

合同学術講演会

講演要旨

期日：平成9年7月25日
場所：北海道大学百年記念会館
(北9西5、北大構内)

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
日本食品科学工学会北海道支部
日本応用糖質科学会北海道支部
北海道農芸化学協会

〒060 札幌市北区北9条西9丁目
北海道大学農学部生物機能化学科内
Tel : 011-706-2497/2508

学術講演会

一般講演・午前の部 (9:00~12:24)

(座長：浅野行蔵)

- 9:00 (1) 乳酸菌の膜結合型ATPase欠損変異株に関する研究

○天知誠吾、横田 篤、豊田修次¹、富田房男

(北大・農・応用菌学、¹雪印乳業・札幌研)

- 9:12 (2) *Lactobacillus helveticus* に対するlactoperoxidaseシステムの影響

○河村泰代、平野まゆみ¹、天知誠吾、横田 篤、富田房男

(北大・農・応用菌学、¹雪印乳業・技研)

- 9:24 (3) セルロース生産菌のスクリーニング

○笹崎博之、Saisamorn Lumyong¹、須藤 学、

横田 篤、富田房男 (北大・農・応用菌学、¹タイ・チェンマイ大)

(座長：玖村朗人)

- 9:36 (4) *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* 由来イソマルトトリオーデキストラナーゼ遺伝子のクローニングと一次構造の解析

○水野隆文、松井博和、森 春英、伊藤浩之、木村淳夫、千葉誠哉
(北大・農)

- 9:48 (5) *In situ hybridization* によるラット腸管 polymeric immunoglobulin receptor 遺伝子発現の解析

○園山 慶、中村吉孝、宮川れい子、葛西隆則 (北大・農・生機化)

- 10:00 (6) 北海道米のアレルゲン性評価と解析

2. 高度精白処理によるアレルゲン性の低減化

○柳原哲司、長谷川浩¹、三浦清之²、徳永善也³、大村邦男
(道中央農試、¹長谷川クリニック、²北農試、³千野米穀店)

(座長：田中常雄)

- 10:12 (7) 実験的貯蔵条件における豆類の製アン特性の変化

○加藤 淳、目黒孝司 (道中央農試)

- 10:24 (8) メークインのレトルト製品の品質に及ぼす原料貯蔵温度の影響

○柿本雅史、中野敦博 (道食加研)

- 10:36 (9) 十勝産清見種ワイン中の発酵および熟成過程におけるリスペラトロール量の変動
川口政憲、○安井美裕、中林 司、内藤彰彦、井関 渉、
柚木恵太¹、梅田まさ子¹、大西正男¹、伊藤精亮¹、近藤泰男²
(池田町ブドウ・ブドウ酒研、¹帯畜大・生資科、²東亜大・食工)

(座長：田崎弘之)

- 10:48 (10) フジマツモ科紅藻から得られたプロモフェノール類の α -グルコシダーゼに対する阻害性
○栗原秀幸、三谷 健、高橋是太郎、川端 潤¹

(北大・水、¹北大・農)

- 11:00 (11) マジョラム (*Origanum majorana*) 中の α -グルコシダーゼ阻害物質
—5, 6, 7-trihydroxyflavone類の阻害活性について—

○西岡徹夫、水畠謙二、佐藤恵理、川端 潤、葛西隆則
(北大・農・生機化)

- 11:12 (12) アボカドのacetyl-CoA carboxylase 阻害物質

○渡辺 純、上田千穂子、川端 潤、葛西隆則
(北大・農・生機化)

(座長：戸嶋浩明)

- 11:24 (13) PHENOLIC GLYCOSIDES FROM ROOTS OF *ERIOSEMA TUBEROSUM*

○Wei Guang Ma、Yukiharu Fukushi、Kurt Hostettmann¹
and Satoshi Tahara

(北大・農、科技団CREST、¹ローザンヌ大学・生薬植物化学研)

- 11:36 (14) 1級アミンに対する新規軸性キラル誘導体化試薬

○福士幸治^{1,2}、遠藤和義¹、田原哲士^{1,2} (¹北大・農、²科技団CREST)

- 11:48 (15) 軸性キラル試薬とアルケンとの1、3双極付加環化物の立体化学について
福士幸治^{1,2}、○福井博喜¹、田原哲士^{1,2} (¹北大・農、²科技団CREST)

(座長：栗原秀幸)

- 12:00 (16) ホラゴケモドキ (*Calypogeia azurea*) に含まれる新規セスキテルペンの構造
○田崎弘之¹、沖原智子¹、越野広雪²、小林公子²、鍋田憲助¹

(¹帯畜大・生資科、²理研)

12:12 (17) ツソロイゴケ (*Jungermannia subulata*) 培養細胞からの*ent*-kaurane型ジテルペン

田崎弘之¹、○中須賀いずみ¹、岩崎 剛¹、田中正泰²、鍋田憲助¹
(¹帯畜大・生資科、²JT)

北海道農芸化学協会総会 (13:30~13:45)

一般講演・午後の部 (13:45~14:33)

(座長：福士幸治)

13:45 (18) ニンジン体細胞胚形成の初期過程におけるタンパク質の変化

○中島正晃、保田 浩、増田宏志 (帯畜大・生資科)

13:57 (19) ニンジン体細胞胚形成を誘導する物質の存在について

○山内康哲、保田 浩、増田宏志 (帯畜大・生資科)

(座長：森 春英)

14:09 (20) ニンジン体細胞胚形成過程の体細胞から細胞塊形成の形態学的変化

○我妻千尋、岡田健児、保田 浩、増田宏志
(帯畜大・生資科)

14:21 (21) アミロプラスチの肥大・伸長とプロプラスチド様顆粒の形成：
プラスチドの潜在性機能

○勾坂勝之助 (植物細胞化学研)

特別講演 (14:45~16:45)

(座長：目黒孝司)

1. 施用窒素の形態によるホウレンソウのシウ酸含有率の制御
建部雅子 (北農試)

(座長：葛西隆則)

2. 食事組成による異常脂質代謝
青山頼孝 (北大・農)

懇親会 (17:30~19:30)

於：共済サロン（札幌市中央区北4条西1丁目、共済ビル）

会費：一般 3,000円、 学生 1,500円

（参加者は受付にてお申し込み下さい）

注：ハガキでのご案内は 18:00からになっておりました。

時間が変更となりましたのでお間違いのないようお願いします。

講演の進行に関するお願い

<講演者の方々へ>

- 1) 一般講演は12分（講演10分、討論2分）です。時間を厳守して下さい。
- 2) 一般講演では8分に1回、10分に2回、12分に3回ベルが鳴ります。
- 3) 演者は講演の15分前までに受付にてスライド発表かOHP発表かを知らせ、スライド発表の方はスライドを渡して下さい。
- 4) OHPで発表される方は、備え付けの装置をお使い下さい。
- 5) 演壇にレーザーポインターを用意しますのでお使い下さい。

