

合同学術講演会

**講 演 要 旨**

期 日：平成10年11月6日(金)

場 所：北海道大学百年記念会館  
(札幌市北区北9西5、北大構内)

日本農芸化学会北海道支部  
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

〒060-8589 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：伊藤浩之)

- 9:00 (1) *Penicillium purpurogenum* P-26のアピセラゼ I 遺伝子の上流領域における機能解析  
○榎 美歩、須藤 学、富田房男 (北大農・生機化)
- 9:12 (2) アカパンカビ (*Neurospora crassa*) の形態形成遺伝子 *fr* (*frost*) のクローニングと解析  
○曾根輝雄<sup>1,2</sup>、富田房男<sup>1</sup>、A. Griffiths<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>北大農・生機化、<sup>2</sup>ブリティッシュコロンビア大・植物)
- 9:24 (3) *Vibrio rumoiensis* の過酸化水素存在下での生存について  
○一瀬信敏<sup>1</sup>、星野 保<sup>2</sup>、森田直樹<sup>2</sup>、川崎公誠<sup>2</sup>、湯本 勲<sup>2</sup>、  
奥山英登志<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>北大地環研、<sup>2</sup>工技院北工研)
- (座長：竹田保之)
- 9:36 (4) 酵母 *Hansenula saturnus* 由来 1-アミノシクロプロパン-1-カルボキシレートデアミナーゼ (ACC deaminase) の大腸菌およびタバコにおける発現  
○横井大輔、邑上豊隆、伊藤浩之、松井博和、本間 守  
(北大農・生機化)
- 9:48 (5) Identification and Enumeration of Lactic Acid Bacteria in Indonesian *Ragi Tape*  
○I Nengah Sujaya、S. Amachi、A. Yokota and F. Tomita  
(北大農・生機化)
- 10:00 (6) DHA 産生細菌 *Vibrio marinus* MP-1 株の脂肪酸合成に関わる遺伝子について  
○上野晃生<sup>1</sup>、森田直樹<sup>2</sup>、田中美加<sup>2</sup>、松田千穂<sup>3</sup>、渡辺泰生<sup>3</sup>、  
川崎公誠<sup>2</sup>、湯本 勲<sup>2</sup>、扇谷 悟<sup>2</sup>、星野 保<sup>2</sup>、石崎紘三<sup>2</sup>、  
奥山英登志<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>北大地環研、<sup>2</sup>工技院北工研、<sup>3</sup>北大理・生物)

(座長：須藤 学)

- 10:12 (7) *Enterococcus faecium* による菌体外多糖の生産と特徴について  
○曾田春水、橋本 厚、竹田保之、安藤功一 (酪農大・食科)

- 10:24 (8) 酢酸菌の脂質成分の特性と耐酸性能  
○山内奈緒<sup>1</sup>、後藤英嗣<sup>2</sup>、大西正男<sup>1</sup>、伊藤精亮<sup>1</sup>、塚本義則<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>帯畜大・生資科、<sup>2</sup>岩手連大院、<sup>3</sup>中埜酢店・中研)

- 10:36 (9) ダイズ根粒菌 S 32 の品種特異性に関する研究 - *gusA* 標識菌株を用いた感染機作の解明  
○森田真由美<sup>1</sup>、大和田琢二<sup>1</sup>、中山泰次<sup>2</sup>、赤尾勝一郎<sup>2</sup>、佐藤哲也<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>帯畜大・生資科、<sup>2</sup>農業生物資源研)

(座長：大和田琢二)

- 10:48 (10) ニンジン体細胞胚形成における形態的变化について  
○保田 浩、増田宏志 (岩手連大院農・生資科)

- 11:00 (11) 馬鈴薯のストロンにおけるアミロプラスト増殖の主経路：プロプラスチドを形成する経路と成熟アミロプラストの等分裂経路の比較  
匂坂勝之助 (植物細胞化学研)

(座長：福島道広)

- 11:12 (12) サケ肉の乾燥過程におけるタンパク質成分変化  
○鎌形潤一、川合祐史、山崎浩司、猪上徳雄 (北大水・食機化)

- 11:24 (13) トランスフェリンファミリー蛋白質の抗菌活性  
○李 乃元、玖村朗人、三河勝彦、島崎敬一 (北大農・畜産)

- 11:36 (14) ウシラクトペルオキシダーゼのヘム結合ペプチドの推定  
○村田慎哉<sup>1</sup>、渡邊市紀子<sup>1</sup>、玖村朗人<sup>1</sup>、中村信吾<sup>2</sup>、三河勝彦<sup>1</sup>、  
島崎敬一<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大農・畜産、<sup>2</sup>弘前大応生工)

(座長：園山 慶)

- 11:48 (15) ウシラクトフェリンによる小腸上皮細胞の活性化誘導効果  
○劉 永春<sup>1</sup>、水戸部学<sup>1</sup>、畑 克介<sup>1</sup>、小池佑子<sup>1</sup>、島崎敬一<sup>2</sup>、  
東 市郎<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大免研、<sup>2</sup>北大農・畜産)

12:00 (16)  $\gamma$ -リノレン酸及び $\alpha$ -リノレン酸の長期投与による加齢ラットのコレステロール代謝について

○大野修吾、大嶋めぐみ、大橋 哲、福島道広、中野益男  
(帯畜大・生資科)

12:12 (17) 走鳥類エミューの油脂と食肉の脂肪酸並びにアミノ酸の特性について

中野益男<sup>1</sup>、○清水 了<sup>2</sup>、福島道広<sup>1</sup>、関川三男<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>帯畜大・生資科、<sup>2</sup>ズコーシャ総研)

## 日本農芸化学会北海道支部総会 (13:20~13:35)

### 一般講演・午後の部 (13:36~15:24)

(座長：及川英秋)

13:36 (18) 海洋二枚貝類における重金属蓄積

○小瀧 卓、菊池慎太郎 (室工大・応化)

13:48 (19) アミノ酸分析計によるACC (1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid)の定量

○石井現相、瀧川重信 (北農試)

14:00 (20) エゾヤハズゴケ (*Moerckia erimona*) に含まれるリグナンの構造

○田崎弘之<sup>1</sup>、林田隆臣<sup>1</sup>、蓑島清夏<sup>1</sup>、伊藤真由美<sup>1</sup>、古木達郎<sup>2</sup>、  
鍋田憲助<sup>1</sup> (<sup>1</sup>帯畜大・生資科、<sup>2</sup>千葉県立中央博物館)

(座長：戸嶋浩明)

14:12 (21) ユーカリ成分

*p*-Menthane-3, 8-diolsおよび誘導体の各種生理活性について

西村弘行、○古澤健一、倉畑満雄、佐藤 敦 (道東海大・生工)

14:24 (22) リノレン酸開裂代謝物の生理活性的作用の比較

○内山聡子<sup>1</sup>、橋床泰之<sup>1,2</sup>、田原哲士<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>北大農・応生科、<sup>2</sup>科技団CREST)

14:36 (23) 熱帯性植物パキラ罹病内部組織中に含まれる isohemigossypolone 関連化合物  
○芝谷真理子<sup>1</sup>、橋床泰之<sup>1,2</sup>、田原哲士<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>北大農・応生科、<sup>2</sup>科技団CREST)

(座長：田崎弘之)

14:48 (24) Novel Phloroglucinol Glucosides from the leaves of *Desmodium triquetrum* DC.  
○Aung Naing Kyaw<sup>1</sup>、Yukiharu Fukushi<sup>1,2</sup>、Wei Guang Ma<sup>2</sup>  
and Satoshi Tahara<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>北大農・応生科、<sup>2</sup>科技団CREST)

15:00 (25) 軸性キラルメチルスルホン化合物とカルボニル化合物との付加物の立体構造について  
福士幸治<sup>1,2</sup>、○高橋晃樹<sup>1</sup>、福井博喜<sup>1</sup>、田原哲士<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>北大農・応生科、<sup>2</sup>科技団CREST)

