

●

# 合同学術講演会

## 講演要旨

期日：平成5年7月9日(金)  
場所：北海道大学農学部N26講義室

●

日本農芸化学会北海道支部  
日本土壤肥料学会北海道支部  
北海道農芸化学協会

〒080 帯広市稻田町 帯広畜産大学生物資源化学科内  
TEL 0155-48-5111 内線 311・330

# 学術講演会

一般講演（9：00～12：00）（講演時間10分、討論2分、○印：講演者）

（座長：木村淳夫）

- 9：00 (1) ラット小腸apo A-I遺伝子発現に及ぼす小腸腔内胆汁酸の影響：  
cholestyramine摂取による回腸apo A-I mRNAレベルの低下  
(北大農・食品機能化学、<sup>1</sup>食品栄養学) ○園山 慶、桐山修八<sup>1</sup>、  
仁木良哉
- 9：12 (2) ウシ初乳システインプロテイナーゼインヒビターの精製と特性  
(雪印乳業札研) ○芹澤 篤、石川秀敏、黒澤誠治
- 9：24 (3) 遊離メチオニンを過剰に蓄積するシロイヌナズナ突然変異株の分離  
(<sup>1</sup>北大農・応用生命科学、<sup>2</sup>東大・遺伝子、<sup>3</sup>東大農・農化)  
○内藤 哲<sup>1,2</sup>、稻場久美子<sup>2</sup>、藤原 徹<sup>3</sup>、  
林 浩昭<sup>3</sup>、茅野充男<sup>3</sup>、米田好文<sup>2</sup>

（座長：大崎 満）

- 9：36 (4) 酵母から植物への直接的なDNA導入法の確立  
(北大農) ○初山慶道、寿永七月男、土生芳樹、石川雅之、  
川本伸一、内藤 哲、大野暭司
- 9：48 (5) 根粒菌の増殖における根粒中の成分の影響について  
(帯畜大・生資化) 大和田琢二、岩田祥子、井川香子、  
○佐々木靖治、佐藤哲也
- 10：00 (6) ダイズ根粒菌S 32の品種特異性に関する研究：線虫抵抗性と感受性品種のダイズ幼根中の揮発性成分の比較  
(帯畜大・生資化、<sup>1</sup>キッコーマン(株)研、<sup>2</sup>十勝農協連研)  
○佐藤哲也、相島鐵郎<sup>1</sup>、伊藤 晃<sup>2</sup>

（座長・大和田琢二）

- 10：12 (7) 各種悪臭物質に対する使用済脱硫剤の脱臭効果について  
(道東海大・生物工学、<sup>1</sup>北電総研、<sup>2</sup>エコニクス)  
西村弘行、石塚朋弘<sup>1</sup>、○中館史行<sup>2</sup>
- 10：24 (8) 微生物による菌体外高分子の生産  
(道東海大・生物工学、<sup>1</sup>北大地球環境科学) ○松山英俊、上野啓介<sup>1</sup>
- 10：36 (9) アカエゾマツ液体培養細胞の生成するリグナン  
(帯畜大・生資化) ○鍋田憲助、平田 恵、黄木由理子、奥山 寛

(座長：鍋田憲助)

10:48 (10) 樹木病原菌 *Valsa ambiens* の產生する生理活性物質

(北大農, 1道立林試) ○焦 肇, 吉原照彦, 秋本正信<sup>1</sup>, 市原耿民

11:00 (11) ブタナ (*Hypochoeris radicata* L.) の誘導抗菌物質

(北大農) ○丸田賢彦, 中西祐子, 福士幸治, 水谷純也

11:12 (12) 1D  $\omega_1$  hetero half-filtered HOHAHA :  ${}^{LR}J_{CH}$  を 2 つの 1D スペクトルの  
ピークのずれとして検出する方法 (北大農) ○福士江理, 川端 潤

(座長：内藤 哲)

11:24 (13) 生育段階の異なるアズキ葉の膜脂質の不飽和度の相違

(帯畜大・生資化) ○小嶋道之, 古瀬容子, 大西正男, 伊藤精亮

11:36 (14) ニンジン胚軸における脱分化と分化について

(帯畜大・生資化) ○水江由佳, 大橋伸一, 保田 浩, 増田宏志

11:48 (15) 秋播小麦の幼鞘, 幼根に存在するプラスチドニシャル

(北大・低温研) ○秋田智子, 匂坂勝之助

## 北海道農芸化学協会総会 (13:30~14:00)

### 特別講演 (14:00~17:00)

(座長：関矢信一郎)

1. ヨーロッパにおける土地評価の方法

北大農 波多野隆介

(座長：市原耿民)

2. 阻害剤を活用したDiels-Alder型微生物代謝産物の生合成研究

北大農 及川英秋

(座長：伊藤精亮)

3. 植物液胞膜プロトンポンプの分子構造と細胞機能

北大・低温研 前島正義

### 懇親会 (18:00~20:00)

於：共済サロン (札幌市中央区北4条西1丁目, 共済ビル)