<一般講演の座長の方々へ>

- 1) 講演番号のみをご案内し、演題名は紹介におよびません。
- 2) 発表者のお名前は「さん」の敬称に統一し、最後に、所属は口頭発表される演者のみの機関名を読み上げて下さい。

<ご参加の皆様へ>

- 1) 上記各項をご了解、ご承知置き下さいまして、積極的にご講演・ご討論にご参加下さい。
- 2) ご質問ご討論に際する氏名所属のお名乗りはご自身のご判断にお任せ致します。

乳酸菌の膜結合型ATPase欠損変異株に関する研究

○天知誠吾、横田 篤、豊田修次*、富田房男
(北大・農・応用菌学、*雪印乳業株・札幌研)

目的 我々は今までに低酸度発酵乳などの製造に応用できる酸性感受性乳酸菌の構築を目的として乳酸菌*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* C2株の膜結合型ATPaseの活性低下変異株No. 1016-51株を取得し、その発酵パターンおよび種々のpH条件下における生菌数を解析してきた。その結果、変異株はpHコントロールしたジャーバイオレットにおいて、低pH領域(pH4, 3.5)において親株に比べて速やかに死滅し、酸性感受性であることを明らかにした。変異株が低pH条件で死滅するメカニズムを明らかにするため、両株の静止菌体を用いた細胞内pHの測定とpH変化による両株のATPase活性の変化を解析した。

方法および結果 細胞内pHの測定方法としては、¹⁴Cラベルしたサリチル酸の細胞内外における分配を測定するシリコーンオイル法を用いた。この際あらかじめ濁度当たりの細胞重量、および³H₂O、¹⁴C-Sorbitolの取り込み比より細胞乾重量当たりの細胞内容積(μl/mg dry cells)を求めておき、この値とサリチル酸の分配比より細胞内pHを算出した。静止菌体としては、飢餓状態まで培養した後洗浄した菌体を用い、種々のpHに調整したMESバッファーに懸濁した後グルコースを添加して60分後に測定を行った。その結果、親株では比較的中性的細胞内pHを維持しようとする結果、バッファーpHの低下とともに△pH(=pHin-pHout)が直線的に増加していた。これに対し変異株ではpH=5以下で細胞内pHを高く維持できず、pH=4では親株が細胞内pHを5.5以上に維持していたのに対し変異株では4.5以下にまで低下していた。これより変異株ではH⁺-ATPase欠損のため、低pH条件下で親株に比べ細胞内pHが低下した結果酸性感受性となっていることが示された。

次に中性および酸性条件下における両株のATPase活性を比較するため、両株をpH7および4.5にコントロールしたジャーバイオレットに供し、5世代以上培養した細胞からプロトプラスト化法を用いて膜画分を取得し、ATPase活性測定に供した。その結果、親株ではpHが7から4.5と低下するとATPase活性が2.8倍に上昇していた。これに対し変異株では1.6倍しか上昇しなかった。pH7における親株の比活性に対する変異株の活性の割合は42%、pH4.5においては25%であった。また両株の粗酵素を用いて至適pHを測定したところ、至適pHはともに中性付近に存在した。以上のことより親株ではpHの減少とともにATPase活性を上昇させ、細胞外プロトン濃度の増加および細胞内pHの低下によるATPase活性の減少に対応しようとしていることが推察されたが、変異株ではそのような機構も親株に比べて欠損していることが示された。

*Lactobacillus helveticus*に対するlactoperoxidaseシステムの影響

○河村泰代、平野まゆみ*、天知誠吾、横田篤、富田房男
(北大・農・応用菌学、*雪印乳業・技研)

【目的】 乳業界で以前から深刻な問題となっている後発酵を防止するためにスターー菌株の育種や培養方法の改良などがあげられるが、さらに直接的な方法としてlactoperoxidase (LP) (EC 1.11.1.7) の製品への添加が注目されている。LPは SCN⁻、H₂O₂を基質とし、主成分として酸化剤OSCN⁻を生成する (LPシステム)。この生成物は広範囲の微生物に対し抗菌活性を持つことが知られている。一般的に、グラム陽性細菌よりもグラム陰性細菌の方がLPシステムに対する感受性が高く、グラム陽性細菌には静菌作用を、グラム陰性細菌には殺菌作用を及ぼす。口腔内の乳酸菌を用いた歯学系の分野では研究が進んでいるが、乳業用乳酸菌に与える影響については未だ不明な部分が多い。そこでLPシステムの阻害作用の解明を目的として、*Lactobacillus helveticus* subsp. *jugurti*について検討を行った。

【方法および結果】 培養は糖濃度を50g/lとしたMRS培地を用いて37°Cで行った。本菌株は酸素感受性が強いため窒素置換をして、LP添加方法を検討した。LPの基質はSCN⁻、H₂O₂であるが、本菌はH₂O₂を放出する能力があるので、LPとSCN⁻のみを菌体接種直後に添加した。添加濃度をそれぞれ5 ppmとした時は生育、乳酸生成とともにLP無添加の対照と比較して大きな差は見いだせなかった。20 ppmとした時は菌は生育しなかった。10 ppmでは、生育、乳酸生成とともに24時間停止した後回復し、培養72時間後にはLP無添加とほぼ同様の生育 (OD₆₆₀=8.2)、乳酸生成 (40.3g/l) を示した。この阻害はシスティンやNa₂S₂O₄のような還元剤を添加することで回復したため、LPシステムにより生成した酸化剤が阻害の原因であると考えられた。またLPシステムの添加を菌体接種直後、対数増殖後期 (培養開始12時間) や定期期 (培養開始24時間) としたところ、LPシステム阻害が最も顕著であったのは対数増殖後期で、乳酸生成速度も1/10以下に低下した。

次に培養中のOSCN⁻の定量をSH基定量用試薬である5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) を用いて試みたが、培地成分による妨害のため直接測定はできなかった。そこで対数増殖後期の菌体を用いて、静止菌体系でグルコース濃度を1g/lとしたバッファーに、LPとH₂O₂を充分量添加して、SCN⁻の添加量を5、10、20 ppmとして比較した。その結果OSCN⁻はLPシステム添加直後にSCN⁻とほぼ等濃度生成し約1時間で分解されていた。また乳酸生成開始は、SCN⁻の添加量に応じて比例的に遅くなっていた。よって、OSCN⁻が*Lactobacillus helveticus*においても静菌作用の原因物質であることが示された。

