

# 教育研究業績書

2017年10月20日

所属：食生活学科

資格：教授

氏名：小関 泰平

|            |                                |
|------------|--------------------------------|
| 研究分野       | 研究内容のキーワード                     |
| 食品学        | 食品タンパク質、変性                     |
| 学位         | 最終学歴                           |
| 農学博士, 農学修士 | 京都大学大学院 農学研究科 食品工学専攻 博士課程 満期退学 |

| 教育上の能力に関する事項                 |     |    |
|------------------------------|-----|----|
| 事項                           | 年月日 | 概要 |
| <b>1 教育方法の実践例</b>            |     |    |
|                              |     |    |
| <b>2 作成した教科書、教材</b>          |     |    |
|                              |     |    |
| <b>3 実務の経験を有する者についての特記事項</b> |     |    |
|                              |     |    |
| <b>4 その他</b>                 |     |    |
|                              |     |    |

| 職務上の実績に関する事項                 |     |    |
|------------------------------|-----|----|
| 事項                           | 年月日 | 概要 |
| <b>1 資格、免許</b>               |     |    |
|                              |     |    |
| <b>2 特許等</b>                 |     |    |
|                              |     |    |
| <b>3 実務の経験を有する者についての特記事項</b> |     |    |
|                              |     |    |
| <b>4 その他</b>                 |     |    |
|                              |     |    |

| 研究業績等に関する事項  |         |           |  |  |
|--|---------|-----------|--|--|
| 著書、学術論文等の名称  | 単著・共著書別 | 発行又は発表の年月 | 発行所、発表雑誌等又は学会等の名称                              | 概要   |
| <b>1 著書</b>  |         |           |  |  |
| 1. Heat-Induced Transparent Gels of Globular Proteins  | 共       | 1994年     | Plenum Press, New York                         | 土井、谷、村田、小関、北嶋<br>性質の異なる3種類の球状タンパク質（卵白アルブミン、牛血清アルブミン、リゾチーム）を対象に加熱により形成されるゲルについて検討した結果、タンパク質の種類よりも、加熱変性したタンパク質分子間の凝集状態が加熱ゲルの性質を支配することを明らかにした。即ち、何れの球状タンパク質においてもその凝集形態（試料のpHおよびイオン強度）を調節することにより、形成されるゲルの状態（白濁、透明等）を制御できることを示した。 |
| 2. Relationship of SH Groups to Functionality of Ovalbumin (Chapter fifteen), in Food Proteins | 共       | 1989年     | American Oil Chemists' Society                 | 土井、北嶋、八田、小関<br>卵白アルブミンの泡沫および加熱ゲル形成能は表面および加熱変性分子の会合状態に依存することを示した。更に、分子内SH基の役割を考察した。 分担 (pp. 252-266)  |
| <b>2 学位論文</b>  |         |           |  |  |
| 1. Studies on Conformational Changes of Hen Ovalbumin  | 単       | 1989年11月  |  |  |
| <b>3 学術論文</b>  |         |           |  |  |
| 1. Is the molten globule-like state of ovalbumin in acid pH a true molten globule?             | 単       | 2011年3月   | Bull. Mukogawa Women's Univ. (Natural Science) | 卵白アルブミンは酸性pHでモルテン・グロビュール状態の特徴を示すが、DSC測定において協同的な熱転移が観察され、また、動的光散乱測定からコンパクトな分子サイズが推測された。これらの結果から、熱力学的には未変性状態に近い酸性pHにおける卵白アルブミンの状態が、本来のモルテン・グロビュール状態といえるのではないかと考察した。  |
| 2. 卵白アルブミンの加圧変性によるゲル形成について   | 共       | 2010年06月  | 日本食品科学工学会誌                                     | 三好<br>卵白アルブミンは高压処理のみによってもゲルを形成することを示した。また、加熱形成ゲルと比較すると、加圧ゲルの形成には高いタンパク質濃度を必要とし、また、透明度や物性も明らかに異なる特徴を持つことを示した。   |
| 3. Adsorption and structural change of $\beta$ -lactoglobulin at diac                          | 共       | 2008年09月  | Langmuir                                       | Sakuno, 松本、河合、松村<br>性質の異なる2種類の油脂であるジアシルグリセロール  |