15:12 (26) 植物毒素aphidicolinの酵素的全合成研究  
及川英秋、○大橋 聡、市原耿民、吉原照彦 (北大農・生機化)

## 特別講演 (15:30~17:30)

(座長：吉原照彦)

### 1. 「NMRを用いる有機化合物の絶対配置決定法」

福士幸治 (北大農)

(座長：本間 守)

### 2. 「環境と窒素循環 —生物窒素固定を中心に—」

佐藤哲也 (帯畜大)

## 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)

会費：一般 3,000円、 学生 1,500円

(参加希望者は講演会場前の受付けでお申し込み下さい)

1 *Penicillium purpurogenum* P-26 のアビセラゼ I 遺伝子の上流領域における機能解析  
○榎美歩、須藤学、富田房男  
北大・農・応用菌学

【目的】当研究室において分離された *Penicillium purpurogenum* P-26 株は高いセルラーゼ生産能を有する糸状菌であり、そのセルラーゼ成分はノジリマイシン存在下でゲンチオビオースによる強い誘導を受ける。さらにカタボライト抑制機構の存在も示唆されるが、分子レベルでの詳細な解析は行われていない。アビセラゼ I は、微結晶性セルロース（アビセル）に直接作用しセロオリゴ糖を生成する誘導セルラーゼの主成分である。アビセラゼ I 遺伝子の塩基配列の決定および上流プロモーター領域における機能解析を行い、転写レベルでの調節機構の解明を目的とした。

【方法および結果】構造遺伝子とその上流、下流を含む3796bpの全塩基配列を決定した。上流996bpについて機能性タンパク質の結合を確認するべく、ゲルシフトアッセイ（EMSA: electrophoretic mobility shift assay）を行った。上流部分を3つの領域に分け、それぞれの領域における菌体抽出タンパク質の結合を調べた。抽出タンパク質はアビセル、グルコースおよびグリセロールでそれぞれ培養した菌体由来のものを用いた。グリセロールで培養した菌体抽出タンパク質はどの断片にも結合しなかったが、アビセルおよびグルコースを炭素源とした場合はバンドシフトが見られた。さらにグルコース培養菌体の抽出タンパク質について、シフトが見られた領域（-996~-650 bp、-356~-1 bp）を詳しく解析したところ、推定カタボライトリプレッサー結合部位において実際にタンパク質の結合が起こっていることが示唆された。

2 アカパンカビ (*Neurospora crassa*) の形態形成遺伝子 *fr* (*frost*) のクローニングと解析  
○曾根輝雄<sup>1, 2</sup>、富田房男<sup>1</sup>、A. Griffiths<sup>2</sup>  
1) 北大・農・応用菌学、2) Dept. of Botany, Univ. of British Columbia, CANADA

【目的】先端成長（Tip growth）は、糸状菌の重要な成長機構であり、その調節についてCa<sup>++</sup>が大きな役割を果たしていることが生理学的、細胞生物学的な研究から提唱されてきた。しかし、そのコントロール機構の分子生物学的な解析はまだほとんどなされていないのが現状である。そのためには、先端成長に関わる遺伝子及びそのコードする蛋白質を解析する事が有効である。アカパンカビ (*Neurospora crassa*) には多くの形態変異株が報告・保存されており、有効なモデル系である。その一種である *fr* は高濃度のCa<sup>++</sup>を含む培地で培養することにより、その変異が抑制されることが報告されている。そこで、この遺伝子をクローニング・解析し、上記のコントロール機構に関与する新たな因子であることを検証する事を目的に研究した。

【方法と結果】pMOcosX コスミドゲノムライブラリーから、変異の相補によりクローニングを試みた。0.5M CaCl<sub>2</sub> を含む完全培地で37℃で培養することにより多量に形成させた分節胞子より調製したスフェロプラストを用いることにより最大13980/μg DNAの形質転換効率が得られた。これを用いてSib Selectionを行い、*fr* 遺伝子を含んでいるコスミドクローン X18:G8 が得られた。RFLP解析によりこのクローンは第1染色体左腕に位置し、報告されている *fr* の遺伝子座と一致した。約40kbの挿入断片よりサブクローニングした3.0kbの *Xho*I-*Kpn*I断片及びcDNAライブラリーからPCRにより得た *fr* cDNAクローンの塩基配列を決定したところ、*fr* 遺伝子は1つのイントロン（87bp）を含む2358bpからなり、その推定アミノ酸配列は *Saccharomyces cerevisiae* の細胞分裂の核分裂、及び細胞質のMn<sup>++</sup>の調節に関与するCDC1p とホモロジーがあり、両者はホモログであると示唆された。

## 3

*Vibrio rumoiensis* の過酸化水素存在下での生存について

○一瀬 信敏<sup>1</sup>、星野 保<sup>2</sup>、森田 直樹<sup>2</sup>、川崎公誠<sup>2</sup>、湯本 勲<sup>2</sup>、奥山 英登志<sup>1,2</sup> (1北海道大・院・地球環境、2工技院・北工研)

過酸化水素を含む工場排水中から分離された *Vibrio rumoiensis* は、mMオーダーの過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) 存在下でも生育可能であることから、何らかの  $H_2O_2$  耐性機構を備えていることが予想されている。本菌の全可溶性タンパク質の2%程度がカタラーゼであることから、カタラーゼが  $H_2O_2$  耐性の主要因であると考えられる。本研究では *V. rumoiensis* の  $H_2O_2$  存在下での生存機構を明らかにするために、本菌の生長及び細胞構造の  $H_2O_2$  に対する安定性を、カタラーゼ活性を失った *V. rumoiensis* の突然変異株 (S-4 株) や通常のレベルのカタラーゼを持つ他の細菌と比較した。

*V. rumoiensis* および S-4 株を 5 mM の  $H_2O_2$  を含む培地で培養したところ、前者は活発に生長したが、後者は全く生長しなかった。また、*V. rumoiensis* の培地中の過酸化水素は菌の接種後10分以内にその殆どが分解されていた。さらに、*V. rumoiensis* を 5 mM の  $H_2O_2$  で処理したところ、カタラーゼを含む菌体内タンパク質の大部分が培地中に検出された。一方、*V. rumoiensis*、*Escherichia coli*、*Bacillus subtilis*、および *Vibrio parahaemolyticus* を種々の濃度の  $H_2O_2$  を含む寒天培地上で培養し、それぞれのコロニー形成能を調べたところ、*V. rumoiensis* のコロニー形成能は他の菌と比較して明らかに低かった。以上のことから、*V. rumoiensis* は高濃度の  $H_2O_2$  に曝されると菌集団の一部が速やかに破壊されること、培地中の  $H_2O_2$  は破壊された菌体由来する多量のカタラーゼによって直ちに分解されること、生き残った *V. rumoiensis* がその後生長を開始することが予想される。また、本カタラーゼはその活性が菌の *agel* に伴って変化することや、その遺伝子の構造から *E. coli* の HP II 型のカタラーゼであることがわかった。

## 4

酵母 *Hansenula saturnus* 由来 1-アミノシクロプロパン-1-カルボキシレートデアミナーゼ (ACC deaminase) の大腸菌およびタバコにおける発現

○横井大輔、邑上豊隆、伊藤浩之、松井博和、本間守 (北大・農・生機化)

【目的】ACCはエチレンの生合成中間体として多くの高等植物中に存在することが認められており、また、一部の微生物によって窒素源として利用される。ACC deaminaseはACCを  $\alpha$ -ケト酪酸とアンモニアに分解する反応を触媒する。細菌由来のACC deaminaseは大腸菌での大量発現および植物での発現が既に報告されているが、今回は真核生物である酵母 *Hansenula saturnus* 由来ACC deaminaseをコードするcDNAを用いて大腸菌における大量発現系を構築し、発現酵素を精製した。また、タバコにおける発現も試みた。