セルロース生産菌のスクリーニング
 (北大・農・応用菌学、*Dep.Biology,Fac.Science,Chiang Mai University, Thailand)
 ○ 笹崎 博之, Saisamorn Lumyong*, 須藤 学, 横田 篤, 富田 房男

マンニトールを炭素源としたBSHM培地を用いて、果実を中心として天然界からセルロースを効率よく生産する微生物の探索を行った結果、6株の優良株が得られた。これらの単離した微生物のセルロース生産能をBSHM培地で試験したところ、全ての単離株がコントロールとして用いた *Acetobacter xylinum* ATCC23767株よりも高い生産能を示し、最も生産能の高かったCF1-3株は *A. xylinum* ATCC23767株と比べて静置培養では約9倍、振盪培養では約2.7倍だった。次に、CF1-3株についてその分類学的位置を明らかにするために、16S rDNAの塩基配列をPCRとDNAシークエンサーを用いて決定した。この配列をデータベース上でホモロジー検索したところ、*Acetobacter hansenii* との相同意が最も高く、99.5%だった。更に生理学的性質についても検討を行い、その結果、CF1-3株は *Acetobacter hansenii* と同定した。そして、CF1-3株を含む有望な分離株について異なる炭素源(グルコース、フラクトース、アラビノース、キシロース、マンニトール、シューケロース)におけるセルロース生産能を振盪培養で試験したところ、CF1-3株はフラクトースまたはマンニトールを炭素源とした場合には他の分離株よりも高い生産能を示したが、アラビノースまたはキシロースを炭素源とした場合には他の分離株同様生産能は低かった。

Brevibacterium fuscum var. *dextranlyticum*由来イソマルトトリオ-デキストラナーゼ遺伝子のクローニングと一次構造の解析
 ○水野隆文、松井博和、森 春英、伊藤 浩之、木村淳夫、千葉誠哉（北大・農）

(目的) 本菌が生産するイソマルトトリオ-デキストラナーゼ(IMTD)はデキストランを非還元末端より分解し、イソマルトトリオースを遊離するエキソ型の酵素である。本酵素の構造と機能について知見を得ることを目的として、今回IMTD遺伝子の大腸菌へのクローニングおよび塩基配列の決定を行った。

(方法・結果) 精製IMTDの部分配列をもとにオリゴヌクレオチドを合成し、サザンハイブリダイゼーションおよびコロニーハイブリダイゼーション用のプローブを作製した。 *B. fuscum*ゲノムDNAのBamHI断片をサザンハイブリダイゼーションに供し、4.5kbの陽性バンドを得たことから、約4.2~4.8kbの同DNA断片を大腸菌プラスミドpBluescript KS(+)に導入し、大腸菌JM109を形質転換した。コロニーハイブリダイゼーションの結果、約500個の大腸菌のコロニーより全IMTD遺伝子を含むポジティブクローナー株を得た。IMTD遺伝子は37アミノ酸残基のシグナル配列と604アミノ酸残基の酵素蛋白質をコードしており、既に決定したアミノ酸部分配列はすべてIMTD遺伝子上に見い出された。また本酵素の推定分子量は68300であり、精製IMTDで推定した分子量約70,000とよく一致した。本酵素は他のエキソ型デキストラナーゼとは相関が見られないものの、*Arthrobacter*属が生産するエンド型デキストラナーゼと非常に高い相同意が見られた。今回得られた断片中にはIMTD発現にかかるプロモーター領域は認められなかったが、IMTD遺伝子の上流には α -グルコシダーゼ(isomaltose, isomaltotriose、およびpNPGの分解能が高いタイプ)の相同配列の一部が存在した。現在、本酵素の大腸菌での発現を検討しているほか、IMTD遺伝子上流域のクローニングと解析も進めている。

目的：腸粘膜上皮細胞膜に表出されるpolymeric immunoglobulin receptor (pIgR) は、immunoglobulin A (IgA) の腸管腔内への分泌に機能を有し、従って分泌型IgAによる腸粘膜障壁に必須の成分である。腸粘膜の陰窩底部の上皮には多能性幹細胞が存在し、その上部では未分化な上皮細胞が盛んに増殖しており、これらが移動して陰窩一絨毛境界部に達すると増殖を停止して形態的・生化学的な分化が開始され、更に絨毛先端へ移動して最終分化した細胞はアポトーシスを生じて脱落あるいは周辺の細胞に貪食される。pIgRは陰窩上皮細胞に認められ、未分化な上皮細胞のマーカー分子と言われている。しかしながら陰窩一絨毛に沿ったpIgRの遺伝子発現動態についてはこれまで報告がない。本研究では*in situ* hybridizationによりこれを明らかにすることを目的とした。

方法：Wistar系雄ラット（n=5）より空腸、回腸、及び結腸を摘出し、それらの粘膜よりtotal RNAを抽出してNorthern blot分析に供した。また新鮮凍結切片を作成して、*in situ* hybridizationならびに免疫組織染色に供した。Northern blottingならびに*in situ* hybridizationのprobeにはdigoxigeninにより3'-tailing labelした54 baseのoligonucleotideを用いた。

結果：Northern blot分析の結果、pIgR mRNAレベルは回腸<空腸<結腸の順であった。pIgR mRNAは空腸及び回腸においては陰窩上部から絨毛下部の上皮細胞において強く発現しており、陰窩下部の発現は弱く、絨毛中上部での発現は検出されなかった。またシグナルは空腸に比して回腸で弱かった。結腸においては絨毛の形成は見られず陰窩のみが存在するが、pIgR mRNAの発現は陰窩中部で強く発現し、上部での発現は見られなかつた。以上の結果は、Northern blot分析により得られたpIgR mRNAレベルが空腸において回腸より高いのは個々の細胞におけるpIgR mRNA濃度が空腸において高いこと、また結腸におけるpIgR mRNAレベルが高いのは発現している細胞数が多いことを示している。またpIgRは從来いわれていたように未分化な上皮細胞において発現するというよりもむしろ分化初期に一過性に発現するユニークな分子であることが示唆された。免疫組織染色の結果、pIgRタンパクは空腸において陰窩全域と絨毛下部に検出されたが、陰窩下部においてpIgR mRNAの発現が弱いにもかかわらずpIgRタンパクの発現が相当量観察されたのは、この領域の未分化な上皮細胞においてはpIgRの細胞内輸送の活性が低い結果、わずかに発現したpIgRが細胞にとどまることによるものと推測した。

6

北海道米のアレルゲン性評価と解析

2.高度精白処理によるアレルゲン性の低減化

○柳原哲司・長谷川浩^a・三浦清之^{**}・徳永謙也^{***}・大村邦男（道立中央農試、^a長谷川クリニック、^{**}北海道農試、^{***}千野米穀店）

<目的> 食物アレルギーの急増が社会問題化しているが、特に米アレルギーは患者から主食を奪うものであることから栄養学的な重要性も高く、その対策が急がれている。前報では、EIAを用いた米のアレルゲン性定量法について報告し、アレルゲン性の指標値を提案した。本報告では、その指標値を用いて、米を高度に精白する事によるアレルゲン性の低減効果を定量的に評価することとした。