研究業績等に関する事項

| 著書、学術論文等の名称   | 単著・<br>共著書別 | 発行又は<br>発表の年月 | 発行所、発表雑誌等<br>又は学会等の名称           | 概要   |
|---|-------------|---------------|---------------------------------|--|
| <b>3 学術論文</b>   |             |               |                                 |  |
| ylglycerol-water interface  |             |               |                                 | ルあるいはトリアシルグリセロールの油滴表面に吸着したβ-ラクトグロブリンについて物理化学的手法を用いた測定を試み、それぞれの吸着状態における構造解析をおこなった。  |
| 4. Contribution of a prosegment lysine residue to the function and structure of porcine pepsinogen A and its active form pepsin A | 共           | 1999年3月       | Eur. J. Biochem., 261巻          | Richter、田中、小関、Yada<br>消化酵素ペプシン前駆体のペプシノーゲンN末端36番目のリジン残基を遺伝子操作により3種類のアミノ酸に部位特異的に変異させて検討した。変異体はいずれも野生型に比べて不安定で、ペプシンへの活性化速度が速く、酵素反応定数は遅く、また、分子構造にも変化が認められた。従って、このリジン残基は活性ペプシンを形成するペプシノーゲンの構造安定化に必須であると結論づけた。<br>分担 (pp. 746-752)   |
| 5. Structural characterization of the molten-globule and native states of ovalbumin: A $[1^H]$ NMR study                          | 共           | 1997年         | Journal of Peptide Research 50巻 | Sogami・Era・Koseki・Nagai<br>卵白アルブミン (OVA) は酸性において3次構造を示したmolten-globule (MG) 状態を示すと考えられる。そこで本研究ではOVAのMG状態における「ゆらぎ」を実証するため、 $[1^H]$ -NMRを用いて交差緩和時間を測定し検討した。照射部位、強度による差はあるがMG状態の交差緩和時間は天然状態に比べて1.5?2倍であった。この結果はタンパク質分子の側鎖、セグメント等の可動性の増加、即ち、OVA分子の硬さが減少していることを明示した。(pp. 465-474) |
| 6. Dynamic Light Scattering of Aqueous Solutions of Linear Aggregates Induced by Thermal Denaturation of Ovalbumin                | 共           | 1993年04月      | Biopolymers                     | 根本、小池、尾崎、小関、土井<br>卵白アルブミンの未変性分子および中性pH、低イオン強度条件下での加熱により形成される鎖状会合体分子について動的光散乱測定を行った。加熱会合体分子についてはキュムラント法を用いて解析し、その単位長さ当りの分子量、直径および硬さ(曲がり易さ)を算出した。その結果をもとに、加熱変性会合体の形成機構を考察し、ダイマーモデルを提唱した。即ち、変性分子がまず2量体を形成し、その後2量体同士が連なり鎖状会合体が伸長していく可能性を示した。                                     |
| 7. Dynamic Light Scattering of Aqueous Solutions of Linear Aggregates Induced by Thermal Denaturation of Ovalbumin                | 共           | 1993年04月      | Biopolymers                     | 根本、小池、尾崎、小関、土井<br>卵白アルブミンの未変性分子及び加熱変性会合体分子の形成を動的光散乱法により解析し、加熱変性会合体の形成機構としてダイマーモデルを提唱した。<br>分担 (pp. 551-559)  |
| 8. Conformation of Linear Aggregates of Thermally Denatured Ovalbumin   | 共           | 1991年12月      | Macromolecules, 24巻             | 福田、辻井、小関、北島、土井<br>熱変性卵白アルブミンの線状会合体構造をtouched-headモデルに基づくらせんミミズ鎖の理論により解析した結果、加熱会合体がらせんを巻いている可能性を示した。 分担 (pp. 6786-6787)   |
| 9. Role of an Intrachain Disulfide Bond in the Conformation and Stability of Ovalbumin  | 共           | 1991年06月      | Journal of Biochemistry, 109巻   | 高橋、小関、土井、広瀬<br>卵白アルブミンの分子内ジスルフィド結合を還元・切断しても分子の高次構造は維持されるが、局所的に構造の不安定化が引き起こされていることを明らかにした。 分担 (pp. 846-851)   |
| 10. Freezing Denaturation of Ovalbumin at Acid pH   | 共           | 1990年03月      | Journal of Biochemistry, 107巻   | 小関、北島、土井<br>酸性条件下では、凍結することにより卵白アルブミン分子に不可逆的な構造変化が生じること、即ち、凍結変性が起こることを明らかにした。 分担 (pp. 389-394)  |
| 11. (学位論文) Studies on Conformational Changes of Hen Ovalbumin   | 単           | 1989年11月      |                                 | 主要な食品タンパク質である卵白アルブミンの加工に伴う構造変化の解明を目的とし、食品の貯蔵、加工中に生じる環境変化である酸、加熱及び凍結による卵白アルブミンの高次構造変化を明らかにした。<br>分担 (pp. 1-99)  |
| 12. Characterization of Linear Polymers induced by Thermal Denaturation of Ovalbumin  | 共           | 1989年04月      | Food Hydrocolloids, 3巻          | 小関、福田、北島、土井<br>卵白アルブミンの加熱変性に伴う線状会合体の形成過程を明らかにし、この会合体に高分子溶液論的方法が適用できることを示し、会合体の分子量、分子量分布および形状を算定した。 分担 (pp. 135-148)  |
| 13. Irreversible Thermal Denaturation and Formation of Linear Aggregates of Ovalbumin   | 共           | 1989年04月      | Food Hydrocolloids, 3巻          | 小関、北島、土井<br>卵白アルブミン分子は熱変性しても完全なランダムコイルとはならず元の二次構造を大部分保持しているが、不可逆的に会合し線状会合体を形成することを見い出した。 分担 (pp. 123-134)  |
| 14. Characterization of Linear Aggregates of Ovalbumin  | 共           | 1988年09月      | Polymer Preprints, Japan, 37巻   | 小関、土井、福田<br>卵白アルブミンの可溶性加熱会合体に対し高分子溶液論的解析を行い、その形状を算定した。 分担 (pp. 1992-1994)  |
| 15. Conformational Changes in Ovalbumin   | 共           | 1988年03月      | Journal of Biochemistry         | 小関、北島、土井   |

