

日本農芸化学会北海道支部 北海道農芸化学協会

シンポジウム及び学術講演会

講 演 要 旨

シンポジウム「アミラーゼの作用とその応用」：

昭和52年12月9日(金) 13:30~17:30

1. アミラーゼの転移作用とその応用

大阪市工研 岡田茂孝氏

2. イソアミラーゼの作用とその応用

東京農工大農 小林恒夫氏

3. 酵素によるでん粉、グリコーゲンの構造解析

大阪市大理 山本武彦氏

4. アミラーゼによる澱粉粒の消化について

東大農 中村道徳氏

一般講演：

昭和52年12月10日(土) 9:00~12:00, 13:45~14:30

日本農芸化学会北海道支部総会：

昭和52年12月10日(土) 13:00~13:30

特別講演：

昭和52年12月10日(土) 15:00~17:00

「ガソリンの成る木」 北大農 西村弘行氏

生物の多様性と生化学 北大低温科研 茅野春雄氏

懇親会：

昭和52年12月10日(土) 18:30~

共済サロン

(札幌市中央区北4条西1丁目共済ビル内 Tel 231-2111)

会費 2,000円 (学生 1,000円)

12月9日(金)

シンポジウム「アミラーゼの作用とその応用」 13:30~17:30

北大農学部農芸化学科 第2講義室

30
13:00 開会

13:40 1. アミラーゼの転移作用とその応用

(大阪市工研) 岡田茂孝

Amylase は自然界に広く分布し、でん粉を加水分解する酵素として古くから知られている。そのうち α -amylase はでん粉の α -1,4 グルコシド結合をランダムに切断する酵素として分類されている。演者らは微生物の生産する各種の α -amylase の作用、とくにマルトオリゴ糖への作用を研究した結果、 α -amylase は或る程度規則性をもってオリゴ糖の特定のグルコシド結合を切断することを知った。その後この研究は α -amylase リミットデキストリンの構造研究へと発展した。

さて放射性オリゴ糖を基質として α -amylase を作用させ、経時に生産物を追跡すると、反応生産物中にはもとのオリゴ糖より重合度の高い糖がしばしば現れる。たとえば還元性末端を放射性炭素で標識した maltopentaose (G 5) を基質として細菌糖化型 α -amylase (BSA) を作用させると、G 5* → G 7* + G 3 のように G 7 (maltoheptaose) が生成する。またでん粉と放射性マルトースを混合した系に作用させると、でん粉が分解を受けその一部がマルトースに転移し、放射性デキストリンを形成する。かような反応は BSA だけでなく、その他起源の異なる各種の α -amylase に一般に見られる現象である。

α -Amylase の転移作用は切断を受ける結合も、転移して生成する結合とともに α -1,4 グルコシド結合であるので、反応の後期には再度分解を受け問題はないようと思われる。しかしマルトースの代りに種々の配糖体を受容体としたとき、その配糖体に更に糖が付加し性質の変化することも考えられる。かのような点から転移能力のより高い酵素を得たいと考え、土じょう細菌を中心に検索を行なった。その結果でん粉と蔗糖の混液に作用させるといちぢるしい転移作用を示す酵素を生産する菌株を数株分離することが出来た。しかしこの酵素はでん粉単独に作用させるとサイクロデキストリン (CD) を形成し、所謂 cyclodextrin glycosyl transferase (CGT-ase) の一種であった。従来 CGT-ase として *B. macerans* の酵素がよく知られているが、本酵素とは作用特異性にやゝ相違が見られることから精製を行なった。精製酵素をでん粉に作用させると主として cycloheptaamylose を生成し、*B. macerans* の酵素 (主として cyclohexaamylose を生成する) と異なっていた。

本酵素の応用としては Hesperidin dihydro-chalcone glucoside (HDCG) の可溶化を行なってみた。HDCG は温州みかん果皮から得られる Hesperidin を原料とし、蔗糖の約 100 倍の甘味を示すので、人工甘味剤として興味がもたれているが、溶解度が低い欠点がある。構造を見るとグルコシドであるので、更に糖を付加して約 10 倍溶解度を改良することに成功した。

つぎに蔗糖とでん粉を混合し、CGT-ase を作用させると、蔗糖のグルコースに更にグルコースが数個結合した水飴状物質が得られた。この水飴は甘くねばりがあるほか、還元性が少なく、蛋白質と加熱しても変色しないなどの特徴があり、更に良い性質が発見出来れば食品素材として興味がもたれる。本水飴を原料として物性の異なるデキストランは出来ないものかと考え、dextranucrase を作用させたところ、デキストランの形成量は非常に少なかった。この事実から蔗糖の代りに食用とした場合、口腔細菌によるデキストラン形成が少なく、虫歯になりにくいのではないかと考えた。すでに歯科系研究機関で数年間の研究が進行中で、近い将来我国の虫歯予防に役立つのではないかと期待している。

