

シンポジウム及び学術講演会

# 講 演 要 旨

期 日：昭和56年11月26日(木)～11月27日(金)

場 所：北海道大学百年記念会館大会議室

日本農芸化学会北海道支部  
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  
農芸化学科内 TEL 011-711-2111 内線3840

# シンポジウム

## 『生育・生産と環境温度—温度と代謝機能』

日 時：昭和56年11月26日(木) 13:00~17:50

場 所：北海道大学百年記念会館大会議室

(北大正門より構内へ徒歩2分)

13:00~13:10	開 会 の 辞 シンポジウム開催にあたって	北海道支部長 水 谷 純 也 北大低温研 匂 坂 勝之助
13:10~14:00	S 1. 水稲と低温度環境	東北大農 角 田 重三郎 (座長： 岡 島 秀 夫)
14:00~14:50	S 2. 冷温による水稲の結実障害	北海道農試 佐 竹 徹 夫 (座長： 坂 村 貞 雄)
14:50~15:40	S 3. 植物の光・温度感受性酵素	名大農 杉 山 達 夫 (座長： 田 中 明)
15:40~15:50	休 憩	
15:50~16:40	S 4. 温度による細胞膜微細構造の変化 — 電子顕微鏡によるアプローチ —	北大低温研 藤 川 清 三 (座長： 江 口 良 友)
16:40~17:30	S 5. 環境温度と生体膜構造	京大食研 鬼 頭 誠 (座長： 千 葉 誠 哉)
17:30~17:40	総 合 討 論	(座長： 匂 坂 勝之助)
17:40~17:50	閉 会 の 辞	水 谷 純 也

# 学術講演会

日時：昭和56年11月27日(金) 9:30~16:30

場所：北海道大学百年記念会館大会議室

## ●一般講演 (9:30~12:15)

(講演時間12分, 討論3分, °印演者)

- 座長： 八島重昂  
9:30~9:45 (1) 新生有珠火山灰土における微生物相……………(北大・農化) 吉田 忠  
9:45~10:00 (2) *Thiobacillus ferrooxidans* に及ぼす CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, Cu<sup>++</sup> の影響 — バクテリア・リーチングの研究 (第2報) ……………(北大・工・資源) °角田英男, 高森隆勝

- 座長： 佐々木 博  
10:00~10:15 (3) 大腸菌の生育に対する低温条件の影響……………(北大・農化) °川本伸一, 徳山真治, 八島重昂, 江口良友  
10:15~10:30 (4) 畑圃場におけるベンゾ(a)ピレンの分解……………(帯畜大・畜産環境) °小林進介, 中野益男, 根岸 孝  
10:30~10:45 (5) 放線菌の酵素生成に対するアクリジン系色素処理の影響……………(北大・農化) °八島重昂, 江口良友

- 座長： 中野益男  
10:45~11:00 (6) 植物の  $\gamma$ -Glutamyl 誘導体の代謝における  $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase の関与……………(北大・農化) °葛西隆則, 大宮あけみ, 坂村貞雄  
11:00~11:15 (7) 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸デアミナーゼのチオール基の修飾と基質関連アミノ酸の影響……………(北大・農化) 本間 守

- 座長： 佐藤博二  
11:15~11:30 (8) 米および小麦中のジグリコシルセラミドについて……………(帯畜大・農化) °大西正男, 伊藤精亮, 藤野安彦  
11:30~11:45 (9) 中心子目植物の化学成分 (5) フダンソウ種子から *trans*-feruloylsucrose の単離と構造……………(北大・農化) °長尾明宣, 知地英征

- 座長： 吉原照彦  
11:45~12:00 (10) *p*-Menthane-3,8-diol 関連化合物の合成および生理活性……………(北大・農化) °角康一郎, 西村弘行, 中原志郎, 三島吉雄, 水谷純也  
12:00~12:15 (11) スペアミント系ハッカ成分 *l*-carvone および関連化合物の発芽阻害活性……………(北大・農化) 西村弘行, °平本 茂, 藤田 孝, 水谷純也