【方法および結果】PCRを利用して開始コドンに制限酵素 *Nco* I の認識配列を導入したcDNAを発現ベクターpET-11dに導入し、大腸菌BL21(DE3)を形質転換した。得られた形質転換体の培養液1mlあたりの酵素活性は酵母の場合の約15倍量であった。発現酵素を、陰イオン交換カラムおよび疎水カラムクロマトグラフィーによって電気泳動的に均一にまで精製した。培養液250mlから28mgの精製酵素を得、その比活性および  $K_m$  値は酵母のものと近似していた。硫酸アンモニウムを用いて精製酵素から解析に耐えうる結晶が得られ、立体構造解析が進行中である。また、cDNAをCaMV35Sプロモーター下流に連結したプラスミドを構築し、アグロバクテリウムを介してタバコを形質転換した。PCRとノーザン解析により、再生個体葉における遺伝子の導入と、その転写産物を確認した。しかし、酵素活性やウェスタン解析による蛋白質の発現は検出できなかった。また、エチレンの生成量もコントロールと比較して有意な差は見られなかった。

*Ragi Tape* is a starter culture of *Brem* (Balinese Rice Wine) fermentation in Bali, Indonesia. *Ragi Tape* is known to be composed of various organisms such as yeast, filamentous fungi and bacteria. It is also known that population of these microbes varies one from other and affects the quality of the final products, *Brem*. Thus, we examined five types of *Ragi Tape* such as *Gedang* (GD), *Gelatik* (GK), *Jago* (JG), *Na Kok Liang* (NKL), *Sidojoyo* (SD), and found that the major lactic acid bacteria (LAB) are *Tetragenococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus curvatus*, *Weissella confusa*, and *Weissella paramesenteroides*.

Species specific oligonucleotides probes for *T. pentosaceus*, *Ent. faecium*, *Lb. curvatus* and group specific oligonucleotides probe for *Weissella* were prepared and used in order to enumerate these LAB in *Ragi Tape*. Colony hybridization using these probes showed the variation of LAB population among *Ragi Tape*. Total number and species of LAB were different among *Ragi Tape*. It was found that *T. pentosaceus* was present in all the samples. *Weissella* was present in NKL, GD, JG, and GK. However, *E. faecium* and *Lb. curvatus* were present in NKL and GD, respectively.

DHA 産生細菌 *Vibrio marinus* MP-1 株の脂肪酸合成に関わる遺伝子について  
 ○上野 晃生<sup>1</sup>, 森田 直樹<sup>2</sup>, 田中 美加<sup>2</sup>, 松田 千穂<sup>3</sup>, 渡辺 泰生<sup>3</sup>, 川崎 公誠<sup>2</sup>,  
 湯本 勲<sup>2</sup>, 扇谷 悟<sup>2</sup>, 星野 保<sup>2</sup>, 石崎 敏三<sup>2</sup>, 奥山 英登志<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>北大・地球環境,  
<sup>2</sup>工技院・北工研, <sup>3</sup>北大・理・生物)

【はじめに】

好冷性海洋細菌 *Vibrio marinus* MP-1 株 (MP-1 株) は炭素数 16-18 の飽和脂肪酸、モノ不飽和脂肪酸に加えて多価不飽和脂肪酸 (PUFA) であるドコサヘキサエン酸 (DHA) を持つ。本研究では PUFA 産生菌の脂肪酸合成に関わる遺伝子の存在とその性質を明らかにするため、脂肪酸合成酵素 (FAS) 遺伝子 (*fab*) と DHA 合成に関わる遺伝子のクローニングを試みた。

【方法】

数種の細菌で報告されている *fab* 遺伝子クラスター内にある Malonyl CoA-ACP transacylase (MCT) 遺伝子 (*fabD*) と  $\beta$ -ketoacyl-ACP reductase (KAR) 遺伝子 (*fabG*) で良く保存されているアミノ酸配列をもとにオリゴヌクレオチドプライマーを設計し、ゲノム PCR を行った。得られた PCR 産物のシーケンスを行った。予想されるアミノ酸配列が MCT と KAR の相当部分と良く似ているもの (*fabD-fabG* 断片) をプローブとして、ゲノムライブラリーをスクリーニングした。

【結果と考察】

ゲノムライブラリーのスクリーニングによって、*fabD-fabG* 断片にポジティブなクローンを得た。このクローンをシーケンスした結果、*fabD-fabG* 配列の 5' 側には大腸菌でみられる *rpmF*, *plsX* と同一性の高い配列が、3' 側には既知の細菌の *fab* 遺伝子クラスターと同様に *acpP*, *fabF* と同一性の高い配列が存在した。以上の結果は本菌においても、細菌が *fab* 遺伝子クラスターのメンバーとして持つ *plsX*, *fabD*, *fabG*, *acpP*, *fabF* がこの順番で存在することを示している。*fab* 遺伝子クラスターは少なくとも炭素数 16-18 の脂肪酸の *de novo* 合成に関わっていると考えられる。

他方、細菌の *fabD* で良く保存されている内部配列をもとに作成したオリゴヌクレオチドプライマーを用いてゲノム PCR を行った。増幅された DNA 断片をシーケンスしたところ、本菌の *fabD* 以外に、矢澤らが *Shewanella sp.* からクローニングした EPA の生合成に関わる遺伝子クラスターの 5 番目の ORF の一部と同一性を示す断片が認められた (*fabD* homologue)。全体像は明らかになっていないが、*fabD* homologue は DHA 生合成に関わる遺伝子の一部である可能性がある。

本菌にあっては脂肪酸の *de novo* 合成に関わる遺伝子と PUFA 合成に関わる遺伝子が独立して存在していることが予想される。

【目的】近年、乳酸菌が生産する菌体外多糖の生理活性機能が多く報告されており機能性素材としての応用が期待されている。今回我々は、当研究室保存菌株の中で*Enterococcus faecium*と考えられる乳酸菌が培養液中に多糖類を蓄積することを見出したのでその特徴について報告する。

【方法】乳酸菌の培養はMRS培地を用いた。形態的観察、培養条件、糖質化性ならびに菌体可溶性タンパク質のSDS-PAGEパターンなどから乳酸菌の同定を行った。培養液中の多糖類はエタノール沈澱により粗多糖を調製した後、DEAE-Toyopearl 650M、Toyopearl HW-75の各カラムクロマトグラフィーにより精製を行った。全糖量はフェノール硫酸法でタンパク質量はBio-Rad Protein Assayを用いて測定した。糖組成は2N 硫酸または2N TFAにより100℃で6~12hr分解した後、TLC及びHPLC法により分析した。得られた多糖のリンパ球増殖刺激作用をBALB/cマウスの脾臓細胞を用いて検討した。

【結果】今回見出した多糖産生菌は*Enterococcus faecium*と同定された。本菌による培地中への粗多糖蓄積は30℃~37℃、培養24hr~48hrにおいて最大値を示した。培地中グルコース量が0.5%~2%においてほぼ同程度の粗多糖産生が見られた。培地中に添加する糖の種類と粗多糖の産生量について調べたところ、グルコース、ラクトース、フラクトースにおいて産生量が高かった。最終的にゲルろ過により得られた多糖標品は糖含量（グルコース換算）は90%以上、タンパク質含量（BSA換算）は0.1%以下であった。ゲルろ過において標準デキストランと比較した場合、分子量は200万以上と思われた。構成糖としてマンノースとグルコースが確認された。標品単独ではリンパ球増殖に影響は及ぼさなかったが、マイトジェン刺激によるリンパ球増殖反応の抑制作用が認められた。