<方法> ○ 試料：玄米試料は1996年産の北海道および府県産品種を用い、酒米用精米機により精米歩合70%まで、一定間隔にサンプリングをおこない測定用試料とした。○アレルゲン性の測定：米粒中全タンパク質含量は硫酸-過酸化水素分解後、ケルダール法により定量した。グロブリン含量(GC)は米粉試料を用い0.5M-NaClにより抽出し、BIORADプロテインアッセイキットにより測定した。アレルゲン比活性(ARA)は、一定濃度(50mg/ml)に調整したグロブリン画分のタンパク質と結合する米アレルギー患者血清中の米特異IgGをEIA法で測定し、各試料のARAとした。また、GCとARAの積をアレルゲン指数(AI)と定義し、米あたりのアレルゲン性とした。

<結果> ①精米歩合が高まるに従い、全タンパク質含量およびグロブリン含量は減少し、70%精米では玄米の7割程度となつた。②全タンパク質に対するグロブリン含量の比率は、精米歩合が高まつても大きく変化しなかつた。③ARAは精米歩合が高まるとともに急激に低下し、70%精米では玄米の10%以下になつた。④ARAの急激な低下にともない、米あたりのアレルゲン性(AI)は70%精米で大幅に低下した。以上の結果から、米を70%程度まで削る高度精白により、米のアレルゲン性が大幅に低減化できる可能性が示唆された。今後は臨床的な解析を加え、この効果をより明確にしていく方針である。

実験的貯蔵条件における豆類の製アン特性の変化

(北海道立中央農業試験場) ○加藤 淳・目黒孝司

【目的】 北海道産の小豆は全国の生産量の約8割を占め、高級なアンや和菓子の原料に用いられている。道産小豆は品質が優れていると言われているが、高品質な小豆を安定的に供給するためには、良好な加工適性を長期間維持できる貯蔵条件を明らかにする必要がある。そこで本研究では、小豆および手亡について、各種実験的条件における長期貯蔵過程での製アン特性の変化について検討した。

【方法】 1994年産のエリモショウズおよび姫手亡(十勝管内農協調整品)を供試し、5°C、15°Cおよび30°Cの恒温庫において、紙袋、密封(ポリエチレンフィルム)および真空(脱酸素剤封入)の3種の包装形態で収穫後2年間の貯蔵を行い、3カ月毎に煮熟特性、種皮色および一般成分等について測定を行った。

【結果】 (1)貯蔵開始時の子実水分は、小豆および手亡とともに12~13%であったが、30°Cの処理区では貯蔵に伴い低下する傾向が認められた。特に紙袋区では、貯蔵開始12カ月目以降には、両者ともに6%程度まで低下した。5°Cおよび15°Cの処理区では大きな変化は認められなかった。(2)種皮色については、小豆のL*値、a*値およびb*値はいずれも、30°Cの処理区で低下する傾向が認められた。手亡のL*値およびa*値には貯蔵条件による差異が認められなかつたが、b*値は30°Cの処理区で上昇する傾向が認められた。(3)タンパク質、デンプン、脂質の含有率およびアン粒子の平均粒径には、貯蔵条件による差異が認められなかつた。(4)煮熟特性については、煮熟増加比(煮熟前後での重量増加比)およびアン收率とも30°Cの処理区で低下する傾向が認められ、手亡よりも小豆で著しかつた。小豆の場合では、真空包装により煮熟増加比およびアン收率の低下を紙袋に比べ遅延させる効果が認められた。

8

マークインのレトルト製品の品質に及ぼす原料貯蔵温度の影響

(食品加工研究センター) ○柿本雅史 中野敦博

【目的】 Sサイズのマークインを剥皮し、パウチ包装後レトルト処理した一口サイズの製品が、外食産業の調理素材として生産されている。この製品は、しばしば軟らかすぎる製品(軟化製品)が発生し、加工メーカーにおいてはその改善が課題とされていた。

そこで、軟化製品の発生低減を目的として、発生原因や原料イモの貯蔵温度について検討を行つた。

【方法】 道南、道央、道東の各地域より、マークインのSサイズを購入し(N=3640)、食塩水を用いた比重分別を行つた。比重値を基に低比重、中比重、高比重の3比重区に分類し、2.6.10°Cの貯蔵試験区にて96年10月~97年2月まで4ヶ月間貯蔵試験を行つた。原料イモ試験として澱粉量、還元糖量、萌芽率、萌芽長の測定と、イモを剥皮後、116°C 14分間レトルト処理した試料の硬軟評価試験としてレオメーターを用いた最大荷重の測定を1ヶ月毎に実施した。

【結果】 各貯蔵温度区とともに、低比重<中比重<高比重の順で澱粉量は多く貯蔵期間に応じ澱粉量の減少が認められた。特に、2°C区では1ヶ月間の貯蔵で急激に減少した。還元糖量は、2°C区のみ急激に増加した。11月より6.10°C区では萌芽が認められ、各々1月、12月には萌芽率が100%に達し10°C区では萌芽の伸長と共に塊茎の萎縮・軟化が目立つたが、2°C区では貯蔵期間を通じ萌芽は認められなかつた。最大荷重は、低比重<中比重<高比重の順で高い値を示し、比重の低い原料ほど組織が軟らかく比重が高い原料ほど硬い傾向を示した。貯蔵温度別では、2°C区では澱粉量同様1ヶ月間の貯蔵で最大荷重が急激に減少し、本処理には低温貯蔵が適さない事が解つた。また澱粉量と最大荷重には強い正の相関が認められた。

十勝産清見種ワイン中の発酵および熟成過程におけるリスペラトロール量の変動
 川口政憲、○安井美裕、中林司、内藤彰彦、井関渉、袖木恵太¹⁾、
 梅田まき子¹⁾、大西正男¹⁾、伊藤精亮¹⁾、近藤泰男²⁾、
 (池田町ブドウ・ブドウ酒研、¹⁾帝畜大・生資化、²⁾東亜大・食工)

ワイン中の心臓病予防因子の一つと考えられるリスペラトロール(RT)とその配糖体であるバイシードの含量および変動要因について、これまで多くの研究がなされてきた。演者らも十勝産ブドウ清見種の果汁およびワイン中のRT量について検討を行い、その含量は、他品種の果汁およびワイン中の含量に比べ高いこと、アルコール発酵過程で顕著に増加することなど、RT量の変動要因は、ブドウ品種特性や製造方法が重要であることを確認している¹⁾。今回は、引き続いてRT量の変動要因を解析するために、清見種におけるRT量の乳酸発酵および熟成過程での変動や収穫年による違いを検討した。