## ●特別講演 (14:00~16:30)

### 1. Peroxidase の生理的意義

北海道大学応用電気研究所 山崎 勇夫  
(座長： 千葉 誠哉)

### 2. 最近発見したサケ科魚類の腫瘍誘発ウイルス OMV (*Oncorhynchus masou* Virus) について

北海道大学水産学部 木村 喬久  
(座長： 高尾 彰一)

# S1. 水稲と低温環境

東北大学 農学部

角田 重三郎

栽培稻 *Oryza sativa* の祖型の野生稻の分布よりみても、稲は高温多湿環境に適応して進化してきた植物である。

今回の小論では、第1に、この高温多湿環境に対する適応がどのような稲本来の特性によって保障されているかを考察し、第2に、低温環境に対する稲の反応について述べ、第3に、低温環境への適応と高めるために必要とみられる植物特性の調整とその生育に及ぼす影響について論議したい。

ただし、本小論では第1図に記したような光合成関連特性と主に考察、論議の対象としたい。そのうち構造的・生理的・生化学的あるいは顕微鏡で観察可能な範囲のものである。

## 1. 高温多湿環境に対する適応と保障している稲本来の特性

湛水下での根の“窒息”を防ぐために、葉より根への  $O_2$  の補給がなされ、これを保障する通気系を組織構造的に発達させている(有門 1953 年)。ガス交換の窓口の気孔の密度も大であり(4F 籾, トウモロコシ等の数倍)、気孔が開いているとき葉のガス交換抵抗 ( $min R_L$ ) が小である。高温多湿下では気孔が開く。 $O_2$  吸収が盛であるだけでなく、 $CO_2$  吸収、 $H_2O$  放出と進む。光合成の律速要因の1つの  $CO_2$  取り込み速度の増大と、このような戦略を進めこいる(高温少雨環境に向くとウモロコシと戦略を異にしてこいる)。また、蒸散の増大は高温多湿環境下で葉のクーリングを実質的に進める一要因となつてこいるとみられる(Kishitani & Tsunoda 1974 年)。野生あるいはポリミティブな栽培など、土壤養分補給が天然の循環のみによる場合には、葉を“広く薄く”、“水平的”に、また“疎散的”に展開し(Tsunoda 1959)、また薄く平面的でルーズな葉肉構造を持つ(Tsunoda & Khan 1968)のが稲本来の葉群構成・個葉構造である。この態勢は、(1)葉が灰リすむず、(2)葉温が下がります、また(3)葉の水が平衡が保たれる、この3条件が満足される場合には、日光およびガス交換面の増大を通じて、光合量が増大に達する。

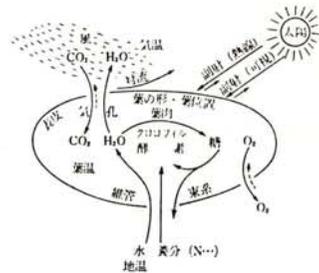
## 2. 低温環境に対する稲の反応

$CO_2$  取り込み、 $CO_2$  同化、光合成生産物の消費の3過程について、低温の影響がみられる。低温前処理により、ガス交換抵抗が高まり、 $CO_2$  取り込みと  $H_2O$  放出が減る(Kishitani & Tsunoda 1974 年)、クロロフィル量、葉窒素含量が減る。葉内に糖、でんぷん、非蛋白質窒素などがたまる(佐藤 1970 年)。

## 3. 低温環境への適応と高めるための植物特性の調整

栽培稲内の2品種群、indica と japonica のうち、後者は一般に低温環境への適応を高めこている。葉面当り気孔数は japonica の方がやや少ない傾向がみられる。幼植物の葉肉が japonica の方が indica よりも厚く緻密であり、波状に配置されてこいる(Tsunoda & Khan 1968)。この葉構造は、熱を吸収し保存するのにも有利であり、低温環境への適応とみられる(Vergara 1976)。また japonica の方が葉面当りクロロフィル含量が多く、葉色が濃い傾向がある。低温クロロシスと関連して、エステラーゼ・アイソプレンの研究(高橋・菅原 1981)が注目される。低温クロロシス抵抗性の japonica 系品種は低温下で特定のアイソプレンの活性を高め、一方低温感受性の indica 系品種のみが持つ特定のアイソプレン活性バンドもみられる。低温下での糖やでんぷんの葉や葉緑体における蓄積については、indica と japonica の間に明瞭な差がみられる(Kishitani & Tsunoda 1974, Park & Tsunoda 1979)。この差と関係してこいる構造的・生理的・生化学的特性についてはなお研究を要する。