研究業績等に関する事項

| 著書、学術論文等の名称  | 単著・<br>共著書別 | 発行又は<br>発表の年月 | 発行所、発表雑誌等<br>又は学会等の名称   | 概要  |
|--|-------------|---------------|---|---|
| <b>3 学術論文</b>  |             |               |   |   |
| bumin at Acid pH<br><br>16. Effects of Limited Proteolysis on Functional Properties of Ovalbumin | 共           | 1987年12月      | ry, 103巻<br><br>Journal of the American Oil Chemists Society, 64巻                         | 酸性条件下における卵白アルブミンの構造変化を物理化学的手法により明かにし、その状態が溶融球（モルテン・グロビュール）状態に相当することを提示した。 分担 (pp. 425-430)<br><br>土井、小関、北畠<br>卵白アルブミンはpH 4 でペプシンにより限定加水分解され、この分解物は加熱透明ゲルを形成し易いことを見いだした。卵白アルブミンの熱変性分子構造に基づきゲル形成機構を考察した。 分担 (pp. 1697-1703)                                     |
| <b>その他</b>   |             |               |   |   |
| <b>1. 学会ゲストスピーカー</b>   |             |               |   |   |
| <b>2. 学会発表</b>   |             |               |   |   |
| 1. 卵白アルブミンの乳化特性におよぼすタンパク質濃度の影響   | 共           | 2014年8月30日    | 日本食品化学工学会<br>第61回大会(福岡)   | 只川  |
| 2. 卵白アルブミンの加圧ゲル形成に及ぼす塩添加の影響  | 共           | 2011年03月      | 日本農芸化学会   | 三好  |
| 3. 卵白アルブミンの加圧ゲル形成に及ぼすpHの影響   | 共           | 2010年03月      | 日本農芸化学会   | 三好<br>pHの異なる卵白アルブミン溶液を用いて加圧および加熱ゲル形成実験を試み、加圧では加熱とは異なり、処理圧力によってpHの影響が異なることを明らかにした。特に、pH8付近での686MPa加圧処理では、加熱および510MPa加圧ゲルでは見られない特徴のある硬いゲルが形成されることを見いだした。  |
| 4. 卵白アルブミンの加圧ゲル形成に及ぼす処理圧力の影響   | 共           | 2009年03月      | 日本農芸化学会   | 三好<br>卵白アルブミンは加圧処理によりゲルを形成するが、ゲルを形成するタンパク質濃度や形成されたゲルの透明度および物性は、加熱とは異なり、処理条件（処理圧力）に強く依存して変化することを明らかにした。  |
| 5. 卵白アルブミンの加圧変性にもとまうゲル形成について   | 共           | 2008年03月      | 日本農芸化学会   | 三好<br>卵白アルブミンは高圧処理によって加圧ゲルを形成するが、加熱形成ゲルと比較すると、ゲル形成には高いタンパク質濃度を必要とし、また、透明度や物性も明らかに異なる特徴を持つことを示した。  |
| 6. 乳化にもとまう卵白アルブミンの油/水界面における変性について  | 共           | 2008年03月      | 日本農芸化学会   | 中村、松村<br>n-テトラデカンあるいはオレイン酸メチルの油滴表面に吸着した卵白アルブミンとα-ラクトアルブミンについて物理化学的手法を用いて構造解析測定を試みたところ、それぞれの吸着状態には差異が認められ、これらが各タンパク質の乳化特性に影響しているのではないかと考察した。   |
| 7. 卵白アルブミンの加圧変性と会合対形成について  | 共           | 2008年03月      | 日本農芸化学会   | 三好<br>卵白アルブミンは高圧処理によって変性して会合体を形成するが、変性に伴い生じる分子構造の変化の程度や形成される会合体分子の大きさは加熱変性時とは明らかに異なっていることを示した。  |
| 8. Adsorption and Structural Change of β-Lactoglobulin at Diacylglycerol-Water Interface         | 共           | 2007年         | The American Oil Chemists' Society, 98th AOCs Annual Meeting & Expo (Quebec City, Canada) | Sakuno, 松村<br>ジアシルグリセロールあるいはトリアシルグリセロールの油滴表面に吸着したβ-ラクトグロブリンについて物理化学的手法を用いた測定を試み、性質の異なる2種類の油脂に吸着した場合のβ-ラクトグロブリンの構造解析をおこなった。  |
| 9. Adsorption behavior of hen ovalbumin at oil-water interfaces                                  | 共           | 1998年10月      | 4th International Conference on Hydrocolloids   | Koseki・Kawamura・Fujihira・Ohtsuka・Mori and Matsumura<br>卵白アルブミン (OVA) の乳化能は他のタンパク質に比べて劣っている。そこで、新しい乳化装置を考案し、OVAの乳化挙動を検討した。その結果、乳化物形成能（油滴表面への吸着量や形成される油滴の大きさ）は他のタンパク質と同程度であったが、乳化安定性が乏しい（形成された油滴間の凝集が著しい）ことが判明した。また、その主な原因は油滴表面におけるタンパク質の存在形態（吸着状態）の違いにあると推測した。 |
| 10. Enzymatic and structural roles of lysine 36p on the prosegment of pepsinogen                 | 共           | 1997年08月      | American Society for Biochemistry and Molecular Biology                                   | Tanaka・Richer・Koseki・Yada<br>消化酵素ペプシンの前駆体であるペプシノーゲンのN末端36番目のリジン残基の役割を調べるため、遺伝子操作によりリジンを3種のアミノ酸に部位特異的に変異させて検討した。変異体はいずれも野性型に比べて不安定で、ペプシンへの活性化速度が速く、酵素反応定数K <sub>0</sub> は遅く、また、分子構造にも変化が認められた。従って、この残基はペプシノーゲンの構造安定化、および活性ペプシン形成に寄与していると結論した。                  |