## 1

## ラット小腸apo A-I遺伝子発現に及ぼす小腸腔内胆汁酸の影響：cholestyramine摂取による回腸

apo A-I mRNAレベルの低下

○園山 麗<sup>1</sup>、桐山 修八<sup>2</sup>、仁木 良哉<sup>1</sup>（北大 農、<sup>1</sup>食品機能化学、<sup>2</sup>食品栄養学）

**目的：**ラット循環血中のcholesterol(chol)は主としてHDLに存在するため、HDLの主要なapoproteinであるapo A-Iの合成が血中chol濃度に影響を及ぼすことは十分に考えられる。本研究では、apo A-Iの主な合成の場である小腸での遺伝子発現に対して、chol代謝に深く関与する胆汁酸および食餌脂質が及ぼす影響を明らかにする端緒として、小腸腔内で胆汁酸を吸着しその糞中排泄を促すcholestyramineを添加した飼料、及び無脂肪食をラットに摂取させ、そのことがapo A-I mRNAレベルに及ぼす影響をNorthern blot分析により検討した。また併せてapo A-IVについても観察した。

**方法及び結果：**1) Wistar系雄ラット(体重100 g)を32 h.絶食させた後、25% casein (BS)、BS+6% cholestyramine (CH)、あるいはBS - fat free (FF)を16 h.自由摂取させた。飼料摂取量、体重に群間で差は見られなかった。

2) 再摂食後断頭屠殺し、小腸を摘出して内容物を洗い出し、内容物洗浄液中の総胆汁酸濃度を測定した結果、CH群において他2群に比して著しい低値を示し、cholestyramineによる胆汁酸の吸着が確認された。

3) 血中脂質濃度を測定したところ、total cholがBS>CH>FFの順であり、HDL chol、triglyceride、phospholipidsもほぼ同様な傾向にあり、これらは小腸からの脂質吸收を反映したものと考えられる。

4) 小腸粘膜よりRNAを抽出し、Northern blot分析を行なった結果、空腸においては、apo A-I mRNAレベルに群間で差は見られず、apo A-IVはBS群に比べCH、FF群で有意な低値を示した。回腸においては、apo A-IがCH群で他2群に比べて有意に低下しており、apo A-IVはCH、FF群で低下傾向にあった。

**結論：**以上の結果は、小腸apo A-IVの遺伝子発現についてはいくつかの報告に見られるように食餌脂質が翻訳前の段階で影響を及ぼし、一方apo A-Iに関しては胆汁酸の腸肝循環遮断により特に回腸において翻訳前の段階で負に制御されることを示しており、またその低下は食餌脂質吸収低下を介したものではないことを示唆している。またこのときの小腸apo A-I mRNAレベルの低下は、血漿chol濃度変化に寄与しないものと考えられる。

## 2

## ウシ初乳システィンプロテイナーゼインヒビターの精製と特性

○芹澤篤、石川秀敏、黒澤誠治

(雪印乳業札研)

**【目的】**ウシ初乳中のシスティンプロテイナーゼインヒビターとして、初乳シスタチンと高分子型のインヒビターの存在が確認されている。我々は、既知のインヒビターと異なる2種の活性物質を新たに見いだした。本研究では、これらの活性物質の特性を明確にすると共に、既知のインヒビターと構造、機能面での比較を目的として、活性物質の精製を試みた。

**【方法】**ババインに対する阻害活性を指標として精製した。分娩から20時間以内に搾乳した初乳を出発材料とした。常法により調製した酸ホエーから、硫酸分画、カルボキシメチル化ババインカラム、ゲルフィルトレーションおよび、逆相クロマトにより精製した。

**【結果】**ゲルフィルトレーションで4つの活性画分を得た。各画分をそれぞれ、逆相クロマトで精製したところ、SDS-PAGEで単一バンドを示す6種のインヒビターを得た。アミノ酸配列分析の結果、2種がキニノーゲンの配列と、2種が既知の初乳シスタチンと一致した。一方、残りの2種は互いに同一の配列を示したが、既報のいずれのシスタチン類ともホモロジーは認められなかった。また、既知の初乳シスタチンと交差性を示す抗ヒトシスタチンC抗体との反応性も認められなかった。この2種のインヒビターの分子量は、それぞれ16kDaと13kDaで、酸性のpI値を示した。また、16kDaのインヒビターのみPAS染色に陽性で、レクチン染色の結果、アスパラギン結合型糖鎖の存在が示唆された。両者は、トリプシンやサーモライシンのプロテイナーゼ活性を阻害せず、システィンプロテイナーゼに対して特異的であることが示唆された。また、ババイン、カテプシンLに対する阻害様式は、非拮抗型の阻害を示した。以上の結果、本物質を新規のシスティンプロテイナーゼインヒビターと推察した。