## 8

## 酢酸菌の脂質成分の特性と耐酸性能

○山内奈緒、後藤英嗣\*、大西正男、伊藤精亮、塚本義則\*\*  
（帯畜大・生資科、\*岩手大・連農、\*\*中埜酢店・中研）

酢酸菌の脂質成分は、グリセリン脂質、スフィンゴ脂質、ホパン系脂質およびアミノ脂質から構成されている。演者らは、先に中酸性度および高酸性度食酢生産菌（中酸度菌と高酸度菌）に含まれるスフィンゴ脂質クラス（遊離スフィンゴイド塩基、セラミドおよびグルクロン酸含有セブレロシド）の組成上の特徴を明らかにした<sup>1)</sup>。今回は、引き続き酢酸菌の酢酸に対する耐性機構と膜脂質との関連性を検討する一環として、主としてリン脂質について両菌体における異同と培養条件による変動を明らかにしようとした。

定常期に達した高酸度菌（*Acetobacter polyoxogenes*、酢酸濃度20%の食酢生産が可能）と中酸度菌（*Acetobacter* sp.、12%の食酢を生産）からクロロホルム-メタノール混液で脂質を抽出し、常法に従って構成成分と分子種の組成を分析した。

全脂質を2次元ケイ酸TLCに供すると、20種以上の極性脂質クラスが見出され、そのうち主要な成分はグリセリン脂質群であった。高酸度菌では、中性リン脂質であるホスファチジルコリン（PC）の割合が中酸度菌と比べて高く（56%と37%）、逆にホスファチジルエタノールアミン量が低くなっていた。酸性リン脂質であるホスファチジルグリセロールの割合（33%と36%）には両菌体間で顕著な違いは認められなかった。また、リン脂質クラスの構成脂肪酸としては共通して18:1<sup>11</sup>が80%以上を占めており、高酸度菌と中酸度菌の間で大差はなかったが、高酸度菌では特異的に16:1<sup>9</sup>が検出された。

*Acetobacter* sp. NCI 1192株（中酸度菌）を6%エタノールの存在下および非存在下で定常期まで培養すると、前者の酢酸産生条件ではエタノール無添加と比べてPCが高値であった。このように培地中の酢酸濃度の上昇とともに膜リン脂質の量比が変化することが示された。しかし、構成脂肪酸の組成変化は軽微であった。

1) 後藤英嗣、大西正男、伊藤精亮、塚本義則：脂質生化学研究、40, 146-147 (1998)。

【目的】ダイズ根粒菌 S32 は品種特異性を有し、キタムスメなど線虫感受性品種 (NS) には有効根粒を着生するが、スズヒメ、トヨムスメなど線虫抵抗性品種 (NR) には有効根粒を着生しない。今回は根面における本菌株の増殖、NR と NS に対する初期感染機作の差異を明らかにする目的で実験をおこなった。そこで、レポーター遺伝子 *gusA* で標識された菌株を利用することにより、NR および NS における S32 の感染過程の観察をおこなった。

【方法】標識菌株はエレクトロポレーション法により S32 の染色体上に *gusA* を挿入して得られた。この菌株について根粒形成能・窒素固定能が親株と差異がないことを確認後、ダイズ(品種キタムスメ、トヨムスメ、スズヒメ)に播種後 4 日目に接種し、さらに 7 日間(明期: 28℃、14 時間、暗期: 23℃、10 時間)栽培した。栽培後に根部を回収し、GUS 基質である X-Gluc 溶液を用いて染色した後、根の表面、根の切片を顕微鏡観察した。

【結果】NS のキタムスメについて顕微鏡による根の表面観察では、標識菌の局所的な増殖による点状の染色が確認された。切片の観察では根毛の変形、カーリング、感染糸の形成、感染細胞と根粒形成が確認された。これに対し、NR の根の表面では標識菌が局在した状態は確認されなかった。切片の観察ではトヨムスメでは根毛の変形と、わずかではあるがカーリングが確認された。スズヒメでは根毛の変形はみられたが、完全な形態のカーリングは確認されず、両者とも感染糸および根粒形成は確認されなかった。以上の結果から、感染初期段階で S32 の品種特異性が決定されることが示唆された。また、NR に有効根粒を着生する菌株である OUG117 の遺伝子断片を S32 に導入することにより、NR に根粒を着生する S32 変異株の作出を試みた。

(目的) ニンジンの体細胞からの胚発生は一個の体細胞が分裂して細胞塊を形成し、次いで胚が形成される過程をとる。この初期過程は胚発生の重要な段階であるにもかかわらずほとんど研究が行われていない。今回は細胞塊から胚が形成される場合の形態的变化を詳細に検討したので報告する。

(方法) 細胞塊は再生した植物体を 2,4-D(1mg/l)を含む MS 液体培地で 24 時間処理し、次いで 2,4-D を含まない培地で 7~8 日間培養して形成したものを使用した。細胞塊から胚形成は静置培養で 1 日毎に連続観察した。

(結果) 細胞塊から球状胚や心臓型胚に発達する過程で様々な形をしている細胞塊がその表層を修正しながら球状胚に発達していく過程を観察した。時々、球状胚から心臓型胚に移行する過程で後に子葉になる部分が非対称に形成されたり、細胞塊から球状胚を経ないで直接心臓型胚が形成される場合が観察された。一方、細胞塊からの胚形成過程において 2,4-D と Aphidicolin の影響についても調べた。

11 馬鈴薯のストロンにおけるアミロプラスト増殖の主経路：プロプラスチドを形成する経路と成熟アミロプラストの等分裂経路の比較  
植物細胞化学研 匂坂 勝之助

目的 アミロプラストに澱粉粒が蓄積する反応に先だつてアミノプラストの増殖がみられる。この増加は、親アミロプラストの等分裂による場合と、親プラスチドからプロプラスチドが形成され伸長・肥大・分裂の過程をたどる二経路が知られている。どちらが主経路として貢献しているかに関しては植物とその組織で異なるものと思われるが明らかでない。伸長中の馬鈴薯ストロンの細胞で、アミロプラストに関連したオルガネラ群の分裂時間 (generation time) が殆ど同じであれば、増殖に関連するオルガネラの出現頻度から主経路を推定することが出来る。本報では電顕写真を調査して得た増殖に関する形態的特徴を要約する。

方法 材料；馬鈴薯（農林1号）- ポットで栽培。電子顕微鏡用材料と固定方法；伸長中のストロンを2.5%グルタルアルデヒドで前固定したのち、1%オスミウム酸で後固定してEpon812に包埋した。超薄切片を順次酢酸ウラニルとクエン酸鉛で染色して観察した。

結果 およそ200枚の写真を用いて細胞質内のオルガネラ分布から全体像を次の5群に大別した。1. 親アミロプラストの分裂を示す像、2.  $\gamma$ -プロプラスチドを多数含む像、3.  $\gamma$ -プロプラスチドの伸長・肥大・分裂と考えられる像、4. 親アミロプラストの“活性型”と考えられる像、5. ミトコンドリア等が主成分を占める像等。1の等分裂を示す形態は極めて少数であった。従つて、馬鈴薯ストロンでは、プロプラスチドの形成と以後の発達に關与する反応系がアミロプラスト形成の主経路であると結論することができる。

12 サケ肉の乾燥過程におけるタンパク質成分変化

(北大・水産) ○鎌形潤一・川合祐史・山崎浩司・猪上徳雄

【目的】産卵回帰シロサケは筋肉自己消化活性の亢進によって肉質ばかりでなく、種々の機能特性が変化することが指摘されており、これらは加工製品の品質にも影響を及ぼすことが考えられる。本報では産卵回帰シロサケ肉の乾燥過程におけるタンパク質成分変化について、冷凍すり身をモデル原料として検討を行った。