研究業績等に関する事項

| 著書、学術論文等の名称                                    | 単著・<br>共著書別 | 発行又は<br>発表の年月 | 発行所、発表雑誌等<br>又は学会等の名称 | 概要  |
|--|-------------|---------------|-----------------------|---|
| <b>2. 学会発表</b>                                 |             |               |                       |   |
| 11. 卵白アルブミンの乳化特性の解析                            | 共           | 1995年08月      | 日本農芸化学会               | 小関・大塚・平松・古川・天岡・森・松村<br>卵白アルブミン (OVA) の乳化能は他のタンパク質に比べて劣っている。そこで、新しい乳化装置を考案し、OVAの乳化挙動を検討した。その結果、油滴表面への吸着量や形成される油滴の大きさは他のタンパク質と同程度であったが、形成された油滴間の凝集が著しいことが判明した。従って、OVAは他のタンパク質と同様の乳化物形成能をもつが、その安定性が低いために乳化能が劣っていると判断されてきたことが示された。  |
| 12. 交差緩和時間測定による卵白アルブミン・molten-globule状態の研究     | 共           | 1994年11月      | 第33回NMR討論会            | 曾我美、恵良、高崎、桑田、梶原、小関、土井<br>卵白アルブミン (OVA) は酸性において3次構造を失ったmolten-globule (MG) 状態を示すと考えられる。そこで本研究ではOVAのMG状態における「ゆらぎ」を実証するため、 $[1^1\text{H}]$ -NMRを用いて交差緩和時間を測定し検討した。照射部位、強度による差はあるがMG状態の交差緩和時間は天然状態に比べて1.5?2倍であった。この結果はタンパク質分子の側鎖、セグメント等の可動性の増加、即ち、OVA分子の硬さが減少していることを明示した。 |
| 13. 分子内ジスルフィド結合を還元・切断した卵白アルブミンの起泡性について         | 共           | 1994年04月      | 日本農芸化学会               | 小関、西出、中井<br>卵白アルブミン (OVA) の分子内ジスルフィド (SS) 結合を還元・切断した還元型OVAの起泡性を天然型と比較した。還元型は天然型と同様の高次構造を保持していたが、気/液界面 (表面) での構造変化の速さは高かった。低タンパク質濃度では天然型は起泡性が低いが、還元型では泡末形成は良好であった。以上、OVAは分子内SS結合の切断により起泡性が増大し、これは表面変性の速さに起因すると考察した。  |
| 14. 卵白アルブミンの加熱及び酸による変性・巻戻り過程とモルテン・グロビュール状態について | 共           | 1993年04月      | 日本農芸化学会               | ○土井、谷、小関、北島<br>卵白アルブミンが熱変性しても重合しない条件を見出し、変性反応を単反応として速度論的解析を行い、熱変性、酸変性についてモルテン・グロビュール状態をいれた反応経路を明確にした。   |
| 15. 卵白アルブミンの酸性pHにおけるモルテン・グロビュール様の構造            | 共           | 1992年10月      | 第43回タンパク質構造討論会・       | ○土井、小関、谷、北島、根本、小池、深田、高橋<br>卵白アルブミンは酸性pHでは未変性状態に近い、モルテン・グロビュール様の状態であり、また熱変性した分子では通常モルテン・グロビュール状態に極めて類似していることを示した。  |