14:30 2. イソアミラーゼの作用とその応用

(東京農工大農) 小林恒夫

イソアミラーゼはアミロペクチン、グリコーゲンなど澱粉系多糖類の枝分れ結合となっている α -1,6-グルコシド結合を特異的に分解する酵素として 1949 年演者らにより命名された。この酵素はモチゴメ澱粉などヨウ素反応赤色の澱粉に作用してヨウ素反応を青色に変えるので、古くは澱粉合成酵素と考えられ、アミロシンテーゼと呼ばれていたものであるが、演者らにより、酵素によって生じたものは分子量がかえって小さくなっている、アミロース類似の直鎖構造のものであることが証明され、その作用は上のように分枝結合の分解であることが結論された。本酵素ははじめ酵母や高等植物に見出されたが、一方 1961 年以降微生物の多糖プルランを分解する酵素プルラーゼが各種細菌に見出され、この酵素も澱粉に対してイソアミラーゼとは同じ作用をすることがわかったので、両酵素をあわせて澱粉の “枝切り酵素” (debranching enzyme) とも呼ばれる。その後さらにプルラン分解力のないイソアミラーゼも数種の微生物に見出された。また糸状菌にはプルランに対して上述プルラーゼとは異なる分解型式で作用するイソプルラーゼが発見された。

これらの酵素はその特異的な分解作用のために澱粉、グリコーゲンなどの構造研究や澱粉加水分解工業に有用であるが、初期に見出された酵母、高等植物のものは力値が低く、安定性も悪いため精製分離が困難であり、広く利用されるには致らなかった。しかしその後細菌に見出されたブルラナーゼ、イソアミラーゼは大量培養が可能で、また安定性もよいので、近年その学術上、工業面での応用が急速に発展した。

学术的には澱粉、グリコーゲン、またはそれらの分解産物中の分枝点を分解することにより、平均鎖長の測定、鎖長分布の解析などに用いられ、また β -アミラーゼなど他の酵素と共にすることにより、これら多糖類の構造研究に大きな寄与をしている。

また工業的には澱粉の枝切りによるアミロースの製造、および β -アミラーゼとの共用による高純度マルトースの製造が実用化された。本酵素の作用により製造したアミロースは純度が高く、透明で強じんな可食性フィルムを作るのに適している。高純度マルトースは従来輸液用に用いられたブドウ糖に比して多くの利点をもち、注射用としての利用の増大が見込まれる。またマルトースを還元して得られるマルチトールはショ糖に匹敵する甘味をもち、動物体内ではほとんど利用されないので、糖尿病患者用および低カロリー食の甘味剤として用いられる。

15:20 3. 酵素による澱粉、グリコーゲンの構造解析 (大阪市大理) 山本武彦

多糖の一次構造の研究には蛋白質や核酸とは異質の困難さがある。澱粉、グリコーゲンは α -1,4-結合連鎖のところどころが α -1,6-結合で分岐している巨大分子で、それからいわゆるフラグメントを分離してもそれが構造的に homogeneous かそれとも heterogeneous かの同定が容易でなく、さらにそのフラグメントの全体中に於ける位置決定は今のところ不可能に近い。しかし最近澱粉、グリコーゲンあるいはそれらの部分分解物に作用する種々の酵素が見出され、K.H. Meyer の提唱した樹状構造中、最末端鎖(A鎖)の長さやその数、また枝分れの頻度や枝分れ最密部分の構造などについては或る程度わかって来た。

アミロペクチン(糯米)、グリコーゲン(Shellfish)を β -amylase で徹底的に消化すると前者の 70%、後者の 50% がマルトースとなり、残りはそれぞれ β -限界デキストリンとなる。 β -限界デキストリンの外側の構造は図 1 で、その α -1,6-結合(↓)を切って生ずるマルトース及びマルトオリース(a)の、全 α -1,6-結合を分解して生ずる種々のマルトオリゴ糖(T)に対するモル比を求めれば最外側の枝(A鎖)の本数(相対値、グリコーゲンでは α -1,6-結合を切って生ずる α -1,4 鎮の約40%がA鎖)を知ることが出来る。また T-a

で B 鎮(α -1,4 鎮のどこかで分岐を有する α -1,4 鎮)の本数がきまる。

一方、枝分れ部分の構造(枝分れのし方、それらの間隔など)については α -amylase (α -1,6-結合を切らない)によって生ずる種々のデキストリンの構造の研究に拘らねばならないが、 α -amylase の種類によって α -1,6-結合周辺の切り得る α -1,4-結合の位置、その規則性はかなり異なる。枯草菌糖化型 α -amylase (BSA) の生ずる限界分岐デキストリンは、その最小のものが $6^3\alpha$ -glucosyl maltotriose、(IMM)でそれより大なる限界デキストリンはその縮合した形、すなわち非還元末端側は必ずイソマルトース(IM)基、還元末端は IMM である(表 1)。分岐型式には Haworth 型及び Staudinger とがある。

表 1 の各デキストリンの収量をそれらのグルコース重合度で割った値はそれぞれのデキストリンの β -限界デキストリン中に於ける存在比率と考えることが出来る。類似或は関連のある構造の分岐デキストリンの間で存在比率を比べると、表 2 のようになり、分岐の発生(アミロペクチン、グリコーゲンの生合成に関与する転移酵素の作用特異性による)には規則性があると考えられる。