## 遊離メチオニンを過剰に蓄積するシロイスナズナ突然変異株の分離

内藤哲<sup>1,2</sup>、稻場久美子<sup>2</sup>、藤原徹<sup>3</sup>、林浩昭<sup>3</sup>、茅野充男<sup>3</sup>、米田好文<sup>2</sup><sup>(1)</sup>北大・農・応用生命科学、<sup>(2)</sup>東大・遺伝子、<sup>(3)</sup>東大・農・農化)

ダイズは食料・飼料となることに加えて種子が大きく生化学的研究材料として有利なことから、種子タンパク質の遺伝子発現に関して多くの生理・生化学的研究が行われている。特に、ダイズの種子タンパク質は含硫アミノ酸が少ないとする欠点があり、種子貯蔵タンパク質の蓄積とイオウ栄養の関係を調べた研究が多い。ダイズの主要な種子貯蔵タンパク質の一つである $\beta$ -conglycinin (7Sタンパク質) は $\alpha'$ 、 $\alpha$ 、 $\beta$ の3つのサブユニットを持つが、このうち $\beta$ サブユニットはダイズ植物を硫酸イオン欠乏条件下で栽培すると蓄積が促進され、未熟子葉の培養系にメチオニンを加えると抑制される。 $\beta$ サブユニットタンパク質は含硫アミノ酸含量が極めて少ないと知られており、上記のイオウ栄養応答性はイオウ栄養の多寡によらず、窒素源としての種子貯蔵タンパク質含量を一定に保つための反応であると解釈されよう。

ダイズは生理・生化学的研究材料としては有利であるが、遺伝学的研究材料としては不向きである。そこで、ダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子を、高等植物における遺伝学的研究材料として有利な性質を持つシロイスナズナに遺伝子導入し、得られたトランスジェニック植物を用いて研究を行っている。

$\beta$ サブユニット遺伝子発現のメチオニンに対する応答性を遺伝学的に解析する系を構築するため、メチオニンのアナログであるエチオニンに耐性となったシロイスナズナ突然変異株を分離した。エチオニンはメチオニンの代りにタンパク質に取り込まれる等、細胞内の様々な反応でメチオニンの代りに使われるため毒性を示す。既に、大腸菌、酵母、さらには植物の培養細胞においてエチオニン耐性変異株が得られており、多くの場合細胞内の遊離メチオニンが増加していた。我々の得たエチオニン耐性変異株は栄養成長期のロゼットにおいて野生型の10~50倍の遊離メチオニンを蓄積していた。生殖成長期においてはロゼット葉の遊離メチオニン濃度は野生型と同程度に低下する一方、茎頂部および未熟果実で遊離メチオニンの濃度が高くなっていた。この変異株の性質およびこの変異を持ったトランスジェニック・シロイスナズナでの $\beta$ サブユニット遺伝子の発現について報告する。

## 4 酵母から植物への直接的なDNA導入法の確立

(北大農) ○初山慶道、寿永七月男、土生芳樹、石川雅之、

川本伸一、内藤哲、大野暁司

植物の形質転換法は多数知られているが、100 kb以上の大きなDNAを容易に導入できる系は確立されていない。我々は、植物の染色体研究を行うための基礎として、巨大DNAの植物細胞への導入という新たな形質転換法の確立を目指している。そこで、大きさ100 kb以上ある酵母の人工染色体 (YAC) を植物細胞に導入する方法の開発に着手した。酵母細胞内のYACを導入する方法としては、植物のプロトプラストと酵母のスフェロプラストの細胞融合が適当であると考えた。この系を現実的に使用できる方法として確立するため、モデルプラスミドDNAを作製して融合操作を行った。このプラスミドには、植物のイントロンをコード領域のN末端部分に挿入した $\beta$ -グルクロニダーゼ(GUS) 遺伝子が導入されている。酵母細胞内では、挿入した植物のイントロンはスプライスされないためGUS活性は検出されないが、植物細胞に導入された場合は高いGUS活性が検出される。モデルプラスミドを保持している酵母と植物(アラビドブシス)のプロトプラストを融合させるため、ポリエチレングリコール(PEG)によって処理する方法を用い、GUSの活性を指標に条件検討を行った。その結果、高いGUS活性の検出される条件を見つけることができた。得られた条件によるDNA導入のプロセスが酵母細胞からアラビドブシス細胞へ直接的なものであり、酵母より漏出したDNAがアラビドブシスに取り込まれたものではないことを示すため、DNA分解酵素を加えてあらかじめ細胞外のDNAを分解した後に、PEG処理を行った。この場合でも高いGUS活性が検出された。このことはDNAの導入が酵母から植物へ直接行われていることを示している。