| 16. 卵白アルブミンの加熱及び酸による変性・巻戻り過程とモルテン・グロビュール状態について | 共           | 1992年04月      | 日本農芸化学会               | 土井、谷、小関、北島<br>卵白アルブミン (OVA) は熱により不可逆的に変性し、酸により可逆的な構造変化を生じるが、今回、熱変性しても重合しない条件を見出した。そこで、変性反応をこれに続く重合反応と切り離し、単独の反応として速度論的解析を行った。その結果、OVAの変性、巻戻り速度は非常に遅く、酸性における可逆的なモルテン・グロビュール状態は変性反応の中間的な状態であると結論した。以上、OVAの熱変性、酸変性についてモルテン・グロビュール状態をいれた反応経路を明確にした。                       |
| 17. 卵白アルブミンの酸性pHにおけるモルテン・グロビュール様状態のDSC測定       | 共           | 1992年04月      | 日本農芸化学会               | ○小関、土井、深田、高橋<br>卵白アルブミンは酸性pHでモルテン・グロビュール (M) 状態の特徴を示すが、DSC測定において協同的な熱転移が観察され、熱力学的には未変性状態に近く、従来のM状態の例とは異なることを示した。  |
| 18. 直鎖状会合体卵白アルブミンの動的散乱                         | 共           | 1991年11月      | 第40回高分子討論会            | ○根本、小池、尾崎、小関、土井<br>卵白アルブミンの未変性分子及び加熱変性会合体分子の形状を動的散乱法により解析し、半屈曲性の直鎖状会合体としての一つのモデルを提出した。  |
| 19. 直鎖状会合体卵白アルブミンの動的散乱                         | 共           | 1991年05月      | 日本レオロジー学会             | ○小池、根本、尾崎、小関、土井<br>動的散乱法により未変性卵白アルブミンの分子形を解析するとともに、熱変性により形成される直鎖状会合体に対しても分子形、会合体の大きさ、かたさ等を評価した。   |
| 20. 卵白アルブミンの安定性に対する分子内ジスルフィド結合の寄与              | 共           | 1991年04月      | 日本農芸化学会               | ○小関、土井<br>分子内ジスルフィド結合を還元・切断した卵白アルブミンは各種変性条件 (酸、尿素、気液界面、熱) に対して不安定であり、この分子内ジスルフィド結合が分子構造の安定化に必要であることを示した。  |
| 21. 卵白アルブミンのコンフォーメーションにおける分子内S-S結合の役割          | 共           | 1991年04月      | 日本農芸化学会               | ○高橋、小関、土井、広瀬<br>卵白アルブミンの分子内ジスルフィド結合を還元・切断しても未変性様の分子形、高次構造を有しているが、局所的にズブチリシシによる加水分解を受け易くなっていることを見いだした。   |
| 22. 酸性条件下における卵白アルブミンの凍結変性について                  | 共           | 1989年04月      | 日本農芸化学会               | ○小関、北島、土井<br>酸性pHでは、卵白アルブミンに凍結変性が起こることを明らかにし、その構造変化は中性pHにおける熱   |