ワイン中のRT量は、各試料からの酢酸エチル可溶部を固相抽出カートリッジおよび順相と逆相HPLCを用いて測定した。またバイシード量は、フェノール画分のβ-グルコシターゼ分解後のRT量を求めて換算した。

結果として、乳酸発酵終了後8カ月までの乳酸発酵および熟成過程で、RT量は増加し続けていた(約2倍)²⁾。これに対し、乳酸発酵が生じていないワインでは、RT量の変動は生じなかつた。このことから、乳酸発酵が生じると共にバイシードが減少し、その一部は加水分解されRTに移行し始め、その反応は乳酸発酵終了後も数カ月間継続するものと考えられた。次に、1992年までの過去11年間のワイン中のRT量は、収穫年によって大きく異なっていた²⁾。また、各ピントージのRT量と気象条件(積算温度、積算日照時間)には相関が認められた。これらよりワイン中のRT量については、乳酸発酵、熟成期間、気象条件が重要な変動要因であることが明らかになった。

1) 安井ら:日本ブドウ・ワイン学会誌、7(2):228-229(1996)

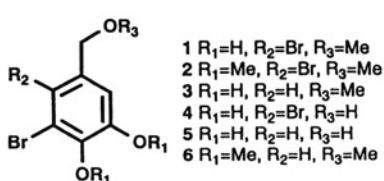
2) 袖木ら:日農化1997年度大会講演要旨集、p.347

10 フジマツモ科紅藻から得られたプロモフェノール類のα-グルコシダーゼに対する阻害性

(北大水産) ○栗原秀幸、三谷健、高橋是太郎、(北大農) 川端潤

【目的】演者らはこれまでに北海道南部の海藻類に含まれる糖加水分解酵素阻害成分の検索を行ってきた。その過程で、フジマツモ科(*Rhodomelaceae*)紅藻ハケサキノコギリヒバ(*Odonthalia corymbifera*)のメタノール抽出物から酵母およびラット小腸α-グルコシダーゼ活性に対して阻害性を示すプロモフェノール(1)を同定し、そのメチル化体の2およびカテコールと阻害活性を比較した。本報告では、1の類縁体を得たので、それらのα-グルコシダーゼに対する阻害活性を比較した。

【方法】函館市および南茅部町の海岸で採集した紅藻フジマツモ科のハケサキノコギリヒバおよびモロイトグサ(*Polysiphonia morrowii*)のメタノールおよび含水アセトン抽出物からシリカゲルクロマグラフィーによりプロモフェノールを単離した。それらの構造はMS、NMR等の機器分析の結果により決定した。酵素活性の測定は、酵母由来α-グルコシダーゼの場合には基質にp-ニトロフェニル-α-グルコビラノシドを用いた吸光法で、ラット小腸α-グルコシダーゼの場合には基質にマルトースおよびスクロースを用いて、ラット小腸アセトン末から調製した粗酵素により生成したグルコース量をグルコースオキシダーゼ法で定量した。



【結果】モロイトグサのメタノール抽出物からは1のデプロモ体である3が得られた。1と3はベンジルメチルエーテル構造をとるのでアーティファクトと考えられた。そこで両海藻をそれぞれ含水アセトンで抽出したところ、それぞれのベンジルアルコール体である4と5が得られた。3はさらにメチル化を行い6へと誘導した。1~6ではジプロモ体(1,4)がモノプロモ体(3,5)やフェノール性水酸基のメチルエーテル体(2,6)に比べると強い阻害活性を示した。また、4は1より強い阻害性を示した。詳細なデータについては現在検討中である。

マジョラム (*Origanum majorana*) 中の α -グルコシダーゼ阻害物質
-5, 6, 7-trihydroxyflavone類の阻害活性について-

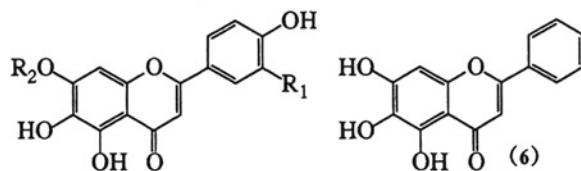
○西岡徹夫、水畠謙二、佐藤恵理、川端 潤、葛西隆則（北大農・生機化）

【目的】食後高血糖抑制には糖質の消化吸収を遅延させることが有効と考えられる。演者らは、この観点から食品中より α -グルコシダーゼ阻害物質の探索を行っている。今回ハーブ類についてスクリーニングを行い、強い阻害活性がみられたマジョラム (*Origanum majorana*) から活性成分の単離同定を行った。

【方法および結果】マジョラム（乾燥葉）のメタノール抽出物の水飽和ブタノール可溶部にラット小腸スクラーゼ阻害活性が認められたので、スクロースの加水分解により生成するグルコース量（グルコースオキシダーゼ法で定量）を指標に分画（逆相カラム、HPLC）し、活性物質を単離した。MS, NMR等の分析により、単離した化合物の構造を5, 6, 7-trihydroxy-flavoneの誘導体 1-5 と決定した。活性に寄与する構造条件の検討を行うため、数種の類縁化合物を併せアッセイを行った。この際、グルコースオキシダーゼ反応はフェノール性化合物により妨害されるため、スクラーゼ反応後、反応液中のフェノール性化合物を塩基性アルミナによる吸着処理で取り除き、発色反応を行った。この結果、フラボン骨格上の6位の水酸基がスクラーゼ阻害活性に関与していることが推測された。また4は、すでに黄芩

(*Scutellaria baicalensis*) から阻害物質として単離したbaicalein (6) と同様に、透過性膜上に培養したヒト結腸癌由来株化細胞Caco-2のスクラーゼを阻害することを確認した¹⁾。

	R ₁	R ₂
1	H	H
2	H	Glc-
3	H	Feruloyl-Glc-
4	OH	Glc-
5	OH	Feruloyl-Glc-



1) 1997年度日本農芸化学会大会要旨集 20P11

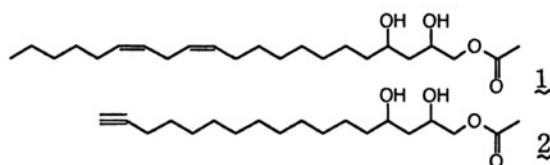
アボカドの acetyl-CoA carboxylase 阻害物質

○渡辺 純、上田 千穂子、川端 潤、葛西 隆則（北大農・生機化）

【目的】脂肪酸の生合成は acetyl-CoA をユニットとする多段階縮合反応で行われるが、その初発反応である acetyl-CoA から malonyl-CoA への炭酸化反応は、acetyl-CoA carboxylase (ACC) により触媒され、全段階の律速段階となっている。脂質の過剰な蓄積は生活習慣病のリスクファクターであり、この改善には ACC 活性の抑制が有効であると考えられる。演者らは、この観点から食品由来の阻害物質の探索を行っており、今回は強い阻害活性が見られたアボカド (*Persea americana*) から活性物質の単離・同定を行った。