## 根粒菌の増殖における根粒中の成分の影響について

(帯畜大・生物資源化学) 大和田 琢二、岩田祥子、井川香子、

○佐々木靖治、佐藤哲也

**目的** 根粒菌はマメ科植物の根に侵入して根粒を形成して、空気中から固定された窒素を宿主植物に供給する。この時、根粒菌は運動性を失い、変形してバクテロイドと呼ばれる特殊な形態になることが知られており、増殖機能を喪失していると考えられている。しかし、増殖機能の喪失に関する明確な証明は全くなされていない。本報では、根粒中に含まれているアミノ酸誘導体の中に、根粒菌の増殖を強く抑制する物質を見いだしたので報告する。

**方法** 根粒中のアミノ酸及びその誘導体は、過塩素酸で抽出された後、水酸化カリウムで中和し、遠心分離した上澄みを用いて、HPLCで分析された。根粒菌の増殖には、主にマンニトールを炭素源とした合成培地を用い、振とう培養培地の660nmにおける吸光値の変化から菌の増殖を測定した。

**結果** 根粒中のアミノ酸及びその誘導体をHPLC分析で調べたところ、グルタミン酸、アスパラギン酸、アラニン、そして、ヒドロキシリジンの含量が高く、これらの総量は分析された成分の56%を占めていた。また、タウリンの含量も高かった。次に、これらの成分の根粒菌(*Rhizobium*属)の増殖に与える影響を調べたところ、実験に使用した11株のすべてにおいて、ヒドロキシリジンは1mM程度で強い増殖抑制効果を示した。この抑制効果は、リジンでは全く見られなかった。また、大腸菌や酵母の増殖に与える影響は小さかったことから、根粒菌に対して、特に強い増殖抑制効果がある可能性が考えられた。

ダイズ根粒菌S 32の品種特異性に関する研究 線虫抵抗性と感受性品種の  
ダイズ幼根中の揮発性成分の比較(帯畜大 生資化<sup>1</sup>、キッコーマン(株) 研究本部<sup>2</sup>、十勝農協連研究所<sup>3</sup>)○佐藤 哲也<sup>1</sup>、相島 鐵郎<sup>2</sup>、伊藤 晃<sup>3</sup>

**1. 目的** *Bradyrhizobium japonicum* S32は、北見白など線虫感受性ダイズ品種に有効根粒を、トヨスズなど抵抗性品種には無効根粒を形成する。これまで、本菌株の感染機作を明らかにする目的で、他の菌株との性質の比較を行ってきた。今回は、4品種の線虫抵抗性および5品種の感受性ダイズ幼根中の揮発性成分を分析し、これらの比較を行った。

**2. 方法および結果** 菌株32は抵抗性品種(トヨスズ、トヨコマチ、トヨムスメおよびスズヒメ)に対し側根にのみ根粒を形成し、主根には形成せず、窒素固定能も低い。しかし感受性品種(北見白、キタムスメ、カリユタカ、中生光黒および音更大袖)に対し主根に形成し、それらの窒素固定能も高い。そこでこれら2群の幼根(播種後5日—根粒菌による感染開始期)を飽和CaCl<sub>2</sub>液中で磨碎、多孔質ポリマーを利用したバージアンドトラップ法により揮発性成分を濃縮、GC-MS分析した。2群のトータルイオンクロマトグラム(TIC)はパターン認識手法により比較した。TIC上には39ピークが検出され、全品種に共通する最多成分は 2-hydroxy-benzaldehydeであった。39ピークを変数とする線形判別分析からピーク14(hexanal)、ピーク34(benzaldehyde)、ピーク1(ethyl acetate)が2群識別に対する有用成分として選ばれた。これら3ピークの組み合わせにより、感受性および抵抗性品種の2群を完全に識別できた。また抵抗性品種の中でも、その遺伝子型が"Peking"(PI84751)系のスズヒメと、"下田不知"系の他の3品種とでは3ピークのパターンが異なっていた。

## 7

## 各種悪臭物質に対する使用済脱硫剤の脱臭効果について

(北海道東海大 生物工学) 西村 弘行 (北電 総研) 石塚 朋弘 (エコニクス) ○中館 史行

目的：北海道電力（株）苫東厚真発電所1号機の乾式脱硫装置からは年間約3万トンの使用済脱硫剤（以下エコサンドと記す）が排出されている。そのうち約1万トンは脱硫剤として再利用されているが、残りの約2万トンの利用方法を検討している。エコサンドには水を加えると固まる性質と悪臭を脱臭する性質があり、本研究は後者の脱臭効果を化学的に解明することを目的とした。

方法：悪臭物質を三角フラスコに入れ（コントロール）、更にエコサンドをガーゼで包んで吊るしたものとを、1時間後にヘットスペースガス中の濃度をFID検出器付ガスクロマトグラフ及び北川式ガス検知管を用いて再現性を確認しながら測定した。

結果：魚臭で知られるトリメチルアミン [ $(CH_3)_3N$ ]、玉ねぎ腐敗臭で知られるn-ブロピルメルカプタン [ $CH_3CH_2CH_2SH$ ] に対してエコサンドは高い脱臭効果を示した。