また、上のような植物特性の調整が、生育収量に及ぼす影響も検討を要する。



第1図 陸上植物の光合成に関する要因

## S2. 冷温による水稻の結実障害

北海道農業試験場 佐竹徹夫

イネの一生の中で、冷温による結実障害を最も受けやすい時期は穂孕期（出穂の10日前ころ）であり、これに次ぐ時期は南花期である。障害発生の限界温度は品種の耐冷性や栽培条件によって異なるが15~20℃の間にあり、冷温感受性期に限界以下の温度が数日間続くと、その後の気象条件が良好であっても結実障害（不稔穎花）を発生して減収する。この現象は障害型冷害と呼ばれ、ふるくより北海道稲作に大きな被害を与えてきた。

穂孕期の場合も南花期の場合も、冷温による不稔の原因は花粉の障害であり、めしへの受精力は健全であった。穂孕期不稔に關して冷温感受性の最も高い時期は、小胞子初期（四分体期と小胞子前期を含む時期）である。この時期は、葯腔内で減数分裂を終つて生じたばかりの小胞子が、タペート細胞から栄養の供給をうけながら、外殻形成や細胞容積の急生長のための準備をしている時期で、化学的活性の高い時期である。この時期のイネをフアイトロン内で冷温処理（12℃4日間）して50~60%の不稔を誘導し、葯の諸異常と不稔に至る経路を調べた。冷温によつて、タペート細胞の異常（肥大、崩壊、染色不良）や小胞子の異常（発育遅延、外殻形成不良、外殻形成後の栄養停止）が誘起され、その結果南花期において葯内の充実花粉が少なく、葯の器用不良を伴つて不受精となる。タペート細胞と小胞子の異常は冷温処理開始より1日後にはすでに発生しておつた。その後処理日数の増加とともに異常の頻度は高まる。冷温処理中における葯の生理学的変化を追跡した結果、冷温処理葯では正常葯にくらべて、無雑質含量の減少、非還元糖含量の増加、酸性フォスファターゼ活性の低下が認められ、また組織化学的には胚乳細胞に澱粉の異常集積が観察された。これにたいし、還元糖、澱粉、アミノ酸、蛋白、可溶性有機質、酸不溶性燐（Lipid-P, RNA-P, DNA-P）の含量、フォスホウラセおよびエステラーゼの活性、呼吸活性、等は処理葯と正常葯との間に差が認められた。上記の生理学的異常は冷温処理開始1日後より認められ、その状態が処理期間中持続するが、12℃2日間処理ではほとんど不稔を発生しないので、初期の異常は可逆的ないしは回復可能と考えられる。処理期間が3日以上になると、これらの異常のうちあるものは不可逆的となり回復不能になるものと考えられる。タペート細胞における糖の増加がタペート肥大の誘因になるという仮説が提議されておるが、上記の生理学的異常と細胞学的異常の因果関係、およびタペート異常と小胞子異常との因果関係はなお明らかでない。また知られていない生理学的異常も数多くあり得よう。これらの関係をさらに究明して行く上で、タペート細胞と小胞子の分離定量、組織化学、小胞子の組織培養等は有力な武器になることを考へた。何かしら相者に就いて研究の進展を阻んではならない。