【方法および結果】ラット肝 ACC による malonyl-CoA 生成の抑制を指標に、アボカド可食部のメタノール抽出物を溶媒分画、シリカゲルカラムクロマトグラフィー、シリカゲル分取 TLC、HPLC により精製し、活性物質を単離した。機器分析により活性物質(1)の構造は 1-acetoxy-2,4-dihydroxyheptadeca-12,15-diene と推定された。アボカドより既に単離されている 1-acetoxy-2,4-dihydroxyheptadec-16-yne (2) の 2 位と 4 位の水酸基の相対配置はシス型であり¹⁾、1 の相対配置もシス型と思われる。絶対配置などの詳しい構造は現在検討中である。4 位の水酸基が酸化された 1-acetoxy-2-hydroxy-4-oxoheneicos-12,15-diene は抗菌物質としてアボカドからの単離が報告されているが、1 の単離例はこれが初めてである。

1) Y.Kashman et al.: *Tetrahedron*, 26, 1943-1951 (1970).



PHENOLIC GLYCOSIDES FROM ROOTS OF *ERIOSEMA TUBEROSUM*

°WEI GUANG MA, YUKIHARU FUKUSHI, KURT HOSTETTMANN* and SATOSHI TAHARA

*Department of Applied Bioscience, Faculty of Agriculture, Hokkaido University and CREST, Japan Science and Technology Corporation; *Institut de Pharmacognosie et Phytochimie, Université de Lausanne.*

The roots of *Eriosema tuberosum* (Leguminosae), an ethnic medicinal plant used by minority living in the mountains of Yunnan (P. R. CHINA), were successively extracted with dichloromethane and methanol. Both extracts exhibited antifungal activities against *Cladosporium cucumerinum*, *C. herbarum* and *Candida albicans* in the TLC bioautography tests. The fungitoxic constituents and related compounds from the dichloromethane extract were described in our previous papers. The present work deals with the antifungal phenolic compounds and related glycosides from the methanolic extract.

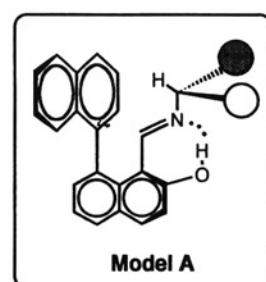
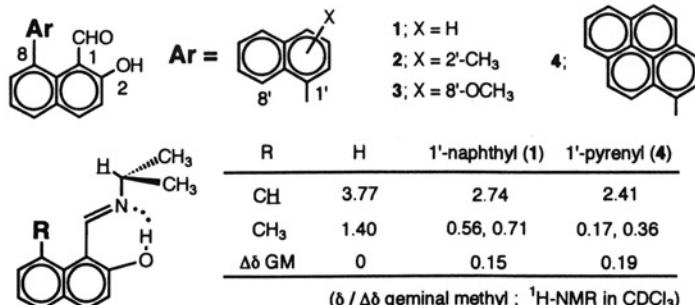
From the *n*-BuOH-soluble fraction of the methanolic extract eight phenolic glycosides together with five phenolic compounds were isolated by combination of various chromatographic techniques. These compounds were established as 5-O-methylgenistein 7-O- β -D-glucopyranoside(1), 5-O-methylgenistein 7-O- β -D-apiofuranosyl-(1-6)-O- β -D-glucopyranoside(2), genistein 7-O- β -D-apiofuranosyl-(1-6)-O- β -D-glucopyranoside(3), genistin(4), sphaerobioside(5), Arbutin(6), 4-hydroxyphenyl β -D-apiofuranosyl-(1-2)-O- β -D-glucopyranoside(7), 5,7-dihydroxy-6,7,7-dimethylallylchromone 7-O-rutinoside(8), genistein(9), 5-O-methylgenistein(10), vanillic acid(11), 4-hydroxybenzoic acid(12) and hydroquinone(13) based on a combination of spectroscopic analyses (UV, IR, mass spectrometry including FD, FAB and EI models, 1D and 2D NMR experiments) and chemical degradation. Among these constituents compounds 2, 7 and 8 are found to be novel natural products. The compounds 11, 12 and 13 were found to be responsible for the antifungal activity and compound 1 was reported to have the antiviral activity *in vitro* antiviral assay. To our knowledge it was the first time to find that isoflavanoid glycosides co-occurred with their lipophilic aglycones in water soluble fraction of the roots of *Eriosema tuberosum* even if such phenomena appeared in some species belonging to the families of Asteraceae, Lactucaceae and Fagaceae.

1級アミンに対する新規軸性キラル誘導体化試薬

°福士 幸治**、遠藤 和義*、田原 哲士** (*北大農、**科技団CREST)

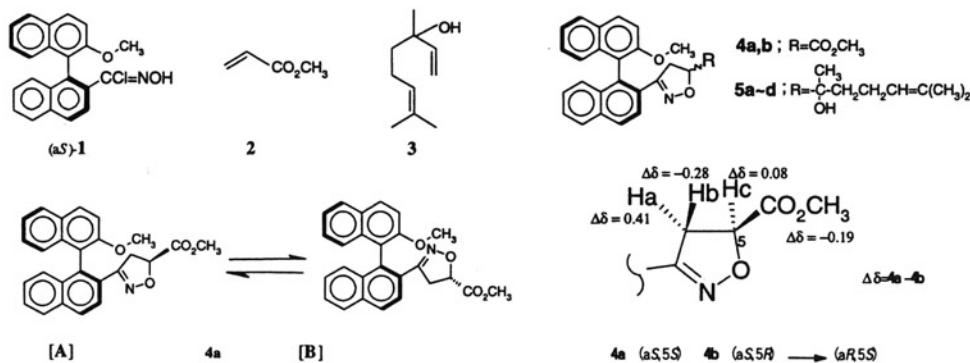
目的：オルト位にフェノール性水酸基を有する芳香族アルデヒドは、1級アミンと安定なSchiff baseを形成する。今回、この部分構造を有する新規軸性キラル化合物 (8-aryl-2-hydroxy-1-naphthaldehyde, 1~4) を合成した。これらと1級アミンから調製したSchiff baseについてNMR解析し、元のアミンの絶対配置と誘導体の化学シフトとの関係について検討した。