またニンニク臭で知られるジアリルジスルフィド [ $CH_2=CHCH_2SSCH_2CH=CH_2$ ] については効果的な脱臭剤がこれまで知られていなかったが、エコサンドを用いた場合には、コントロールとの高い有意差で脱臭効果を認めた。更に、鶏糞等の家畜排泄物に対しても有効な脱臭効果が得られている。これはエコサンドの金属イオンとの配位結合によるものなのか、あるいは物理的に包摂されたものなのか、その脱臭メカニズムは不明で今後の課題である。

## 8

## 微生物による菌体外高分子の生産

○松山英俊（北海道東海大生物工学）、上野啓介（北大地球環境科学）

1 目的 産業上有用な多糖類などの高分子を生産する細菌を得ることを目的として分離した菌株のなかから3株を選び、その菌体外高分子の生産をさらに検討することにした。今回はその分離菌株1株の同定、菌体外多糖の構成糖、粗多糖生産に対する窒素源、炭素源、pH、温度などの影響、菌体外高分子のゲル通過による分画などについて検討した。

2 方法および結果 道内のワイン工場やメロン工場などの土壠を採取し、集積用培地（酵母エキス5g、エタノール5g、水1liter）で集積培養後分離した菌株を、Hestrin<sup>1)</sup>らの培地で菌体外に高分子を生産するか調べたなかの1株は、培養液が著しく粘稠性になった。本菌株は、グラム陰性の桿菌で非運動性、通性好気性、VP(+)、オキシターブ(-)、英膜を有することなどから、Klebsiella sp.と同定した。粗多糖の調製は、培養液の煮沸、遠心分離による菌体除去、エタノール沈澱、透析、凍結乾燥によって行った。その構成糖はカルバゾール硫酸法によりウロン酸を定量し、2N TFAによる加水分解後のalditol acetateとしてガスクロマトグラフィーを測定することにより中性糖を定量した。その結果、構成糖はウロン酸、ラムノース、マンノース、ガラクトース、グルコースからなっていた。温度依存性を検討したところ、生育に対して約32℃、粗多糖生成に対して約15℃が最適温度であった。窒素源として、ペプトン、塩化アンモニウム、尿素、アルギニン、硝酸カリウムを検討したところ、菌体生成も粗多糖生成もペプトンが最もよく、塩化アンモニウムでは菌体生成が多いが、粗多糖はほとんど生成しなかった。炭素源としてエタノール、酢酸、シュークロース、グルコサミン、グルコース、プロピオン酸を調べた。どの炭素源の場合も構成糖の種類は変化しなかったが、生成した粗多糖をSephadex CL-4Bで分画すると、クロマトパターンは大きく異なった。1) Hestrin et al., Biochem., 58, 345(1954)

## 9 アカエゾマツ液体培養細胞の生成するリグナン

(帯畜大・生物資源化学科) ○鍋田憲助、平田恵、黄木由理子、奥山寛

1. 目的 アカエゾマツ (*Picea glauca*) の生産するリグナンを明かにすると共に、それらの鏡像異性体の組成を明らかにする。また、リグナンの蓄積量と培養細胞の生育との関係の関係を明らかにする。併せて、培養細胞からの無細胞抽出液を用いたリグナンの生成を試みる。

2. 方法 NAA 5 ppm、カイネチン 5 ppmを加えた MS 液体培地で生育した液体培養細胞から、各種液体クロマトグラフィーにより、リグナンを単離した。同定は  $^1\text{H-NMR}$  で行い、鏡像異性体の組成比は、キラルなカラムを用いた HPLC 分析並びに CD によって決定した。生育については、培養細胞の湿重量を測定し、リグナンの経時変化は MeOH 抽出と HPLC 分析を組み合わせて測定した。 Peroxidase 活性並びに coniferyl alcohol からのリグナン生成は pH 7.4 及び pH 5.9 ( $\text{Mn}^{++}$  添加) の 2 条件下で行った。 Peroxidase 活性は guaiacol test で求めた。

3. 結果 アカエゾマツ 培養細胞中に存在する主要リグナンは pinoresinol(1) 並びに trans-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol(2) であった。 Pinoresinol の (+) 体と (-) 体の組成比は 0.57:1 であった。 化合物 (2) はアセチル化後 HPLC 分析した。その結果 2S, 3R-体と 2R, 3S-体の組成比は 1:0.21 と算出された。この結果は、液体培養細胞中でのエナンチオ選択的に coniferyl alcohol を酸化的カップルする酵素の存在を示唆した。また、 Peroxidase 活性は pH 5.9 ( $\text{Mn}^{++}$  添加) の条件の方が活性が高く、また、 coniferyl alcohol を効率良くリグナンに転換した。このことから、細胞中での manganese peroxidase の存在が示唆された。なお、生成したリグナンは、 pinoresinol(1) と化合物 (2) の前駆物質である dehydrodiconiferyl alcohol(3) であった。リグナン蓄積量は細胞の生育旺盛な期間の後期に最も多く、その後、減少した。