【方法】サケ(Cブナ)冷凍すり身に食塩1.5%(w/w)、水25%(w/w)を加えて混合・搗潰した後、厚さ3mmのシート状に形成し、金網上で40℃(RH50%)および20℃(RH65%)の条件で乾燥した。乾燥中、試料を経時的に取り出し、直ちに-75℃で急速凍結し、同温度で分析時まで保存した。これらの各試料は、水分、塩分、水分活性のほか、8M尿素-2%SDS-2%メルカプトエタノール(ME)混液に溶解してSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)に供し、筋肉タンパク質組成を求めた。また、試料の自己消化活性は、ホモジネートをpH3.5と6.5で30℃・1時間放置後、銅-Folin法による吸光度から評価した。

【結果】20℃および40℃乾燥試料とも乾燥過程を通して、水分量は82%から15%まで減少したが、尿素-SDS-ME混液によってほぼ完全に可溶化された。SDS-PAGEパターンからは、20℃乾燥では試料のタンパク質組成に変動は認められなかったが、40℃乾燥ではミオシン重鎖(MHC)の減少とそれよりもわずかに分子量の小さい(150と180kDa)2成分の生成が確認された。試料すり身は自己消化活性を保持し、40℃乾燥中には比較的短時間に活性が低下したが、20℃乾燥過程では比較的高い活性レベルを維持していた。40℃乾燥試料で見られたMHCの減少は、サケ肉のカテプシンによる分解によるものと推察され、乾燥温度がサケ肉乾燥食品の品質に大きく影響する要因の一つであると判断された。

（目的）一般にトランスフェリン・ファミリーに属する蛋白質には抗菌活性があると考えられている。また、ラクトフェリンのペプシン分解物には強い抗菌活性が見い出されているので、本研究では、ウシラクトフェリン(Lf)、ウシトランスフェリン(Tf)、ニワトリオボトランスフェリン(OT)について、大腸菌 O-111 に対する抗菌活性を比較した。また、それらの蛋白質のトリプシン、キモトリプシン、ペプシン分解物の抗菌活性についても比較検討した。

（方法）各蛋白質を純水に溶解し、濃度を 5% とした。酵素分解を行う場合は pH 2.5 (ペプシン) または pH 8 (トリプシン、キモトリプシン) に調整し、基質蛋白質の 1% に相当する酵素を加えて 37°C 5 時間反応させた。以上の各蛋白質試料を使用直前に pH 7 に調整し、ろ過滅菌後、等量の 2% ペプトン水と混合したものを培養液とした。この培養液に大腸菌 O-111 を接種し、37°C 5 時間培養した後、生菌数を平板培養法によって計測した。なお、トランスフェリンファミリー蛋白質を加えずに行った実験区を対照とした。

（結果）酵素分解していないものでは Tf より Lf の方が強い抗菌活性を示した。ペプシン分解によって Lf の場合のみ抗菌活性が維持され、Tf の場合の抗菌活性は認められなかった。逆にトリプシン、キモトリプシン分解では Tf の場合のみ抗菌活性が維持された。全ての場合において OT は抗菌活性を殆ど示さなかった。

【目的】ラクトペルオキシダーゼはミルクに含まれている酸化還元酵素である。分子量約 8 万の糖タンパク質であり、かつヘム鉄を含むため薄緑色を呈している。

過酸化水素とチオシアン酸イオン共存下で強い殺菌作用を持つことから、医薬品や食品加工工程への応用が期待される。しかしミエロペルオキシダーゼなど他の動物由来のペルオキシダーゼに比べて、ラクトペルオキシダーゼの詳細な構造解析は行われていない。本研究ではヘム結合部位や構造安定化のメカニズムを解明することを目的としている。

【方法と結果】Morison (1963) の方法により牛乳ホエーから得たウシラクトペルオキシダーゼをリン酸緩衝液 (pH 2.5) 中でブタペプシンと 1:20 の比で、37°C 10 時間反応させた。反応混液を逆相カラム CAPCELL PAK C18-SG300 (SHISEIDO) を用いて 400 nm でモニターし分析した。得られた画分について質量分析および N 末端アミノ酸分析を行ったところ 345-365 残基に相当するペプチドであると同定できた。400 nm はヘムに由来する吸収であるため、この部分のペプチドがヘム結合部位と関連があることが示唆された。

【目的】 ウシラクトフェリン (Lfcin-B) は、乳蛋白質であるウシラクトフェリン (B-Lf) のペプシン分解物から得られる分子量約3千の塩基性ペプチドである。Lfcin-Bは強い抗菌作用や抗腫瘍活性などの生物活性を有することが知られているが、しかしながら、その他の生物活性についてはまだ報告がない。本研究では、生体の粘膜免疫機能に及ぼすLfcin-Bの調節作用を調べる目的で、小腸上皮細胞に対する活性化誘導効果について検討を行った。

【方法】 (1) 小腸上皮細胞 (ラット由来のIEC-6細胞) の増殖に及ぼすLfcin-Bの増強効果は、<sup>3</sup>H-チミジン取り込みによるDNA合成能の測定と細胞数の計測によって行った。(2) IEC-6細胞の接着及び伸展に及ぼすLfcin-Bの効果は、顕微鏡下での観察によって行った。(3) Lfcin-BによるIEC-6細胞活性化の作用機序は、Focal adhesion kinase (FAK)及びPaxillin分子のチロシンリン酸化の観点から検討した。(4) 様々な配列の合成ペプチドを作製し、DNA合成能の測定実験より、IEC-6細胞の活性化誘導に関わるLfcin-Bの最小アミノ酸配列を決定した。

【結果】 IEC-6細胞をLfcin-Bとの共存下で培養することによって、Lfcin-BはIEC-6細胞のDNA合成を高め、また細胞増殖を促進した。さらに、Lfcin-Bの処理はIEC-6細胞の接着及び伸展の増強をもたらした。情報伝達の観点からその作用機序を検討した結果、Lfcin-Bは反応初期においてFAKとPaxillinのチロシンリン酸化、さらにF-アクチンの形成を増強することによってIEC-6細胞の活性化及び増殖を誘導することが示された。また、合成ペプチドを用いて活性中心の構造決定を試みたところ、Lfcin-BのN-末端から9個のアミノ酸が最小機能配列であることが明らかになった。

【目的】 n-6 脂肪酸であるリノール酸を長期にわたり加齢マウスに多量摂取させることはn-3 脂肪酸及び動物性脂肪に比べて血清中のコレステロール(CHOL)量を下げず、むしろ増加させることが報告されている。しかしながら、以前我々はリノール酸の代謝産物である $\gamma$ -リノレン酸(18:3n-6)がCHOLを负荷したラットへの長期投与により血清CHOL量の上昇を抑制させることを報告した(1)。今回、18:3n-6、 $\alpha$ -リノレン酸(18:3n-3)及び飽和脂肪酸をそれぞれ豊富に含む4種の植物油を長期間加齢ラットに経口投与することによる加齢ラットのCHOL代謝への影響を比較・検討した。

【方法】 24週齢のF344系雄ラットに、18:3n-3を57%含むシソ油、18:3n-6を24%含むポラージ油、18:3n-6を8%含む月見草油、18:3n-6/18:3n-3比を0.56に調製された混合油及びパーム油を各10%添加した高CHOL食を15週間経口投与した。投与終了後、血清の生化学成分は酵素法により定量された。各試料の中性ステロール、胆汁酸及び脂肪酸はGLCにより定量された。

【結果】 15週間の体重増加量及び食餌摂取量には各投与区間で有意な差は見られなかった。血清総CHOL及びVLDL+IDL+LDL-CHOL濃度は、パーム油投与区で投与期間を通して上昇しているのに対して、他の投与区では有意に上昇抑制作用が見られた。肝臓重量と肝臓CHOL濃度は18:3n-6を多く含む油脂ほど低下傾向が見られた。特にポラージ油はシソ油に比べその値を有意に低下させた。糞便へのCHOL排泄量はn-6及びn-3脂肪酸投与区で差は見られなかった。以上の結果から、18:3n-6及び18:3n-3ともに長期投与による加齢ラットの血清CHOL上昇抑制作用は確認されたが、その作用は異なった代謝機構によるものと考えられる。

(1)Fukushima M, Matsuda T, Yamagishi K, Nakano M, *Lipids*, **32**, 1069-1074(1997).