Shellfish Glutinous
glycogen rice starch

	16.8 %	23.0 %
○-o-g		
○-o-o-g	2.7	1.8
○-o-o-o-g	5.2	5.7
○-o-o-o-o-g	2.5	4.0
○-o-o-o-o-o-g	0.59	0.33
○-o-o-o-o-o-o-g	0.97	0.31
○-o-o-o-o-o-o-o-g	0.75	0.30
○-o-o-o-o-o-o-o-o-g	1.60	0.67
○-o-o-o-o-o-o-o-o-o-g	0.61	0.51
○-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-g	0.75	0.63
○-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-g	0.74	0.81
○-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-g	0.21	0.31

表 1. Structure of BSA-Limit Dextrans and their Yields, %, from β -Limit Dextrin

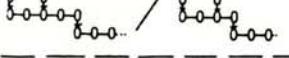
Shellfish Glutinous glycogen rice starch	0.8	1.9
	0.9	1.4
	0.9	2.4
	0.7	1.8
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>		
	1.0	1.8
	1.0	2.0

表2.

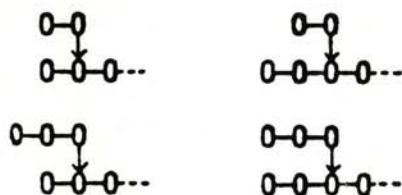


図1. Structure Around the Outermost Branch-Points of β -Limit Dextrin.

10
16:00 4. アミラーゼによる澱粉粒の消化について
(東大農) 中村道德

アミラーゼによる澱粉粒、すなわち生澱粉の消化については、従来は人間が澱粉を利用する立場から、澱粉粒をそのまま分解しうる微生物アミラーゼの検索（上田ら、北原ら）、あるいは動物が生澱粉を食べたときの消化過程あるいは消化率の研究（古くは桜井ら、最近では福場ら、不破ら、前田ら）が主であって、植物の立場から、たとえば光合成によって葉緑体内に合成された同化澱粉が、夜になってどのような酵素で、どのような過程でショ糖に変化して植物の他の部分に送られるのか、あるいは澱粉質の種子や根塊茎が発芽する際、どのような酵素で分解されてめばえの生長を支えているのか、ということに関してはほとんど研究されていない。ホスホリーゼが澱粉糊を加リン酸分解しうるということと、葉緑体内にホスホリーゼ活性を検出しうるという事実を直接に結びつけて、同化澱粉が夜の間に消失す

るのはホスホリーゼによる分解のためであるといわれていたり、大麦種子の発芽の際に α -アミラーゼが糊粉層でde novoに合成されるという観察から、大麦種子胚乳の貯蔵澱粉は α -アミラーゼによって分解されるとされているが、実際に葉緑体のホスホリーゼが同化澱粉を、大麦種子の α -アミラーゼが胚乳の澱粉粒を、本当に分解しうるのかどうか、また共存する他のカルボヒドラーーゼがどのような役割を果しているのかを確かめた研究は、著者の知る限りほとんどない。

本研究では上記の点を確かめるため、主として大麦種子の発芽の際の澱粉粒の分解過程を調べた。大麦種子を発芽させ、経時的に澱粉粒の物理的、化学的性質と形態（走査型電顕で観察）、澱粉の分解に関与しうる酵素活性の変化を調べた。また麦芽抽出液、あるいはこの抽出液から分離精製した α -および β -アミラーゼ、枝切り酵素（R-酵素）をそれぞれ単独で、または組み合わせて澱粉粒に作用させて、澱粉粒の分解過程、分解限度を調べた。

精製酵素の中で澱粉粒を直接分解できるのは α -アミラーゼだけであり、 β -アミラーゼ、R-酵素は澱粉粒には直接作用できないが、 α -アミラーゼによる澱粉粒の分解速度を促進する効果がある。

走査型電顕での観察によると、発芽中あるいは α -アミラーゼを作らせた澱粉粒では、まず表面に穴があき、時間の経過とともに穴の数と深さを増し、澱粉粒の内部が優先的に消化され、次いで粒がくずれてさらに分解していく。発芽の際には胚あるいは糊粉層と接した胚乳部分で、澱粉粒間を埋めているセメント状物質（おそらく蛋白質）が先ず消化されて澱粉粒が裸出し、次いで小粒子は消失し、大粒子は穴があいて分解していく。澱粉の分解は糊粉層に近い細胞から次第に胚乳の内部に及んでいく。

米種子の発芽の際の澱粉粒の分解過程は大麦種子の発芽の際の変化とはほど似ているが、米の場合は澱粉粒の表面に穴を開けていく分解と、表面から削りしていく分解と、2通りの分解様式がみられる。いくつかの種子、根塊茎の発芽の際、あるいは試験管内で各種の澱粉粒に各種のアミラーゼを作らせると、澱粉粒の起源および構造とアミラーゼの種類の組み合わせにより、各種の分解様式を示すことがわかった。

バレイショ塊茎はホスホリーゼが強力であり、 α -および β -アミラーゼ活性は発芽時にもほとんど検出されない。発芽時に澱粉粒は少数のひっかき傷みたいな分解は受けるが、表面から層状構造にそってむくように分解されるものが多い。ホスホリーゼは澱粉粒にはほとんど作用できない。バレイショ塊茎の発芽時の澱粉粒の分解機構は全く不明であり、今後の興味ある問題である。