## 10 樹木病原菌 *Valsa ambiens* の產生する生理活性物質

(北大農、\*北海道立林試)

○焦瑠、吉原照彦、\*秋本正信、市原耿民

目的) サクラ類の胴枯病菌 *Valsa ambiens* の產生する植物毒素の単離及び構造決定を目的として本研究を行い、すでに本菌の培養液から二種の新規不飽和脂肪酸を発表した。<sup>1</sup> 今回は、本菌の培養液からさらに 2 種のフェノール化合物を単離したので報告する。

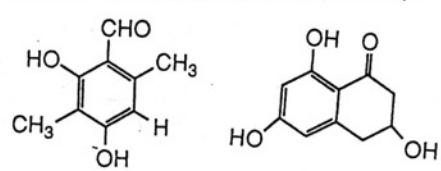
方法及び結果) *Valsa ambiens* をボテトーグルコース培地を用い、25°C、35日間培養した。この培養液を酢酸エチルで抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、PTLC さらに HPLC を用い、化合物 1, 2 を単離した。

化合物 1 は、FDMS, HRMS から  $C_9H_{10}O_3$  (MW166), IR から水酸基( $3180\text{cm}^{-1}$ ), 不飽和カルボキシル( $1610\text{cm}^{-1}$ ), ベンゼン環( $1500\text{cm}^{-1}$ ),  $^1\text{H-NMR}$  から,  $CH_3$  x 2 (1.97, 2.48 ppm), Ar-H (6.21 ppm), -CHO (10.0 ppm) の存在が明らかになった。NOESY 実験によりベンゼン環上の五つの置換基の相対関係を明らかにし、化合物 1 の構造を図に示すように決定した。

化合物 2 は、 $[\alpha]_D^{25} 1.01^\circ$  を示し、EIMS より  $C_{10}H_{10}O_4$  が明らかになった。 $^1\text{H-NMR}$  [6.03 (Ar-H, d,  $J=1\text{Hz}$ ), 6.14 (Ar-H, d,  $J=2\text{Hz}$ ), 4.17 (HOC-H, m), 2.55-3.02 ( $CH_2$  x 2, m)] のスペクトルデータは、scytalone の文献記載データと一致した。

また、レタス胚軸(幼根)生長に対して 1 mM で、化合物 1 は 44.9% (35.2%), 化合物 2 は 67.9% (48.3%) の抑制作用を示した。

[1] 焦ら、日本農芸化学会1993年大会講演要旨、p213。



1

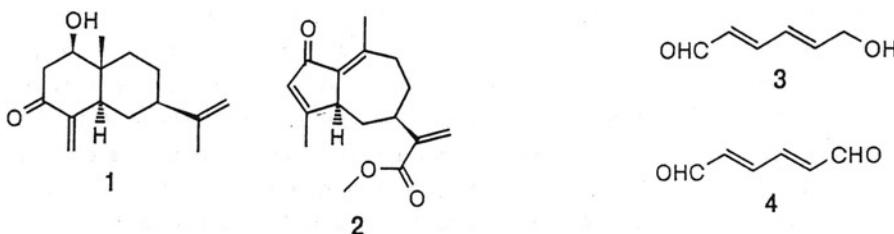
2

## 11

ブタナ(*Hypochoeris radicata* L.)の誘導抗菌物質  
(北大農) ○丸田賢彦、中西祐子、福士幸治、水谷純也

1. 目的: 紫外線処理をしたブタナ(*H. radicata* L.)の葉および根の断片を、検定菌として *Bacillus subtilis* を用いた抗菌試験に供したところ、コントロールより抗菌活性が増大した。さらに、抽出物を TLC を用いた生物検定に供したところ、誘導抗菌物質の生成が示唆されたので、その誘導抗菌物質の単離および構造決定を試みた。

2. 方法および結果: 生物検定には *Cladosporium herbarum* を検定菌とする TLC バイオオートグラフィーを使用した。CuCl<sub>2</sub>処理によっても紫外線処理の場合と同様の抗菌物質が誘導生成した。そこで、ブタナ葉部を 3 mM の CuCl<sub>2</sub> 水溶液に浸漬し、24時間後浸漬液を酢酸エチルで抽出した。抽出物は SiO<sub>2</sub> c. c. 、 PTLC、 HPLC により分画、精製を行い 3 つの抗菌物質を単離した。MS、NMR の結果より 2 つは化合物 1、2 と決定し、1 つは化合物 3 と推定した。植物体 9 kg より化合物 1、2、3 はそれぞれ 24.4、1.5、1.9 mg 得られた。さらに、GC および GC-MS の結果より抗菌性を有する mucondialdehyde, 4 の誘導生成を確認した。