穂孕期不稔は小胞子が花粉に発芽する過程における障害に起因するのに対し、南花期不稔は花粉の成熟がほぼ完了した後の障害に起因する。南花期の冷温感受性は、南花日に近い成熟した穎花ほど高い。冷温による南花抑制期間が4日以内の時は不稔の発生は少ないが、南花抑制期間が5日以上であれば受粉不良や花粉発芽不良を伴つて不稔を発生する。南花期不稔の生理学的機構についてはまだ研究が進んでいない。

冷温による結実障害に關しては、品種間に顕著な抵抗性の差がある。同一品種にも前年温度や施肥条件によつて耐冷性は変動し、(少窒素・多磷酸施肥や堆肥施肥によつて耐冷性を高めることが出来る。冷温による小穂の形態異常は、体内のジベレリンやオーキシレベリンの高揚を介して発生すると考へておるが、TIBA（アブシキロン）やエスレック（エチレン発生源）を幼穂周辺に注入することによつて穂孕期不稔を軽減することが出来る。

耐冷性の品種間差異、栽培条件による耐冷性の変動、植物ホルモンの他の化学物質による保護作用等は、耐冷性の生理的性質を解明する上で有力な手がかりとなる。

### S3. 植物の光・温度感受性酵素

(名古屋大学農学部) 杉山達夫

植物の生産を考えると、"光"と"温度"は最もコントロールし難い環境因子である。筆者はこのままならぬ外界因子と生体反応系の秩序とのかかわりを理解すべく、 $C_4$  光合成炭酸固定系に重点をおき研究を進めてきた。 $C_4$  植物は光エネルギーをより有効に利用する方向へと進化・適応を遂げてきた植物と云えよう。だがその反面、その光合成は冷温において著しく劣性である。ここではこれら2つの生理特性を酵素のはたらきを通して考察することにした。

$C_4$  回路 ( $CO_2$  濃縮ポンプ)の駆動部とも云うべきピルビン酸・リン酸ジキナーゼは葉緑体においてNADP-リンゴ酸脱水素酵素と同様に、光によって速やかな活性調節をうける。暗所では不活型であるが、およそ2万ルクスまでの光に感応し、その活性は光量に依存し増大する。これら酵素は異ったしくみで光による調節をうけることが明らかにされつつあるが、いずれの酵素も光合成の同化力 (ATP, NADPH) を基質とする点では一致している。このことは同化力の供給が  $C_4$  光合成炭酸固定のペース・メーカーであることを示唆するとともに、この調節が同化力の一方的消費を防ぐしくみとして機能していることを意味するものであろう。一方、 $C_4$  回路の一次炭酸固定酵素である PEP カルボキシラーゼとジキナーゼの活性は植物に照射した光量に応じ、"時"または"日"の時間単位で大きく変動する。この活性調節は酵素分子数の増・減によると考えられ、2万ルクスを超えた光度領域にも感応する。Calvin 回路酵素の活性についてはこのような変動はみられないし、比較的弱光下で生育し  $C_4$  回路酵素量が減少した植物の光合成速度は低照度で飽和し  $C_4$  光合成の特徴を消失する。

このような  $C_4$  回路を構成する酵素にみられる時間感応が異なる2つのタイプの光調節機能は光合成同化力の供給をめぐる炭酸固定速度の調節を協奏的に増幅しうるといふ利点をもつ。それは  $C_4$  光合成の光に対する高い効率を支え、しかもその光依存性を能率良く規定することができる代謝要因であることを意味するものであろう。