研究業績等に関する事項

| 著書、学術論文等の名称  | 単著・共著書別 | 発行又は発表の年月 | 発行所、発表雑誌等又は学会等の名称                               | 概要   |
|--|---------|-----------|---|--|
| <b>2. 学会発表</b>   |         |           |   |  |
| 23. 卵白アルブミン線状会合体のキャラクタリゼーション                                 | 共       | 1988年10月  | 第37回高分子討論会                                      | 変性と同程度であることを示した。<br>小関、土井、○福田<br>卵白アルブミンの加熱変性に伴って形成される直鎖状会合体に高分子溶液論的方法が適用できることを示し、会合体の分子量、分子量分布および形状を算定した。 |
| 24. Relationship of SH Groups to Functionality of Ovalbumin  | 共       | 1988年05月  | American Oil Chemists Society                   | ○土井、北島、八田、小関<br>卵白アルブミンの泡沫および加熱ゲル形成能は表面および加熱変性分子の会合状態に依存する。これらの変性分子間の相互作用（疎水性相互作用、ジスルフィド結合）について発表した。       |
| 25. Formation of Linear Polymers by Heat-Denatured Ovalbumin | 共       | 1987年09月  | 7th World Congress of Food Science - Technology | ○土井、小関、北島<br>卵白アルブミンの不可逆的な熱変性現象とそれに伴い形成される可溶性線状会合体の性質について発表した。   |
| 26. 加熱卵白アルブミンによる線状ポリマーの形成について                                | 共       | 1987年04月  | 日本農芸化学会   | ○小関、福田、北島、土井<br>加熱変性に伴う卵白アルブミンの線状会合体は変性を律速過程として形成され、会合・脱会合を繰り返して高分子化することを示した。会合体の形状算定も試みた。                 |
| 27. 卵白アルブミンの熱変性について  | 共       | 1986年04月  | 日本農芸化学会   | ○小関、北島、土井<br>卵白アルブミンは熱変性しても大きな構造変化を生じないが、その過程は全く不可逆的であり、低イオン強度条件下では可溶性の高分子線状会合体を形成することを見いだした。              |
| 28. 卵白アルブミンの酸性pHにおけるコンホーメーション                                | 共       | 1985年10月  | 日本農芸化学会   | ○小関、北島、土井<br>酸性条件下において、卵白アルブミンは未変性状態の球状構造を維持しているが、各種の変性条件に対して極めて変性し易い不安定な状態へと変化していることを明らかにした。              |
| <b>3. 総説</b>   |         |           |   |  |
| <b>4. 芸術（建築模型等含む）・スポーツ分野の業績</b>                              |         |           |   |  |
| <b>5. 報告発表・翻訳・編集・座談会・討論・発表等</b>                              |         |           |   |  |
| <b>6. 研究費の取得状況</b>   |         |           |   |  |
| 学会及び社会における活動等  |         |           |   |  |
| 年月日  | 事項      |           |   |  |
|  |         |           |   |  |