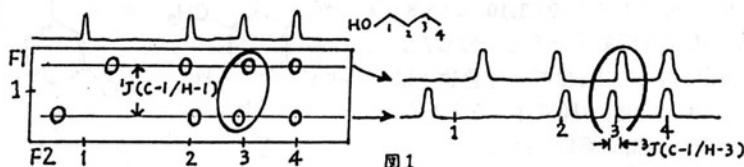
## 12

1D  $\omega_1$  hetero half-filtered HOHAHA

----  ${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$  JCH を 2 つの 1D スペクトルのピークのずれとして検出する方法  
(北大農) ○福士江里、川端 潤

NMR から得られる構造情報のひとつに、2-3本の結合を介した  ${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$  間の遠隔結合定数  ${}^1\text{J}_{\text{CH}}$  がある。 ${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$  JCH を得る手法は数多く発表されているが、そのひとつに 2D  $\omega_1$  hetero half-filtered HOHAHA 法<sup>1)</sup> がある。たとえば 1-ブタノールの本スペクトル中、(F1, F2)=(H-1, H-3) の HOHAHA 相関ピークは F1 方向に  ${}^1\text{J}(\text{C}-1/\text{H}-1)$  で分裂し、それぞれのピークが F2 方向に  ${}^3\text{J}(\text{C}-1/\text{H}-3)$  だけずれているので、2 つの F2 スライスから  ${}^3\text{J}_{\text{CH}}$  が得られる(図1)。この方法は、線幅が広いピークや、他の  ${}^1\text{H}$  核とのカップリングによりパターンが複雑なピークでも、値を読むべき位置が明瞭である。私たちは、積算時間の短縮と分解能の向上を目的として本法の 1D 化を�討した。ここで必要な 2 つの F2 スライスは、1 位が  ${}^{13}\text{C}$  である isotopomer の H-1 シグナルが  ${}^1\text{J}_{\text{CH}}$  の時間展開により F1 方向に分裂したものであるから、選択パルスのみを用いる通常の 1D 化法によっては別々に得ることはできない。そこで、 ${}^{13}\text{C}$  選択パルスの使用に加えて、 ${}^1\text{H}$  パルスの中心周波数の設定と適当な遅延時間を組み合わせて H-1 の  ${}^1\text{J}_{\text{CH}}$  サテライトを片方ずつ消去する方法を考案した。これにより、H-1 の図1の 2 つのスライスに対応する、H-3 のピークが互いに  ${}^3\text{J}(\text{C}-1/\text{H}-3)$  だけずれた 2 つのサブスペクトルを得ることに成功した。現在 HOHAHA 部分を NOE に置き換えて、プロトンのスピン系が連続しない化合物への応用を検討中である。

1) M. Kurz, P. Schmieder and H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 30, 1329 (1991).



## 13

## 生育段階の異なるアズキ葉の膜脂質の不飽和度の相違

(帯畜大・生資化) ○小嶋道之, 古瀬容子, 大西正男, 伊藤精亮

目的：植物の低温感受性と相転移温度の高い飽和型脂肪酸含有の膜脂質（ホスファチジルグリセロールなど）との間に、有意な相関のあることが知られている。一方、低温馴化時には、膜脂質、特にグリセロ脂質の不饱和化機構が働き、多くの脂質クラスの不饱和化が促進されることも知られている。今回は、生育段階が異なり、クロロフィル含量が異なるアズキ葉の4部位（初生葉、第一～二葉、第三～六葉および花房）の膜脂質組成を調査し、生育段階の異なるアズキ葉の膜脂質組成と低温感受性との関連性を考察した。

方法：同時に4部位からアズキ（*Vigna angularis*, Red Bamboo var.）の葉を採取し、常法に従って、クロロフィルと各脂質クラスの含量および分子種組成を求めた。また、8月～10月のアズキ葉（第一～二葉）を採取し、同様にして膜脂質組成の変動を比較した。

結果：アズキ葉の4部位の全脂質のC<sub>16</sub>/C<sub>18</sub>値はほぼ同様であったが、18:3含量は各々で著しく異なっていた。各部位の主要なグリセロ糖脂質の組成はほぼ同様であり、18:3が主要脂肪酸であった。しかし、グリセロリン脂質の不饱和脂肪酸含量は各部位で著しく異なっており、また各グリセロリン脂質の2つの分子種型（C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub>型およびC<sub>18</sub>-C<sub>18</sub>型）のsn-1およびsn-2位の不饱和脂肪酸含量も異なり、その割合は初生葉△第一～二葉>第三～六葉>花房の順で高く、クロロフィル含量の順と同じであった。4部位の中では低温感受性の高い花房のPEおよびPC分子種は、第一～二葉などのそれらとは異なり、16:0-18:3種よりも16:0-18:2種の方が主要で、アズキ葉の各部位のグリセロリン脂質の不饱和度の程度は異なっていた。しかし、8月、9月および10月の葉（第一～二葉）の膜脂質の分子種組成には、著しい変動は認められなかった。