さて、 $C_4$  光合成の冷温適応における酵素的基盤として、PEP カルボキシラーゼとジキナーゼに着目し研究が進められている。冷温に感受性の高い  $C_4$  種では光合成速度の Arrhenius プロットは  $10 \sim 12^\circ C$  で変曲する。またこの種の植物に由来する PEP カルボキシラーゼの Arrhenius プロットも同様の温度で変曲する。この異常性はリビッドと酵素分子との相互作用によると考えられていたが、酵素自身の低温における構造変化であるという考えが近年有力となっている。いずれにせよ、冷温感受性の高い  $C_4$  種の PEP カルボキシラーゼにみられるこの性質は遺伝的なコントロール下にある。冷温下での  $C_4$  光合成を律する他の酵素はジキナーゼである。この酵素のサブユニット構造は脆弱であり典型的な "cold labile enzyme" である。冷温でこの酵素は解離し、活性を失うとともに、反応の Arrhenius プロットにも大きな変曲を示す。わが国のトウモロコシ品種について、この酵素のみかけの低温不安定性は品種間差違を示し、北方型品種に由来するジキナーゼの低温不安定性は南方型のそれに較べ総じて低い。このことはこの酵素特性の生理的意義を示唆するものであろう。また同様な関係は他の  $C_4$  種でもみられる。*Panicum maximum* のジキナーゼをはじめ、いくつかのジキナーゼのみかけ上の低温不安定性は時に著しく低く、しかも短時間の低温処理による光合成炭酸固定抵抗の増大もジキナーゼ低温不安定性の高い植物に較べ著しく軽微である。興味深いことに、*P. maximum* のみかけの低温不安定性は夏期には著しく高くなり、秋期から春期にかけて低下することが明らかになった。またこの低温不安定性の低下は季節的に誘導される或る種の未知物質によって酵素が保護されることを強く示唆する結果がえられている。

以上の結果は  $C_4$  光合成において "光" と "温度" という2つの環境因子がその中軸をなす酵素を接点とし、その生理特性の発現にきわめて重要なかかわりをもつことを指摘するものといえるであろう。

温度低下に伴う植物の機能変化、特に障害の発生と生体膜の物理的状態変化の間には密接な関わりがあることが知られている。脂質の液相から固相への転移に伴ない、細胞からのイオン等の漏出、酵素活性の変化が生ずることが認められている。膜構成脂質二分子層の相転移はX線回折、走査型示差熱分析、スピンラベル、NMR等の手段により研究されている一方、フリーズ・フラクチャー電子顕微鏡法も有効な手段のひとつである。

フリーズ・フラクチャー電子顕微鏡法では生体膜脂質二重層の中層が疎水構造であり凍結下ではこの中層が物理的に弱いという特性により破断のストレスが選択的に膜中層に沿って走ることにより膜の内部構造をあらわし得る。破断面上には膜内在性タンパク質と考えられている膜内粒子が認められる。

脂質の相転移の発生はこの膜内粒子の分布の変化によって可視化される。すなわち液相状態では脂質の海の中に浮いた状態であった膜内粒子は脂質の固相への転移に伴って徐々に流動的な部分へと押し出されてゆき、膜内粒子のクラスタリングが生ずる。試料を一定の速度で種々温度まで冷却し膜内粒子のクラスタリングの度合を調べることにより相転移の開始温度と共に完了温度を決めることも可能である。

しかしながら、以上のような解釈は、タンパク質粒子が脂質中で他からの制約を受けずにほとんど遊離の状態で存在する場合にあてはまることに注意しなければならない。細胞表層側から膜内粒子をフェリチン等でラベルした場合には脂質の相転移に伴う膜内粒子のクラスタリングが生じないことが知られている。同じような可能性は膜内粒子が細胞膜内表面の表在性タンパク質と強く結びついている場合にも考えなければならない。逆に膜内粒子のクラスタリングは脂質の物理的状態変化とは無関係に生ずる場合もある。低温感受性のミズキのカルスを $0^{\circ}\text{C}$ で培養すると液胞の崩壊に続いて細胞膜の膜内粒子のクラスタリングが生ずる。この変化は $0^{\circ}\text{C}$ で細胞内のpHを変えることにより可逆的に変化することからpH依存性の膜内粒子のクラスタリングと考えられる。

さらに、フリーズ・フラクチャー電顕法では膜内粒子の数の変化をも示し得る。低温処理あるいは低温馴化処理をした植物細胞の膜では膜内粒子の数が減少することが示されている。この変化は生育適温に戻すことにより可逆的に変化することから、処理過程で脂質の固相が生じ膜内粒子の縦方向の移動により、破断面からみかけ上膜内粒子の数の減少が生じたと考えられる。このような縦方向の移動はタンパク質分子のコンフォメーション変化を伴い酵素活性の変化をもたらす一因であると考えられている。