12月10日（土）

一般講演

9:00~12:00
13:45~14:30

講演時間 13分 討論 2分
○印は講演者

北大農学部農芸化学科 第2講義室

9:00 1. 甜菜主根ディスクのサッカラーゼ生合成について

(帯畜大農化) ○増田宏志, 菅原四郎

目的：高等植物の貯蔵組織切片をエイジングすると代謝変化が起り、酵素合成が誘導される。我々は從来より、甜菜主根スライスのエイジング中に誘導されるサッカラーゼについて検討してきたが、この酵素合成がどのような刺激により開始されるのかは明らかではない。今回は種々のエイジングの方法により、サッカラーゼ生合成の誘導速度が異なること、またある条件下では酵素の不活性化が起ることを見いだしたので報告する。

方法：甜菜主根ディスクのエイジングとして、①容器に湿潤の脱脂綿をひき、その上にディスクを置き直接空気に接触させる。②水の入った三角フラスコ中にディスクを入れ振盪する。この二方法で29°Cでインキュベートした。

結果：直接空気と接触したディスクのサッカラーゼの誘導は急速に起り、ほぼ24時間で最大となり、それ以降は一定となる。ディスクを水中で振盪した場合は前者よりも誘導速度は遅いが、24時間以降も増加し42~48時間で最大となり、前者よりも活性が高くなる。また、窒素ガス中または水中で静置という嫌気的条件では活性は著しく低い。このようにエイジング中のサッカラーゼ誘導は、空気との接觸に影響されるものと思われる。また細胞質および結合型サッカラーゼ活性のエイジング中の経時的变化をみると、細胞質サッカラーゼ活性は低いが、エイジングの条件に関係なく時間を経るに従い増加する傾向にある。一方、結合型サッカラーゼは、空気と接觸した場合は16~24時間で最大となり、それ以降は急速に低下する。すなわち、酵素の不活性化が起る。一方、水中で振盪した場合は不活性化は起らず、42~48時間で最大になる。このようにエイジングの条件で結合型サッカラーゼの不活性化が起る場合と起らない場合があることが観察された。

9:15 2. α -ガラクトシダーゼに関する研究

Penicillium roqueforti の生産する α -ガラクトシダーゼについて

(帯畜大農化) ○佐藤哲也, 菅原四郎

目的：各種起源の α -ガラクトシダーゼを比較検討し、それらの種々の性質の差異を明らかにすることを目的とする。今回は *Penicillium roqueforti* の生産する菌体外および菌体内 α -ガラクトシダーゼを精製し、それらの2,3の性質について検討した。

方法および結果：*Pen. roqueforti* (北大応農AHU 8056) を Czapek Dox 培地を用い、27°Cで静置培養を行った後、得られた濁液を菌体外酵素とした。得られた菌体をクエン酸緩衝液 (pH 6.0) 中でポリトロンで磨細し、遠心分離 (15,000 × g, 15分) して得られた上澄液を菌体内酵素とした。

培養時の炭素源としてラクトースを用いた場合酵素の生産量が最も多く、培養7日目で最高となった。ラフィノースはこれに次いで多かった。それぞれを Ultrogel AcA 34 のカラムによるゲル濾過、および granulated gel electrofocusing を用いて精製を行った。これらの等電点はいずれも pH 4.4付近にあった。これは甜菜の α -ガラクトシダーゼとほぼ同じであり、*Aerobacter* (pH 3.5以下) のものより高かった。Ultrogel AcA 44 のカラムによる推定分子量は、菌体外および菌体内酵素共約 70,000 であった。

9:30 3. アスパラガス根のフラクトシルトランスフェラーゼ(予報)

(北大農化) ○塩見徳夫, 山田次良, 伊沢正夫

目的：前報でアスパラガス根に Neokestose 型糖 [$^{1\text{F}}(1-\beta\text{-fructosyl})_n-6^{\text{G}}-\beta\text{-fructosylsucrose}$] の存在することを報告した。

高等植物では、Neokestose 型糖の合成系は、まだ明らかにされていないので、アスパラガス根について酵素の検索を行ったところ、同型糖を生成する酵素を見い出したので報告する。

方法と結果：アスパラガス根から硫安塩析、リン酸カルシウムゲル処理により加水分解活性を持たない粗酵素液を得た。酵素活性は ^{14}C でラベルした基質を用い、生成分をペーパーおよび活性炭カラムクロマトグラフィーにより分離後、放射能を測定することによって求めた。 $^{14}\text{C}-1\text{-Kestose}$, $^{14}\text{C-Sucrose}$ と 1-Kestose , および $^{14}\text{C-Nystose}$ を基質とした時、それらの Fructosyl 基の1位または Glucosyl 基の6位に対し Fructosyl 基が転移されたもの、すなわち 1-Kestose 型糖および Neokestose 型糖が生成された。なお、Sucroseのみからの転移生成物は認められなかった。 1-Kestose 型糖と Neokestose 型糖の生成量は、種々の pH 条件などで差が認められ、その差の傾向は各基質間で類似した。以上のことから、アスパラガス根に、 $\beta(2 \rightarrow 1')$ Fructan : $\beta(2 \rightarrow 1')$ fructan 1-fructosyl transferase 型酵素の他に Neokestose 型糖を生成する Fructosyltransferase の存在することが判った。

