンタエン酸 (EPA) (遊離脂肪酸、備前化成 (株) より入手) (純度 99.0%) を無菌的に添加し、さらに振とう培養を 24 時間継続した。以下、実施例 1 と同様

に、総脂質を抽出し、得られた総脂質 240 mg から、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画したリン脂質混合物 95 mg を得た。このリン脂質混合物の脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーで測定したところ、結果は (C16:0 4.1%、C16:1 0.1%、C18:0 2.2%、C18:1 8.1%、C18:2 5.9%、C18:3 4.0%、C20:4 5.8%、C20:5 59.0%、C22:6 6.3%、その他 4.5%) となり、総脂肪酸の 59% が EPA であった。また、リン脂質組成を HPLC で測定したところ、結果は (PC 49%、PE 31%、その他 20%) となり、PC 及び PE が主成分であった。

【0034】

〔比較例 2〕 実施例 3 と同様に、500 ml 容振とうフラスコ内で培養定常期に達したユーグレナの培養液 100 ml を、さらに 24 時間振とう培養し、遠心分離 (3000 rpm × 10 min) によりユーグレナ細胞を回収し、実施例 1 と同様に、凍結乾燥後、総脂質を抽出し、得られた総脂質 122 mg を分画・分析したところ、結果は (C16:0 16.7%、C16:1 3.6%、C18:0 7.5%、C18:1 14.1%、C18:2 9.9%、C18:3 8.9%、C20:4 22.3%、C20:5 3.2%、C22:6 1.0%、その他 12.8%) となり、リン脂質混合物の総脂肪酸中に EPA は 3.2%、DHA は 1% のみしか検出されなかった。しかし、リン脂質組成は (PC 47%、PE 36%、その他 17%) であり、実施例 1 と同様、PC 及び PE が主成分であった。

【0035】

=== EPA 含有 PS の製造 ===

〔実施例 4〕 実施例 2 と同様に、実施例 3 あるいは比較例 2 で得られたリン脂質混合物それぞれ 100 mg を別のスクリーキャップつき試験管に入れ、各試験管に酢酸エチル 2 ml、L-セリン 120 mg を含有する水溶液 500 µl、ホスホリパーゼ D 20 unit を含有する水溶液 500 µl を加えた後、ヘッドスペースを窒素置換して 50 °C で 12 時間激しく振とうすることにより塩基交換反応を行った。反応終了後、各試験管を氷冷し、クロロホルムを 2 ml 添加してリン脂質混合物を溶解した。クロロホルム層を HPLC により分析してリン脂質組成を確認したところ、実施例 3 で得られたリン脂質は (PS 42%、PC 22%、PE 16%、その他 20%)、比較例 2 で得られたリン脂質は (PS 46%、PC 17%、PE 15%、その他 22%) を含有していた。それぞれのリン脂質混合物より、薄層クロマトグラフィーにより PS 画分を単離し、それぞれの PS の脂肪酸組成を測定したところ、結果は (C16:0 4.6%、C16:1 0.9%、C18:0 3.1%、C18:1 9.0%、C18:2 5.0%、C18:3 4.7%、C20:4 5.0%、C20:5 56.0%、C22:6 4.1%、その他 7.6%) となり、実施例 3 により得られたリン脂質混合物を原料とした PS には EPA が、総脂肪酸の 56% 含まれていた。一方、比較例 2 により得られたリン脂質混合物を原料とした PS の脂肪酸組成は (C16:0 17.4%、C16:1 4.1%、C18:0 6.2%、C18:1 14.7%、C18:2 8.8%、C18:3 7.9%、C20:4 24.6%、C20:5 2.0%、C22:6 1.7%、その他 12.6%) であり、EPA が 2% しか検出されなかった。

【0036】

=== 結論 ===

上記の実施例および比較例の結果から、微生物培養を用いたリン脂質の製造方法において、培養液に不飽和脂肪酸を添加することにより、未添加の場合はほとんどみられなかった所望の不飽和脂肪酸を含有したリン脂質が合成できることが分かった。従って、本発明のリン脂質の製造方法によって、リン脂質を構成する脂肪酸の組成をコントロールすることができるようになる。さらに、エタノール化合物を添加して塩基交換反応を行わせることにより、所望の分子種のリン脂質に転換することも可能となる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		テーマコード (参考)
C 1 2 R	1/89	(2006.01)	C 1 2 P	9/00	
			C 1 2 R	1:01	
			C 1 2 R	1:645	
			C 1 2 R	1:89	