さらに、フリーズ・フラクチャー電顕法でタンパク質分子の構造をあらわすための試み等について述べる。

## §5. 環境温度と生体膜構造

(京大食研・鬼頭 誠)

生体膜が営んでいる最適な条件がこわされるような状態が出現すると、生体膜は環境変化に適応してより望ましい状態に近づく機構をもっている。このような生体膜に影響を与える因子の一つに温度がある。一般に哺乳動物などの恒温動物では体温が一定であり、外部温度の変化とは独立している。しかし変温性の動物(魚類など)、植物、微生物などは環境温度の変化の影響を受けている。これらの細胞膜は外部温度変化に対して適応する機構(Homoeoviscous adaptation)をもっており、膜機能の恒常性が維持できるようになっている。

今回は主として大腸菌膜について環境温度と細胞膜構造との関係を述べる。生体膜は基本的にタンパク質と脂質とから成っており、脂質は膜の二重層構造を構築している。大腸菌膜を構成する脂質はリン脂質であり、その主成分はホスファチジルエタノールアミン(約80%)、ホスファチジルグリセロール(約15%)、カルジオリポン(約5%)である。これらは約8種類の分子種から構成されているが、基本的にはS-S、S-U、U-U分子種(S:飽和脂肪酸、U:不飽和脂肪酸)に分類される。生育温度が低い(17℃)とU-Uは高い(37℃)場合の約2倍に増加し、S-S、S-Uは減少した。低温では膜の流動性を維持するために不飽和脂肪酸が増加することが知られているが、この増加はU-U分子種の増加によるものであることが明らかになった。つきにこのような変化が温度に対してどのようにレスポンスしているかを調べた。生育温度を37℃から急速に17℃に低下させると、17℃になった瞬間に17℃で生育した大腸菌の膜と同じ組成をもつ分子種が適応的に合成された。その機構を膜に結合したリン脂質合成酵素系や単離酵素を用いて調べた。その結果、温度変化を鋭敏に感ずる酵素はSn-グリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼであり、温度をアロステリックエフェクターとして、Sn-グリセロール-3-リン酸のC-1にSまたはUを調節的にとり込むことを明らかにした。

一方温度変化に対して膜の流動性を微調整する機構の存在をも明らかにした。つまり、一旦合成された分子種のうちS-U分子種の不飽和脂肪酸が、温度変化にレスポンスしてマシクロアポペン化され、異なる相転移温度をもつ分子種に修飾されることを示した。

大腸菌の表層構造は内膜と外膜とから構成されている。夫々の膜における分子種分布、温度変化に対するレスポンス、さらにはX線解析による流動性の変化を調べた。その結果外膜は内膜に比し、温度に対する流動性の調節が制約されていることを見出した。

また大腸菌不飽和脂肪酸要求株は、培地に不飽和脂肪酸が存在する限り生育できる。不飽和脂肪酸として融点の高いエライジン酸を添加すると高温でのみ生育できる。この条件下における膜のリン脂質分子種は、エライジル-エライジル、パルミチル-エライジル分子種が主成分であった。前者は後者よりも相転移温度は低く約35℃である。したがって、この菌は自らの膜の物理的性質に拘束されて、膜の恒常性を保つために適当な温度(高温)を選ばなければならないことになる。

以上のように変温生物は環境温度の変化に適応する機構をもっていることを述べた。それに反してこのような機構をもたない恒温動物では、脂質の流動性の面で問題が生ずることになる。チャイニーズハムスターV79細胞の生育培地に飽和脂肪酸としてパルミチン酸を添加するとやがて細胞は死ぬようになる。パルミチン酸が細胞内にとり込まれると、小胞体におけるU-U分子種合成が減少し、S-U分子種が増加する。membrane flowで形質膜へ送られる分子種もこれを反映してU-Uが少ない。一方合成されるトリグリセリドは、70%以上が融点37℃以上の分子種で占められていた。したがってこの細胞では37℃ではゲル化した構造に富むようになり、細胞機能が破壊され死に至ると考えられる。