現在、両酵素を分離・精製中である。

9:45 4. 水稻乳熟種子中の debranching 酵素の安定性と活性阻害性

(北大農化) ○小嶋悦郎, 山田次良, 伊沢正夫
目的: 水稻乳熟種子中の debranching 酵素の持つ Pullulan 分解活性と β -limit dextrin 分解活性が同一の酵素によることを確認する目的で、この酵素の酸及び熱に対する安定性、並びに阻害剤の影響について調べた。

方法: うるち米乳熟種子（品種「ゆうから」）からリン酸ナトリウム緩衝液を用い抽出し、硫安分画、DEAE-cellulose 及び Sephadex G-100 カラムクロマトグラフィーにより debranching 酵素を精製した。両基質に対する分解活性は、還元力の増加で測定した。

結果: 精製酵素は約45倍に精製され、Disc電気泳動的に1バンドを示し、両基質に対する活性は共に蛋白位置と一致した。両基質に対する最適 pH は共に 5.6 で、pH 4.0 から 8.0 までの範囲で比較的安定であった。pH 3.5 による失活の時間変化は両基質に対して一致した。最適温度は pH 5.6, 10分の反応において 45°C で、両基質で一致した。熱安定性は 40°C で若干失活し始め、45°C でかなり失活したが、失活率は両基質に対して一致した。本酵素の金属イオンによる影響は Pullulan 分解活性に比し β -limit dextrin 分解活性がより強く阻害を受けた。Hg⁺⁺ は 10^{-4} M で両活性を強く阻害したが、Zn⁺⁺ は 10^{-2} M で後者を 90% 以上阻害したのに対し、前者は 20% の阻害にとどまった。同様の結果が Cd⁺⁺, Mn⁺⁺ などでも認められた。

10:00 5. チーズ熟成中の蛋白質分解過程に関する研究
III. アフィニティーコロマトグラフィーおよび免疫反応による酵素の分離、検出

(帯畜大酪農) 祐川金次郎, ○加藤 稔

チーズ中の蛋白質分解酵素を硫安塩析、Sephadex G-75 ゲルろ過、4-aminobenzamidine 結合 succinylaminododecylcellulose (SADC) によるアフィニティーコロマトグラフィー、DEAE-セルロースクロマトグラフィーおよび免疫反応 (Ouchterlony 免疫二重拡散法、Mancini 法による定量) によって分離、検出し、その性質を検討した。

3ヶ月熟成ゴーダチーズから抽出した粗酵素の SADC アフィニティーコロマトグラフィーでは、pH 5.5, 0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液および pH 2.0, 0.1 M グリシン塩酸緩衝液によって 2つの溶出ピークが得られた。市販ウシトリプシンも同様なパターンを示し、ピーク 2 にトリプシン活性が認められ、両者のカゼイン分解に対する至適 pH、至適温度は同様であったが、比活性は市販トリプシンの約 $1/12$ であった。またディスク電気泳動図にも差違が認められた。なおチーズ粗酵素からのピーク 2 は 0.23 mg/g

チーズであった。

またピーク 1 はチーズ 1 g 当り 4.5 mg 得られ、pH 5.5 でカゼイン分解活性を示したので、この部分を DEAE-セルロース、pH 5.3, 0.015 M クエン酸-リノ酸緩衝液および NaCl によるイオン強度上昇法によって 4 つのピークに分画した。各ピークは 25, 12, 12, 39% の比率で、レンニンおよびペプシンのウサギ抗血清との免疫二重拡散法では、ピーク 1 および 2 にレンニンが認められ、ペプシンは各ピークにも存在しなかった。また各ピークについての酵素活性を測定した。

10:15 6. 小豆澱粉中の糖脂質について

(帯広大谷短大) 間野康男

目的: 小豆の脂質については、異ら(1975)の 2,3 の報告があるが、その澱粉中の結合脂質については、よく知られていない。今回演者は、小豆澱粉中の結合脂質の過半を占める糖脂質について分析した結果、若干の知見を得たので報告する。

方法: 小豆を粉碎したのち、200 メッシュの皿分から松作ら(1958)および Suzuki ら(1975)の界面活性剤法により、澱粉を調製した。次いで、ブタノール-水(65:35)で抽出して全脂質を得た。これをケイ酸カラムクロマトグラフィーと薄層クロマトグラフィーに供して、個々の糖脂質を単離した。次にこれらを酸水解して、それぞれの生成物である糖、脂肪酸およびステロールをガスクロマトグラフィーで分析した。

結果: 小豆澱粉の収率は 40% で、その窒素含量は 0.006 % であった。全脂質の収量は 0.034 % で、糖脂質はその 53% を占めていた。主成分はジグリコシルジグリセリドとセラミドモノヘキソシドで、構成糖はいずれもガラクトースとグルコースが主であった。脂肪酸はパルミチン酸とリノレン酸が多く、ステロールは β -シットステロールがもっとも多かった。

7. 米澱粉の内在脂質に関する研究

(帯畜大農化) ○佐藤真一、宮沢陽夫、藤野安彦

目的: われわれは米に含まれる脂質を、糠部、胚乳部および澱粉部とに分け、系統的に分析している。今回は北海道産ウルチ米から米澱粉を調製して、その内在脂質の特性を明らかにしようとした。