方法と結果：1級アミンとのSchiff baseを形成した際、アミン部分が芳香族環の遮蔽領域にはいるような化合物として1~4を合成した。これらとisopropylamineとのSchiff baseにおいて、アミン部分のプロトンシグナルが高磁場シフトしており、ジェミナルメチルプロトンの化学シフトも大きく異なっていた。数種のキラルアミンとのSchiff baseについてNMR解析結果、溶液中ではModel Aに示した立体配座が予想された。現在、新Mosher法と同様の原理で元のアミンの絶対配置が決定できるかどうか検討中である。上記のSchiff baseはシリカゲルTLC上で分解せず、黄色のスポットとして検出でき、また、酸加水分解により元のアミンが回収できる。



目的; 軸性キラル化合物(aS)-1-(2'-methoxy-1'-naphthyl)-2-naphthyl carbohydroximoyl chloride(1)とアルケンよりイソオキサゾリンを調製し、溶液中でのそれらの立体化学についてNMRで解析した。

方法および結果;(aS)-1とmethyl acrylate(2)およびラセミのlinalool(3)からイソオキサゾリンのジアステレオマー混合物を調製した。それぞれを順相系カラム用いたHPLCにより分取し、2からの誘導体2種(4a,b)と3からの誘導体4種(5a~d)を得た。4a,bは'H NMR(CDCl_3)においてmethyl acrylate由来のプロトンシグナルが高磁場に現れたことから、ケミカルシフトに対して配座[A]の寄与が大きいものと考えられる。この配座は、NOE実験の結果からも支持された。また、4a,bにおいて、対応するプロトン間のケミカルシフト差は、イソオキサゾリン環を含む平面を境に、符号が異なっていた。現在5a~dについてNMR解析中である。

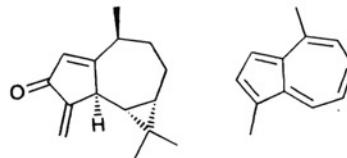


ホラゴケモドキ (*Calypogeia azurea*) に含まれる新規セスキテルペンの構造 (1¹帯畜大生物資源科学科、²理研) ○田崎弘之¹、沖原智子¹、越野広雪²、小林公子²、鍋田憲助¹

<目的> *Calypogeia* 属の苔類は、azurenene誘導体を細胞内の油体に多量に含んでおり、顕微鏡で観察すると、油体が青色や茶褐色を帯びる特徴を持つ。今までに、その1種であるホラゴケモドキ (*Calypogeia azurea*) からは、野外採集した植物体や培養細胞から 1,4-dimethyl azurenene 等のazurenene誘導体や、数種のセスキテルペンの存在が明らかにされている¹⁾。我々は、このコケの成分について興味を抱き、その再検討を試みた。

<方法及び結果> 日高山系ラッコ岳中腹で採集した *C. azurea* の植物体 (109.8 g) を Et_2O 抽出した。 Et_2O 抽出物 (569.6 mg) を VLC(*n*-hexane-EtOAc stepwise) で9画分に分画した。次いで、Fr. 1 (65.0 mg) を HPLC (SiO_2 , *n*-hexane-EtOAc 19:1) で分画し、既知の 1,4-dimethyl azurenene (2.9.1 mg) を、Fr. 2 (156.2 mg) を HPLC (SiO_2 , *n*-hexane-EtOAc 9:1) で分画し、新規 aromadendrane型セスキテルペン (1,5.7 mg)を得た。1は無色針状結晶 (mp 90.0-91.5 °C) で、EI-HR-MS より分子式が $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}$ であることが示された。また、IR (1658, 1692 cm^{-1}) と ^{13}C NMR (196.3 ppm) から α, β -不飽和カルボニル基の存在が示唆された。さらに、各種NMR分析およびX線結晶構造解析により構造を図のように決定した。

1) S. Nakagawara, K. Katoh,
T. Kusumi, H. Komura, K.
Nomoto, H. Konno, S. Huneck,
and R. Takeda, *Phytochemistry*
31(5), 1667(1992).



(¹帯畜大生物資源科学科, ²JT)

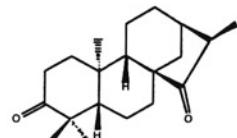
田崎弘之¹, ○中須賀いずみ¹, 岩崎剛¹, 田中正泰², 鍋田憲助¹

[目的] ウロコゴケ目の苔類は、今までに多くのテルペン類の単離報告がなされてきた。しかしながら、一般的にウロコゴケ目の植物体が小さく、さらに群生した状態で発見が難しいため、充分な量の実験材料が得られない問題がある。我々は、この問題を解決するため、野外採取したコケの胞子や配偶体を、無菌化して試験管内で増殖させ、コケの産生するテルペンの構造解析、合成研究を行っている。本報ではツツソロイゴケ(*Jungermannia subulata*)の胞子から誘導した培養細胞が産生するジテルペンの分離精製およびその構造について報告する。

[方法および結果] 野外採取された*J. subulata*の胞子のうを表面殺菌後、BS培地にて培養、カルス化後、MSK試験管培地に移植し、1ヶ月ごとに継代培養した(連続光照射下2000Lux, 25°C)。このカルス19.2g(乾燥重量)をEt₂O抽出し、濃縮後、Et₂O抽出物(1101.5mg)をVLC、HPLCにより分離精製し、新規ent-kaurane型ジテルペン1(32.8mg)を得た。1は無色針状結晶でFAB-HR-MSから分子式C₂₀H₃₀O₂であることが示された。またIR(1750cm⁻¹)およびUV(233nm)からカルボニル基の存在が示された。さらにNMRスペクトルデータの解析により構造を図のようにent-kaurane-3,15-oneと決定した。同時に単離したhydrangenol methyl esterは、

*Plagiochila adiantoides*から分離されたものと同じ(+)-体であった¹¹。カルスから誘導した懸滴培養細胞中のジテルペンの組成についても併せて報告する。

1) S. Valcic, J. Zapp, H. Becker

Phytochemistry, 44(1), 89(1997)

1

(帯広畜大・生資料) ○中島 正見 保田 浩 増田 宏志

(目的) 高等植物の体細胞胚形成において分化した細胞から細胞塊を経て胚が形成される初期段階に関する生化学的または分子生物学的研究はほとんど行われていない。その理由は体細胞胚形成の初期段階の試料を充分に得ることができない為である。私達は体細胞胚形成の初期段階の試料を得るために材料として再生した幼植物体を用いた。再生した幼植物体を用いると芽生えの胚軸切片を用いた場合よりもより短期間で高頻度かつ同調的に体細胞から胚が形成される。そこで今回はこの再生した植物体を2,4-Dで処理し、次いで2,4-Dのない培地へ移すことによって体細胞胚を誘導する方法を用いて、誘導された細胞を成長段階ごとにクラスター前期、クラスター後期、球状胚とし、さらに再生植物体と2,4-D処理後の再生植物体のそれぞれの段階で特異的に発現するタンパク質について検討したので報告する。