## 14

## ニンジン胚軸における脱分化と分化について

(帯畜大・生資化) ○水江由佳, 大橋伸一, 保田 浩, 増田宏志

目的：植物の組織器官からの脱分化によるカルス誘導は分化組織内で制御されていた細胞のDNA複製、細胞分裂能の回復と考えられる。しかしその脱分化に関する生化学的な研究は少ないようと思われる。私達は先にニンジン胚軸をもちいて新しい不定胚系を見いだした。すなわち胚軸切片を2,4-Dで短時間処理した後、2,4-Dがない培地に移し培養を続けると不定胚が形成されるというものであった。その際、胚軸を2,4-Dで連続的に培養したものと比べると、この系では組織からのより著しい単細胞の離脱すなわち脱分化が起こる。そこで今回はこの系を用いてカルス誘導の条件と2,4-Dの影響を検討した結果を報告する。

方法：無菌的に生育したニンジンの胚軸をもちい、Murashige-Skoog(MS)固体培地でカルス誘導試験を行った。カルス誘導の開始は胚軸組織の細胞が離脱し単細胞となった時期とした。胚軸を2,4-Dで24～48時間処理して、2,4-Dを含まない培地に移し培養すると、カルス誘導は5～6日目で開始され、2,4-Dで連続的に培養したときよりも早く、また活発であった。この場合、thymidineの取り込みから判断してDNA合成は前者の方がより盛んであった。さらに、各種のglycosidase活性がより高くなっていた。このことは2,4-Dが胚軸に対して短時間作用することで脱分化を誘導するが、それを長時間添加しておくと脱分化および不定胚分化の誘導とそれに伴う種々の生化学的反応がむしろ阻害的に働くのではないかと思われる。一方、不定胚分化では2,4-Dで短時間処理し、次に2,4-Dの含まない培地で培養すると分化細胞が単細胞として離脱することなく、すなわちカルス形成を経ないで、直接細胞分裂し不定胚を形成する場合があることを観察した。

プラスチドイニシャル

(北大、低温研) ○秋田智子、勾坂勝之助

1. 目的 現在のところアミロプラスチ増殖の初期過程についてはあまり解明されていないが、アミロプラスチの前駆体とされるプラスチドイニシャルが、休眠覚醒後のボプラやリシングなどの木本類の皮層部や開芽初期の芽などのほか、草本類のじゃがいものストロンにおいても存在することが示されている。本報では秋播小麦の幼鞘と幼根を観察し、プラスチドイニシャル存在の有無を確認した結果を述べる。

2. 方法 秋播小麦の種子を一晩水に浸したのち、2日間室温暗所にて発芽させた。約2mmほどに成長した芽（幼鞘）と、その時点での根（幼根）を用いた。この幼鞘と幼根をグルタルアルデヒドで固定したのち、オスミウム酸で後固定し、エポン包埋後超薄切片を作成して電子顕微鏡で観察した。

3. 結果 草本類である秋播小麦の幼鞘、幼根両方の細胞には、ミトコンドリアに似た大きさで、二重膜構造を有するプラスチドイニシャルが、多数存在していた。内部にはまだでんぶん粒の形成がみられないが、プラスチグロブリを有していた。また、くびれを持ち、分裂途中と思われるプラスチドイニシャルも確認された。

# 合同懇親会

平成5年7月9日(金) 18:00~20:00

於: 共済サロン(札幌市中央区北4西1 共済ビル  
TEL 011-241-2661~4)

会費: 3,000円(学生会員1,500円)

## 北海道農芸化学協会特別会員御芳名

(ABC順)

旭油脂株式会社  
ベル食品株式会社  
恵庭リサーチビジネスパーク株式会社  
福山醸造株式会社  
富良野市ぶどう果樹研究所  
合同酒精株式会社  
北海道アサヒビール株式会社  
北海道日産化学株式会社  
北海道糖業株式会社  
北海道和光純薬株式会社  
北海三共株式会社  
北海製罐株式会社 罐詰研究所  
池田町ブドウ・ブドウ酒研究所  
岩田醸造株式会社  
株式会社北開水工コンサルタント  
株式会社ズコーシャ  
関東化学販売株式会社  
キッコーマン株式会社 千歳工場

麒麟麦酒株式会社 千歳工場  
日本化学飼料株式会社  
日本清酒株式会社  
日本新薬株式会社 千歳クリエートパーク  
日本甜菜製糖株式会社 技術部  
ニッカウヰスキー株式会社  
サッポロビール株式会社 北海道工場  
サッポロビール株式会社 札幌工場  
札幌酒精工業株式会社  
サントリー株式会社 千歳工場  
宝酒造株式会社 札幌工場  
高砂香料工業株式会社 札幌出張所  
十勝農業協同組合連合会 農産化学研究所  
よつ葉乳業株式会社  
雪印乳業株式会社  
雪印食品株式会社  
有限会社 和科盛商会