方法: ウルチ米(新栄)を超音波-ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム処理して米澱粉を調製した。これを水飽和ブタノールで抽出し、得られた全脂質をケイ酸カラムクロマトグラフィーに供して中性脂質、糖脂質、リン脂質の各画分に分別した。単離精製した主要脂質クラスの誘導体をペーパークロマトグラフィー、NMR、質量分析計などに供し、これらの特性を解析すると共に、脂肪酸組成を GLC で明らかにした。

結果: 米澱粉の全脂質の収率は 0.69% で、中性脂質、糖脂質、リン脂質の割合は 37:20:43 であった。全

脂質の主な構成脂肪酸は、パルミチン酸とリノール酸であった。米穀粉の特徴的な脂質クラスは、中性脂質では遊離脂肪酸とモノグリセリド、糖脂質ではモノグリコシルモノグリセリド、ジグリコシルモノグリセリド、またリン脂質ではリゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミンなどで、いずれもモノアシル型の脂質であった。

10:45 8. 北海道産米と高知産米の糠部トリグリセリドの分子種的構成

(帯畜大農化) ○林 広、伊藤精亮、藤野安彦
目的：米糠油の理化学的性状はよく調べられているが、トリグリセリドの分子種的構成については、まだあまり明らかにされていない。今回は、北海道米と高知米のトリグリセリドについて、その分子内脂肪酸分布および分子種的性状について調べようとした。

方法：玄米から調製した糠部をクロロホルム-メタノール(2:1)で抽出し、得られた全脂質をケイ酸カラムクロマトグラフィーに供して、トリグリセリドを分離精製した。トリグリセリドの分子内脂肪酸分布は、パンクレアチン処理とそれから誘導された合成リン脂質の基質特異的な酵素分解により明らかにした。また分子種は、硝酸銀-TLCで分別された各画分の脂肪酸組成から解析した。

結果：トリグリセリドの主な構成脂肪酸はオレイン酸、リノール酸およびパルミチン酸であった。また、分子内では主として1位にパルミチン酸、2位にリノール酸、3位にオレイン酸が分布する特徴的なパターンであった。分子種的には、北海道米と高知米で若干の差が認められた。

11:00 9. 米糠のモノグリコシルジグリセリドの構造

(帯畜大農化) ○森田正司、宮沢陽夫、藤野安彦
目的：グルコースを含むグリコシルジグリセリドについての報告は、高等植物では少ない。今回われわれは、米糠からグルコースとガラクトースを構成分とするモノグリコシルジグリセリドを分離して、これらの構造を明らかにしようとした。

方法：米糠からFolch法により全脂質を調製した。これをケイ酸カラムクロマトグラフィーに供して、糖脂質画分(全脂質の3%)を分別し、更にケイ酸カラムクロマトグラフィーと分取TLCを繰り返してモノグリコシルジグリセリドを単離した。これを赤外線吸収分析、ホウ酸含浸TLC、クロム酸酸化、加水分解生成物のGLCなどにより構造を調べた。結果：米糠のモノグリコシルジグリセリドは、ホウ酸含浸TLCでガラクトシルジグリセリドとグルコシルジグリセリドの2成分に分離された。両者の比はほぼ6:5であった。前者の主な構成脂肪酸はリノール酸とリノレン酸で、後者のそれはパルミチン酸とオレイン酸であった。両者のグリコシド結合は、 β 型と考えられた。

11:15 10. *Lactobacillus casei* 中のグリセロ糖脂質 (帯畜大畜産環境) ○中野益男

(エルランゲン大生理化研) W. Fischer

目的：グラム陽性菌には比較的多量の糖脂質が存在している。今回は、*Lactobacillus casei* DSM 20021からグリセロ糖脂質を分離し、その構造を明らかにするとともに、代謝経路についても比較考察しようとした。

方法：Bligh-Dyer法によって抽出された全脂質をDEAE-セルロースカラムと薄層クロマトグラフィーに供して、グリセロ糖脂質を分離精製した。各脂質の構成脂肪酸と糖はガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリーで、糖の結合様式は脱アシル化物のクロム酸酸化、酵素分解および完全メチル化により分析した。

結果：極性脂質の58%が糖脂質であった。グリセロ糖脂質として、モノ-, ジ-, アシルジ-, トリ-, アシルトリ-, テトラ-グリコシルジグリセリド(MGDG, DGDG, AcDGDG, TGDG, AcTGDG, TetraGDG)の6つが単離された。構成脂肪酸と糖の結合様式の分析から、本菌のグリセロ糖脂質は、MGDGの α -glc-(1→3)-ジグリセリドにガラクトースが α (1→2)結合してDGDG、更にグルコースが β (1→6)結合して糖鎖を延長することにより、TGDGとTetraGDGを生成したものと推定した。AcDGDGとAcTGDGのもう一つの脂肪酸は、内側のグルコースの6番目の位置に結合していた。