【目的】オーストラリア原産の走鳥類の肉は、ウシ・ブタ・ニワトリの肉に比べ低カロリー、低脂肪、低コレステロール、高タンパク、高鉄分であることから、欧米を中心に成人病予防のヘルシーな食肉として注目されている。しかし、生体中の 7-8%をしめ、背中に特異的に貯蔵する油脂はあまり利用されていない。油脂は皮膚の浸透性の高いことから化粧品や医薬品の原料として利用できる可能性がある。今回、エミュー油脂の脂肪酸特性と食肉のアミノ酸特性を明らかにして高度利用の道を探った。同時にその他の走鳥類のダチョウ、レアの油脂の脂肪酸特性とも比較・検討した。

【方法】日本産とオーストラリア産のエミュー、アメリカ産のダチョウ、南米産のレア背(皮下)脂肪、腎周囲脂肪及び食肉から脂質をクロロホルム-メタノール系により抽出した。脂質クラスは薄層クロマトグラフィーにより分画した。脂肪酸はガスクロマトグラフィー-質量分析により同定・定量した。肉のアミノ酸は筋漿画分を分析した。

【結果】エミュー貯蔵脂肪の主要な脂肪酸はオレイン酸(45-55%)、リノール酸(15-18%)、パルミチン酸(20-24%)であった。不飽和脂肪酸/飽和脂肪酸(U/S)比はエミュー2.35、ダチョウ 1.76、レア 1.67 とエミューで高い傾向が見られた。n-6/n-3 比はエミュー9.8、ダチョウ 2.2、レア 12.6 とダチョウで特に低かった。エミュー食肉中の脂肪含量は 1.0-1.5% と低かった。主要な脂肪酸はオレイン酸(28-30%)、リノール酸(21-23%)、アラキドン酸(12-14%)で、アラキドン酸が多く分布していた。食肉の U/S 比は貯蔵脂肪とほぼ同じであったが、n-6/n-3 比は 46.5 で約 5 倍も高かった。エミュー食肉の主要なアミノ酸はスレオニン(25-30%)、アラニン(16-21%)で、旨味に関連するグルタミン酸(12-15%)、グリシン(7-9%)はウシ(和牛)より少し高かった。

【目的】一般に海洋二枚貝類は重金属蓄積(保持)活性の高いことが知られており、このため一部の二枚貝は海洋の重金属汚染のバイオモニターとしても利用されている。海洋二枚貝類の重金属蓄積は主としてメタロチオネイン(MT)あるいはMT-類似タンパク質(MTLP)に依ると考えられており、事実、我々はホタテガイ(*Patinospecten yessoensis*)組織から高い亜鉛結合活性を有する2種類のMTLPを分離し、その生化学的詳細について本会等で報告した。<sup>1,2)</sup>今回、我々はホタテガイ組織の非可溶性画分に従来のMTおよびMTLPとは異なる新たな重金属結合タンパク質の存在することを見いだした。

【方法】各種の重金属を多量に含有するホタテガイ組織(中腸腺)をホモジナイズして得られる非可溶性画分を、界面活性剤の存在下で超音波処理して可溶化した後、冷アセトン分画とゲルろ過によって亜鉛結合タンパク質を部分精製した。

【結果】ホタテガイ中腸腺非可溶性画分には、非常に高い亜鉛結合活性を有する分子量約100,000のタンパク質が存在した。生物において普遍的な重金属結合タンパク質であるMTあるいはMTLPは細胞可溶性画分に存在する低分子量タンパク質であるので、今回分離された亜鉛結合タンパク質はこれらとは異なる新規の重金属結合タンパク質であることが示唆された。またこのタンパク質は亜鉛ばかりではなくカドミウムなどのその他の重金属にも高い親和性を示すことから、ホタテガイ組織においてはすでに報告したMT、MTLP、および今回分離した重金属結合タンパク質などが協同的に重金属蓄積(保持)に関与していると推定された。

1) S. Kikuchi et al. : Biosci. Biotech. Biochem., 56, 1434 (1992)

2) S. Kikuchi et al. : Biosci. Biotech. Biochem., 59, 751 (1995)

○石井 現相、瀧川 重信 (農水省北海道農業試験場)

我々は北海道・和寒町で長期間雪中貯蔵されているキャベツの品質保持の生理的メカニズムについて S-Methylmethionine (vitamin U) や Sinigrin の蓄積・分解とエチレン生成系との関係を明らかにする目的で研究を行っている。本報はエチレンの前駆物質の ACC 含量をアミノ酸分析計で直接定量する方法を検討し、従来法 (ACC をエチレンに変換して GC で測定する間接的定量法 M.C.C.Lizada & S.F.Yang, 1979) を改良したものである。

## 材料及び方法

アミノ酸分析計：機種 島津 ALC-1000, カラム Shim-pack Amino-Na (5  $\mu$  m,  $\phi$  6.0mm  $\times$  10cm), 温度 60  $^{\circ}$ C, アミノ酸混合標準液：和光純薬 H 型に ACC (Aldrich Chem. Co.) を添加し, 0.2N Sodium Citrate Buffer (pH2.2) で 25 倍希釈し, 100nmol/mL 濃度溶液を作成した。アミノ酸の分離・検出方法は流速 0.6mL で移動相 (基本液：0.2N-Sodium Citrate Buffer (pH3.2), 溶出液：0.6N-Sodium Citrate Buffer (pH10.0) ) の 2 液混合グラジエント溶出で OPA ポストカラム誘導体化後, 蛍光検出するものである。

## 結果及び考察

18 種類アミノ酸の分離を分析計の標準溶出プログラム (38min) で行くと, ACC の保持時間は Met (メチオニン) と Ileu (イソロイシン) の間にあったが, Ileu とは相互に分離できなかった。検出反応試薬にプロリン用 5%NaOCl 液 50  $\mu$  L/500mL を添加せず, 溶出 time プログラムを変えた結果, ACC ピークは 30.5min 付近に出現し, Ileu (31.4min) と相互分離が可能となった (分離度 R=61.5%)。またその面積も NaOCl を添加した (ACC 三員環が開裂分解) 場合に比べて増大した。ACC の検量線は 10pmol-5nmol の間で成立し, 10pmol ACC のピーク面積の変動係数 (n=4) は 2% であった。以上, 溶出液 pH のグラジエント・time プログラム改良により ACC 定量が可能となった。

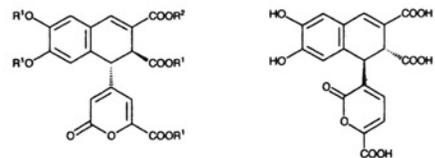
1) M.C.C.Lizada &amp; S.F.Yang. ANALYTICAL BIOCHEMISTRY 100,140-145 (1979)

エゾヤハズゴケ (*Moerckia erimona*) に含まれるリグナンの構造

(<sup>1</sup>帯畜大生物資源科学、<sup>2</sup>千葉県立中央博物館) ○田崎弘之<sup>1</sup>、林田隆臣<sup>1</sup>、  
養島清夏<sup>1</sup>、伊藤真由美<sup>1</sup>、古木達郎<sup>2</sup>、鍋田憲助<sup>1</sup>

<目的>我々は、いままでにジヒドロナフタレン環を有するリグナン1-(3,4-dihydroxyphenyl)-6,7-dihydroxy-1,2-dihydro-2,3-naphthalenedicarboxylic acid が、一方のエナンチオマーが優先してコケ植物に分布していることを明らかにしてきた。さらに、コケ植物に分布する未知のリグナンを探索するため、今回、野外採集したエゾヤハズゴケ (*Moerckia erimona*) からのリグナンの分離を行いその構造解析を行った。