(方法と結果) それぞれの段階の生重量あたりのタンパク質量を調べたところ球状胚で特にタンパク質量が少ないことが見いだされた。次いでタンパク質量を一定に合わせてSDS-PAGEに供し、それぞれの段階の電気泳動パターンを比較した。同様に2D-PAGEを用いてそれぞれの段階の電気泳動パターンを比較した。これらの結果からある成長段階で特異的に発現あるいは消失しているいくつかのタンパク質が見いだされた。またそれぞれの段階に[³⁵S]-methionineを24時間取り込ませ、2D-PAGEに供しRI標識されたタンパク質を検出することによってそれぞれの段階で合成されているタンパク質についても比較、検討した。

(帯広畜大・生物資源科学) ○我妻千尋、岡田健児、保田浩、増田宏志

私達はニンジンの新たに開発した再生植物体を材料にした体細胞胚形成系を用いて研究を進めている。この体細胞胚形成系は再生植物体を2,4-Dで短時間処理すれば2,4-D非存在下で一段階で高頻度で体細胞から胚が形成される利点がある。私達はニンジンの胚軸表皮の体細胞が胚に分化する場合の最も初期段階で、体細胞がどのような機構で胚形成能力をもつ細胞塊に変化するかに興味をもっている。今回は体細胞が分裂して胚形成能力をもつ細胞塊が形成する過程の細胞の形態学的变化を観察したので報告する。

再生植物体を2,4-Dで短時間処理し2,4-Dのない培地に移し培養すると、単細胞とシート状の表皮が培地に遊離していく。材料として培養4-5日目の最も初期の細胞をもっていた。この時期の細胞は単細胞と細胞塊が混在している。核は細胞を固定してDAPIとPIで染色した。体細胞では液胞の占める割合が大きく、核は小さい。それが分裂し、細胞塊を形成するに従い、液胞は小さくなり、細胞当たりに占める核の割合が大きくなる。この過程の細胞の形態学変化をSEMとTEMでも観察した。

(帯広畜大・生資料) ○山内 康哲 保田 浩 増田宏志

【目的】 私達はニンジン胚軸切片からの再生植物体を2,4-D(1 mg/l)で24時間処理した後、植物ホルモンを含まない培地に移して培養すると、表皮細胞が分裂し、体細胞胚が形成されることを報告してきた。この系は、植物ホルモン非存在下で体細胞胚誘導の全過程が進行することから外因性2,4-Dを必要とする時間は非常に短いものと考えられる。以前に、我々は一度培養に使った培地(conditioning medium, CM)を新しい培地に加えると細胞の増殖が促進される現象(conditioning effect)を報告した。そこでこの2,4-Dによる体細胞胚誘導は2,4-Dが直接誘導しているのではなく、2,4-D処理がきっかけとなって「体細胞胚を誘導する活性(Somatic Embryo-Induce活性, SEI活性)を持つ物質」が新たに合成され、それが再生植物体から培地に浸出した結果として起こる可能性も推定される。今回はニンジン体細胞胚形成におけるSEI活性をもつ物質の存在を明らかにすることを目的として実験を行ったので報告する。

【方法および結果】 ニンジン再生植物体を24時間2,4-D処理した後、滅菌水を用いて十分に洗浄し、滅菌水中に移し、3時間振盪した。これから植物体を取り除いた溶液を約100倍に濃縮し薄層クロマトグラフィーを用いて2,4-Dとは異なるスポットが存在することを確認した。このスポットから抽出した物質のSEI活性を調べた結果、活性が認められた。さらにこの物質が2,4-Dの代謝産物である可能性もあるため、2,4-D処理の際、培地に[¹⁴C]-2,4-Dを添加し前述の実験と同様の方法で薄層クロマトグラフィーを用いて分離した結果2,4-DのところのみにR I活性が認められた。つまり前述の実験のSEI活性のあるスポットの位置にはR I活性がなくR I活性があるのは2,4-Dの位置だけであった。したがってこの実験でのSEI活性のある物質は2,4-D由来のものではない可能性が高いことが示された。

アミロblastの肥大・伸長とプロプラスチド様顆粒の形成： プラスチドの潜在性機能
植物細胞化学研 勾坂 勝之助

目的 プラスチドの増殖は プラスチド生命の連續性が保たれる経路でおこっている。草本植物のプラスチド前駆体である γ -プロプラスチドにはプラスチドDNAが存在しているので、 γ -プロプラスチド（及び木本植物のプラスチドイニシャル）の形成以前にアミロblast中でDNAの複製は完結している。DNAの複製に続く反応として親プラスチドのストロマの一一部分がDNAを含む顆粒として分離してくるものと考えられる。この機構が可能となるためにはアミロblastストロマが形態的に発達することが必要である。この様な推定に基づいて澱粉粒を蓄積し且つストロマ部分の発達した形態を有するアミロblastの存在を検索した。

方法 材料：馬鈴薯（農林1号）-ポットで栽培。
電顕材料と固定：ストロン（ほふく枝）の先端部を2.5%グルタルアルデヒドで固定後、1%オスミウム酸で後固定し、Epon 812に包埋。超薄切片を順次酢酸ウラニルとクエン酸鉛で染色して電子顕微鏡で観察した。
免疫電顕：IgG（ウサギ）-馬鈴薯の澱粉粒から分離したstarch synthaseを用いて調製した。ビオチン化抗ウサギIgG（ヤギ）とストレプトアビジン-金コロイド結合体は市販品。
材料の固定と包埋剤：4%パラホルムアルデヒドと0.25%グルタルアルデヒド、LR-White resin.

結果 馬鈴薯ストロンの先端部の細胞に発達したストロマを有するアミロblastが存在する。このストロマにはビレノイド様の構造体も検出され、通常の澱粉粒で満たされたアミロblastと異なった形態を示すが、とりわけ特徴的な点としてストロマは舌状に伸長したのちに「くびれ」を生じて顆粒を形成する。 X 世代後の全プラスチドは $(Y) = N (親プラスチド数) + n(2^x - 1)$ で与えられる。 $(n;$ 一世代の子プラスチド数).

合同懇親会

平成9年7月25日（金） 17:30～19:30

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)

アサヒビール株式会社北海道工場
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
北海道日産化学株式会社
北海道立十勝圏地域食品加工技術センター
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
北海製罐株式会社食品研究所
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
株式会社和科盛商会
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
ニッカウヰスキー株式会社北海道工場
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リサーチセンター
雪印乳業株式会社札幌研究所
雪印食品株式会社
有限会社北海道バイオ技術研究所