11:30 11. マツバボタン (*Portulaca grandiflora* Hook.) 花弁のジテルペン化合物

(北大農化) ○草嶋久生、知地英征、伊沢正夫

目的：当研究室では、中心子目植物の化学成分に関する系統的研究を行ってきている。その一環として、色素以外の化学成分に関して報告の少ないマツバボタン花弁について化学成分の検索を行った。その結果、3種のジテルペン化合物を単離し、構造を明らかにした。

方法および結果：赤色花弁(20.8 kg)をMeOHで抽出し、常法に従って中性酢酸エチル画分、および酸性エーテル画分に分別した。中性画分をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、2種の化合物I(無色針状結晶, mp 115°C, C₂₀H₃₂O₄)およびII(無色粉状物質, mp 39-41°C, C₂₀H₃₄O₄)を単離した。酸性画分をシリカゲル、およびSephadex LH-20カラムクロマトにより精製し、化合物III(無色針状結晶, mp 166-167°C, C₂₀H₃₂O₅)を単離した。I, II, およびIIIの構造を元素分析、UV, IR, MS, PMR, CMR、および3化合物の化学的関連性により決定した。その結果、Iは以前にマツバボタンの“葉”から単離、構造決定された植物生長調整物質portulalであり、IIは既に合成されてはいるが、天然からは得られていないportulolと同定さ

れた。またⅢはI, IIと類似構造を有する新ジテルペングルコシドと推定された。

11:45 12. Coronatineの立体構造と生理活性

(北大農化) ○白石久二雄, 市原耿民, 佐藤博二
木間啓一, 坂村貞雄

目的: Italian ryegrassのかさ枯病のphytotoxinであるcoronatineの絶対構造についてはすでに報告した。今回はcoronatineを構成するアミノ酸部であるcoronamic acid, (+)-(1R, 2R)-1-amino-2-ethylcyclopropane-1-carboxylic acidの化学構造と生理活性の相関を知る事を目的とした。

方法と結果: coronamic acidに考えられる4個の立体異性体を立体選択的合成及び光学分割により得ることが出来た。coronamic acidに考えられる4個の立体異性体を立体選択的合成及び光学分割により得ることが出来た。coronatineのもう一方の構成成分であるcoronafacic acidと、これらを部分合成し活性を調べた。活性発現には α 位の立体配置が重要と考えられた。さらに、1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, L-Ile, D-Ile, Gly等のアミノ酸を同様に部分合成したところ、いずれも活性を示した。アミノ基を有するがCOOH基を持たないメチルアミンの場合は活性がなく、又 coronatineをエスチル化すると活性が低下することからCOOH基の存在は活性発現に必須と考えられた。N-acylcoronamic acidには活性はなく、一方のcoronafacic acid部の活性発現への寄与も推定された。

13:45 13. 2-Alkenoic acidの微生物代謝(第7報)

Mucor属のカビによるtrans-2-Alkenoic acidsからL-3-Hydroxyalkanoic acidsの調製

(北大農化) ○田原哲士, 水谷純也

目的: ソルビン酸(I)をほぼ定量的にtrans-4-hexenolへ還元するMucor sp. A-73は、リン酸緩衝液中でtrans-2-octenoic acid(II)を、trans-2-octenol, 1-octanolを経てmonoctyl phosphateへ変換するが、この反応の初期には、基質をL-3-hydroxyoctanoic acidとして一時的にプールする。この現象を利用して、従来ほとんど行われていない、右旋性 β -オキシ酸の微生物学的調製を試みた。

方法および結果: Mucor属のカビ8種で、IIからのオキシ酸生成を検討し、6種でその生成を認めた。M. griseo-cianus AHU 6044はMucor sp. A-73とほぼ同程度のオキシ酸を生成した。

また、Mucor sp. A-73休止菌によるオキシ酸の生成は、I又はIIに適応していない場合に速度が遅く、反応液にglucoseやリン酸塩を加えない場合にはオキシ酸収率が低かった。

オキシ酸調製の反応: C₆~C₁₂のtrans-2-alkenoic acid 8~10 mM, glucose 5%, M/15リン酸緩衝液 pH 6.0, wet cells 20 g/l, 25°C, 2~6.5時間搅拌。反応後エーテル抽出、オキシ酸部から再結又は蒸留により基質に対応した L-(+)-3-hydroxyalkanoic acidsを得た。 $[\alpha]_D$ (CHCl₃) : C₆, +24.0°; C₇, +26.6°; C₈, +20.9°; C₉, +19.0°; C₁₀, +16.3°; C₁₁, +17.1°; C₁₂, +14.6°.