<方法及び結果> 札内川支流沿いの岩上に生育していた *Moerckia erimona* を採集し、植物体を風乾後 (1.1g)、MeOH 抽出した。MeOH 抽出物を H<sub>2</sub>O と Et<sub>2</sub>O で分配した後、水層を 1N-HCl で pH3.5 に調整してから EtOAc 抽出した。EtOAc 抽出物は、Varian Bond Elut C<sub>18</sub> に通して (溶出溶媒 40% AcCN/H<sub>2</sub>O)、これを HPLC (C<sub>18</sub>, 0.5% HCOOH/20% AcCN/H<sub>2</sub>O) で分画し、化合物 1 (1 mg) と 2 (14 mg) を得た。化合物 1 は、FAB-MS より分子量 388 で、<sup>1</sup>H-NMR および UV スペクトルデータは、以前アキウロコゴケ (*Jamesoniella autumnalis*) から単離した同じ分子量の化合物 4 と、類似していた。化合物 2 は、FAB-MS、<sup>1</sup>H-NMR から化合物 1 のモノメチルエステルであることが示唆された。化合物 1 および 2 からは、メチル化 (MeI/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) により化合物 3 が得られた。さらに、化合物 2 と 3 の CH 遠隔相関スペクトルを含む NMR データの解析および CD の測定により構造を図のように決定した。



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
1:	H	H
2:	H	Me
3:	Me	Me

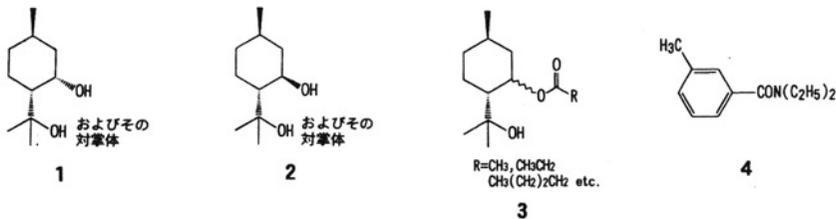
4

(道東海大・生物工学) 西村弘行、○古澤健一、倉畑満雄、佐藤 敦

1. 目的 モノテルペン *p*-menthane-3,8-diols (*cis* 体 1 および *trans* 体 2) は、レモンユーカリ (*Eucalyptus citriodora*) の葉で生産されるアレロケミカルズとして知られている。また本化合物は、蚊に対する忌避活性が高く、哺乳動物に対しては毒性が低く、無臭であることから化粧品メーカーなどから興味を持たれている。今回、本物質およびエステル誘導体 (3) を合成し、蚊に対する忌避活性に加え、抗菌活性および抗酸化活性について調べたので報告する。

2. 方法 合成は、(+)-あるいは(-)-citronellal を出発原料に、全体的に光学活性 *p*-menthane-3,8-diols (*cis* 体および *trans* 体) を合成した。さらに 3 位エーテル誘導体 (3) をそれぞれ調製した。各種合成化合物は、TLC、GC、MS、IR、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR による同定を行った。また蚊に対する忌避活性は、マウスによるヒコキ法を用いて試験した。

3. 結果 *p*-Menthane-3,8-diols の光学異性体間で、蚊に対する忌避活性はほぼ同等程度であった。市販の DEET (4) と同程度の活性であった。また抗菌活性は、エステル誘導体の活性は低下した。

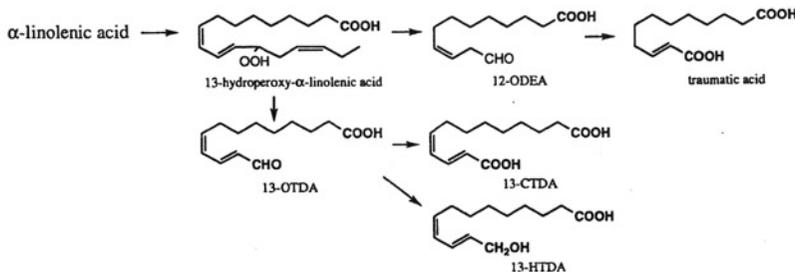
1) H. Nishimura et al., *Agric. Biol. Chem.*, **46**, 319 (1982); *Phytochemistry*, **23**, 2777 (1984)

リノレン酸開裂代謝物の生理活性的作用の比較

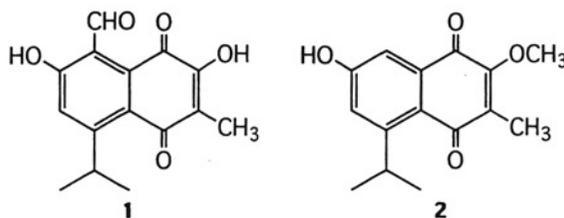
○内山聡子\*, 橋床泰之\*\*, 田原哲士\*\* (\*北大院農科・農化, \*\*北大農・応生科, 科技団CREST)

目的 植物体内に生成した遊離不飽和脂肪酸のリノレン酸については、13位が過酸化された後に起こるC6フラグメントとC12脂肪酸誘導体 (12-oxo-9-dodecenoic acid: 12-ODEA) 生成経路、及びC5フラグメントとC13脂肪酸誘導体 (13-oxotrideca-9,11-dienoic acid: 13-OTDA) 生成経路の2つが存在する。これら開裂により生成するカルボン酸誘導体の植物組織における生理活性について比較検討した。

結果 13-OTDA (10-50 mM / アセトン溶液 20 μl) をウリ科植物のマスキメロン幼果、同下胚軸、ヒョウタン幼果、キュウリ幼果、ユリ科植物のキダチアロエ葉、サボテン科1種の多肉部開傷部にそれぞれ塗布したところ、全ての植物で脱水、収縮、細胞壁の変化が観察された。対照に用いた同濃度のα-リノレン酸やジャスモン酸溶液では変化は殆ど観察されなかった。ジャガイモ塊茎に塗布した13-OTDAはジカルボン酸体 (13-carboxytrideca-2,4-dienoic acid: 13-CTDA) へ酸化され、マスクメロン幼果では主にアルコール体 (13-hydroxytrideca-9,11-dienoic acid: 13-HTDA) へ還元された。さらに13-CTDAと13-HTDAについて同様に生理活性的作用を調べた結果、両化合物とも13-OTDAと同じ活性が検出された。一方12-ODEA代謝物であり、長年の間癒傷ホルモン候補物質とされてきたトラウマチン酸 (10%エタノール、アセトン溶液) 塗布では組織の変化は観察されなかった。これら13-OTDA系化合物の興味ある生理活性を踏まえ、カルボン酸誘導体について組織内定量を行い、酸化開裂生成物の動態と役割を現在調べている。



バキラ (*Pachira aquatica*) はキワタ科に属する木本高木で、おもに熱帯アメリカに分布している。これまでに演者らは、バキラ地下部の主要な内在性抗菌性物質としてカデナン型セスキテルペン isohemigossypolone (1) を単離精製するとともに、本化合物が地下部表皮に高濃度で蓄積 (ca. 1 mg/g f.w.) し、内皮、心髄にはほとんど含まれていないことを報告した。<sup>1)</sup> また、感染罹病内部組織中に本化合物が大量に蓄積していたことから内部組織における 1 の誘導生成能を検討した結果、罹病組織から分離したバクテリアで調製したエリシターの処理により健全内部組織において 1 が誘導生成されることを見い出した。<sup>2)</sup> 今回、バキラの細菌感染罹病内部組織中から 11-nor-3-O-methylisohemigossypolone (2) を単離した。本化合物もまた健全内部組織中には検出されず、健全内部組織をエリシター処理することにより誘導的に生成された。現在本化合物と 1 生成経路との関連性について検討中である。