14:00 14. Hill反応阻害における2-Acylaminothiazolesの化学構造と活性の関係について

(北大農化) ○星野 宏, 半沢 卓, 水谷純也
目的: 小麦、二条大麦、ライ麦等に薬害が少なく、他の畠地雑草に殺草性を持つ選択性除草剤とCMPT(5-chloro-4-methyl-2-propionylaminothiazole)その類縁化合物2-acylaminothiazole類の化学構造における変化が活性にどのような影響を与えるかを調べ、除草剤開発の基礎とする。

方法および結果: 除草剤CMPTおよび新たに調製した類縁化合物15種につき、Hill反応阻害作用を活性指標として、ホウレンソウより調製したクロロプロラストにフェリシアン化カリをHill oxidantとした反応混液と阻害剤溶液を加えて光を照射し、pI₅₀値を求めた。その結果、BMPT(5-bromo-4-methyl-2-propionylaminothiazole)が最も高い活性を示した。吸光度とpH値をプロットすることにより阻害剤のpKa値を求めた。その結果、電気的性質のほぼ同じものでも acyl基の違いによりかなり活性が異なることがわかった。Acyl基をpropionylからacetylに変えて、またはbutyrylやiso-butyrylに変えて活性は低くなる。Acyl基の違いは阻害剤の疎水性または立体因子が関係していると考えられる。

14:15 15. 煙製サケの多核芳香族炭化水素

(帯畜大畜産環境) 根岸 孝

目的: 煙製食品中に発ガン性物質であるベンゾ[a]ピレンが含まれていることはすでによく知られている。しかし、その他の多核芳香族炭化水素についてはほとんど知られていない。よって今回は煙製サケについてその実態を明らかにしようとした。

方法: 市販の煙製ベニサケをホモジナイズし、ヘキサンで抽出した。このものをメタノール性カ性ソーダでケン化した後、アセトニトリルで分配した。アセトニトリル層を濃縮してケイ酸カラムを用い、ヘキサン-ベンゼン系で溶出した。ついでヘキサン-ベンゼン(19:1)を展開溶媒とする薄層クロマトグラフィーに供し、精製及び定性を行った。同定はガスクロマトグラフ-質量分析計によった。

結果: 多核芳香族炭化水素としては全部で47のピークが認められた。主なものは、質量数およびガスク

ロマトグラムから判断して、フルオレン、フェナン
トレノン+アントラゼン、モノメチルアントラゼン、
クリセンなどであった。ベンゾ[*a*]ピレンはわずか
であった。

12月10日（土）

特別講演

15:00~17:00

北大農学部農芸化学科 第2講義室

15:00 「ガソリンの成る木」

（北大農）西村弘行

世界の石油を使い果すまでに、あと20年とも30年とも言われている。この石油枯渇問題解決のために、新たなエネルギー源の開発が急がれている。現在までに原子力、太陽熱、地熱、風力、核融合と新エネルギー開発に全力をあげている。しかし、環境問題、エネルギー効率の問題などを考える時、必ずしも成功していないのが現状である。

米国カリフォルニア大学のM.カルビン教授のもとで、太陽エネルギー利用の一環として光合成植物とりわけ熱帯、亜熱帯、温帶地方に生える植物より、経済的有用成分（主に炭化水素）の検索を行なった。扱った植物はゴムノキ (*Hevea brasiliensis*)、トウダイグサ属植物 (*Euphorbia species*)、ユーカリノキ (*Eucalyptus globulus*) で各植物中の主成分を明らかにした。

ゴムノキのラテックス中約30%以上は炭化水素で、しかもその約90%以上はポリマー（polyisoprene）である。低分子量成分としては炭化水素、ステロイド、グリセリド等が検出された。トウダイグサ属植物中のラテックスの場合、ポリマーの量が少なく、ステロイド系トリテルペン類が主成分である。一方、ユーカリノキはテルペン系芳香物質を多量に含んでおり、シネオールやアロマデンドリンなどが同定・確認される。

これらの成分分析を通じて、石油危機のせまる未 来に対し、これらの植物がエネルギー源となりうるかどうか考察してみたい。

16:00 生物の多様性と生化学

（北大低温科研）茅野春雄

1920年代に発し、分子生物学・生物物理学などを派生しながら、急速な発展をとげた生化学は、我々に生命についての基本的な多くの知識をもたらした。その最大の成果は、すべての生体内反応は、生物の種によって差なく、同一の原理によって支配されているのだということを明らかにしたことである。このことは自明の理として日頃無視されがちであるが、その重要性はいくら強調してもしきりではない。だから意識的にせよ、無意識的にせよ、ほとんどすべての生化学者は“種”的問題などは無視してきたといつても、いいすぎではない。むしろ無視することによって、今日の成果を手に入れたのである。いいかえれば、彼等が追い求めてきたものは“生物の共通性”であるといえる。

では、地球上に生存する何100万種の生物、その形・大きさ・色、さらにその生存様式に現われた“多様性”はどう理解るべきであろうか。少なくともこの多様性が幻影ではない以上、このことについて考え、理解する道を模索しなくてはならないのではないだろうか。

日本農芸化学会北海道支部総会

13:00~13:30

北大農学部農芸化学科 第2講義室

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	
福山醸造株式会社	
合同酒精株式会社	
北海道朝日麦酒株式会社	
北海道農協乳業株式会社	
北海道日産化学生株式会社	
北海道理化器械株式会社	
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	
北開水工測量社(有限会社)	
北海製罐株式会社	罐詰研究所
ホクレン開発研究部	
池田町ブドウ・ブドウ酒研究所	
関東化学販売株式会社	
日本化学飼料株式会社	
日本理化器械株式会社	
日本清酒株式会社	
日本新薬株式会社	札幌工場
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	札幌工場
札幌酒精工業株式会社	
サントリ一株式会社	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
東洋科学産業株式会社	札幌営業所
雪印乳業株式会社	
雪印食品株式会社	