- 1) 芝谷ら 平成8年度農芸化学会北海道支部会公演要旨集 p. 23 A-8  
2) 芝谷ら 平成10年度日本農芸化学会本大会公演要旨集 p. 67

### Novel Phloroglucinol Glucosides from the leaves of *Desmodium triquetrum* DC.

O AUNG NAING KYAW<sup>1</sup>, YUKIHARU FUKISHI<sup>1,2</sup>, WEI GUANG MA<sup>2</sup> and SATOSHI TAHARA<sup>1,2</sup>

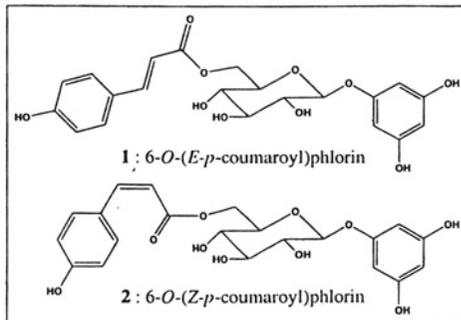
<sup>1</sup>Department of Applied Bioscience, Faculty of Agriculture, Hokkaido University and <sup>2</sup>CREST, Japan Science and Technology Corporation

**Objective** - *Desmodium triquetrum* DC. is one of the Myanmar indigenous medicinal plants, locally called *Lout They*. The leaves of *Desmodium triquetrum* are used as traditional medicine in Myanmar.<sup>1)</sup> Its methanolic crude extract showed weak antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.<sup>2)</sup> The present report deals with isolation and structure elucidation of two new phloroglucinol glucosides from the methanolic extract of *Desmodium triquetrum* leaves.

**Methods and results** - 6-*O*-(*E*-*p*-coumaroyl)phlorin (1) and 6-*O*-(*Z*-*p*-coumaroyl)phlorin (2), two new phloroglucinol glucosides and a known kaempferol-3-*O*-glucoside have been isolated and identified from the leaves of *Desmodium triquetrum*. Chromatographic methods such as Si gel, Sephadex LH-20, reverse phase RP-18, PTLC and HPLC were used to isolate the compounds. The structures of 1 and 2 were elucidated using UV, MS, and 1D and 2D-NMR techniques.

### References

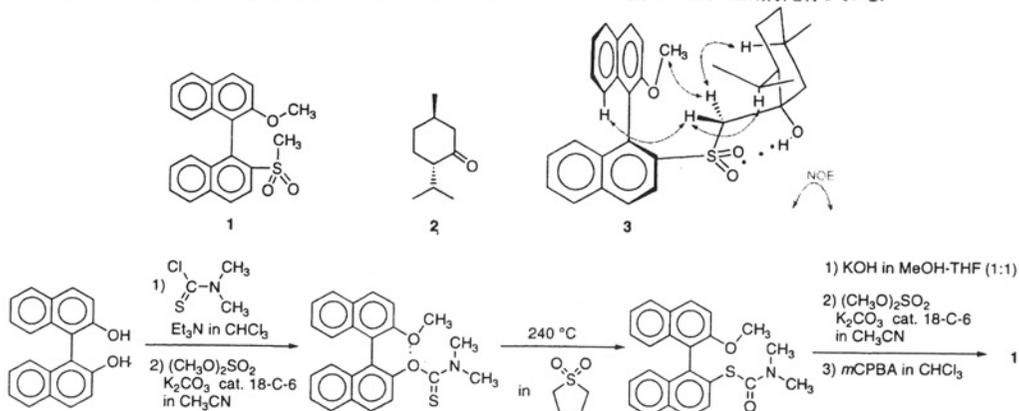
- 1). BURMESE MEDICINAL PLANTS (Myanmar), pp. 419-422.  
2). Maung Maung Htay, Mya Aye, Saw Hla Myint and Tin Myint Htwe, *J. Myanmar Chemical Society*, 3(2), 101-110, (1996).



福士 幸治<sup>1)</sup>, ○高橋 晃樹<sup>2)</sup>, 福井 博喜<sup>3)</sup>, 田原 哲士<sup>4)</sup>(<sup>1)</sup>北大農, <sup>2)</sup>科技団 CREST)

目的: 2'-Methoxy-2-methylsulfonyl-1,1'-binaphthalene (1)の合成法の確立及び1とキラルカルボニル化合物から得られた誘導体の溶液中での立体化学の解析

方法および結果: 2'-Methoxy-2-methylsulfonyl-1,1'-binaphthalene (1)を1,1'-bi-2-naphtholから6工程で合成した。ラセミの1をn-BuLiでリチウム塩とし、これを(-)-menthone (2)と反応させ、β-hydroxy sulfone のジアステレオマー混合物を得た。これをシリカゲル PTLC (展開溶媒; hexane-ethyl acetate 10:1)に供し、誘導体主成分2種(3,4)を単離した。3の<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)測定の結果、menthone 由来のプロトンシグナルが高磁場に現れ、また3に示したNOE相関が観測された。現在4及び他のキラルカルボニル化合物との誘導体についてNMR解析を行っている。

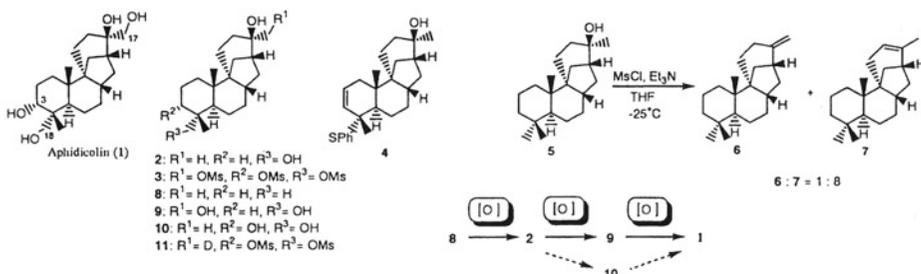


及川英秋、○大橋 聡、市原秋民、吉原照彦 (北大農・生機化)

(目的) 甜菜蛇眼病菌 *Phoma betae* の生産する aphidicolin (1) は抗腫瘍、抗ウイルス活性のほか、DNA ポリメラーゼ α の特異的な阻害など、特徴的な生物活性を有するジテルペンである。

我々は、複雑な骨格を持つ 1 の生合成経路に関与するすべての酵素を特定し、他の微生物で発現させ酵素的に 1 を全合成することを目的として実験を行った。

(方法および結果) aphidicolin (1) を主要代謝産物として生産する株を選抜し、チトクローム P-450 阻害剤 (Metryprone, 1.2mM) 存在下菌の培養を行い、天然よりはじめて 3,17-dideoxyaphidicolin (2) を単離した。また、各酵素の基質となる中間体を 1 より短工程で誘導した。1 の脱酸素化は 3 位、18 位の立体障害のため困難を伴ったが、条件を種々検討し、3 位および 17 位は相当する mesylate (3) の  $\text{Li/liq. NH}_3$  による還元的脱離を行い、2 および 10 へと導いた。また、18 位はいったん thioether (4) へと導いた後に Raney Ni 処理を行い 8 の合成を行った。また、5 より脱水を行い aphidicolin-16-ene (6) を aphidicolin-15-ene (7) との混合物として得た。重水素標識は  $\text{LiBEt}_3\text{D}$  を用いた還元により導入し、mesylate (3) を 11 へと変換した後に同様の経路で 2 および 8 のラベル体を合成した。現在、このラベル体を菌へ投与し取り込み効率の確認を行っている。



5=8 10

# 合同懇親会

平成10年11月6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）

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  
麒麟麦酒株式会社千歳工場  
小柳商事株式会社  
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  
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

佐藤哲也教授.

glyceollin I: --- 2423 研究  
                  --- 植物学 9 月号 45.

決定要目 12.

両方 11 月号.