# 1. 新生有珠火山灰土における微生物相

(北大応菌) 吉田 忠

目的: 土壌中における微生物の着生と変遷を明らかにする一端として、昭和52年8月7日以降数度にわたる爆発、降灰により地表を一新した後、自然放置のまま4年を経過した有珠山周辺の火山灰土試料を採取し、微生物相を調べた。

方法: 有珠山麓東西2ヶ所の未墾地(I, II)ならびに噴火口付近(III)の合計3ヶ所を選び、表層から10cmまでの火山灰土を採取し、主として土壌微生物実験法(土壌微生物研究会編, 昭52)に準じ、一般細菌、かび、酵母のほか、特殊微生物として、N-, S-循環関連菌、線維素分解菌などについて菌数と分布を比較した。

結果: 火口付近の試料IIIでは、火山灰土/g当たりの一般細菌数は25と著しく少く、かびは $4.6 \times 10^2$ で、吉田・坂井(1962)による大正火山灰土の調査結果にくらべて、それぞれ $1/100$ 及び $1/100$ にあたる。また、特殊微生物は検出できなかった。これにくらべて、いまだりなどの繁殖旺盛な山麓の試料I, IIでは、一般細菌数で100倍の $1/100$ 倍を示したほか、少数ながら好気性N-固定菌ならびに線維素分解菌が存在した。また、酵母はIにのみ、硫酸還元菌はIIにのみ認められた。かびは火口付近の試料IIIに比較的多く分布し、*Penicillium* が多かったほか、*Trichoderma*, *Fusarium* および *Paecilomyces* が存在し、とくにIIにおいて *Penicillium*, *Trichoderma* が  $10^3$  のオーダーで存在したことを考え合わせ、物質循環のはじめにおけるかび類の重要性が推測された。

## 2.

### *Thiobacillus ferrooxidans* に及ぼす $CO_2$ , $O_2$ , $Cu^{2+}$ の影響

- バクテリア・リーチングの研究(第2報)-

(北大工・資源) 角田英男, 高森隆勝

1. 目的 低品位鉱石等から有用な金属成分を、化学合成独立栄養性の細菌を利用して浸出する技術がバクテリア・リーチングである。その工学的応用に際しては、微生物の持つ機能を有効に利用して反応速度や効率を高める事が重要である。この観点から筆者らはバクテリア・リーチングの基礎的研究を行って来ており、今回は鉱石の間接的浸出機構に着目して、*Fe* を基質とする時の *T. ferrooxidans* の比増殖速度( $\mu$ )、*Fe* 酸化速度( $V_{Fe}$ )及び菌体収率等の増大を目的として未だ十分に解明されていない  $CO_2$ ,  $O_2$ , 及び  $Cu^{2+}$  の影響について若干の検討を行った。

2. 方法 鉄酸化細菌は下川鉱業所(株)の球内木支分譲原とし、9K-液体培地を用いて連続培養を行った後、9K-シリカゲル平板を用いて分離した *T. ferrooxidans* を用いた。回分培養実験は、初発pH 2.0~2.2, 25°Cとして回転瓶と通気攪拌槽で行った。菌体数は計算盤により直接計測し、溶液中の *Fe* 濃度はオルト・フェナントロリン法により定量した。試薬は全て特級試薬を使用し、培地の調製には蒸留水を用いた。

3. 結果 酸素溶解速度定数( $k_1$ )を大きくした通気条件の良い培養実験を行った結果、 $\mu$ 、 $V_{Fe}$  及び菌体収率速度定数( $k_2$ )の各々が増大した。さらに *Fe* の炭素源である  $CO_2$  の濃度を増大した実験( $CO_2: 1\%$ )では、空気を用いた実験と比較して  $\mu$  は約2.6倍、菌体収率は約4倍と顕著な効果があった。 $k_1$  及び  $V_{Fe}$  についても増大効果があった。

*Fe* の鉄酸化酵素の必須成分である銅を *Fe* 培地に添加する事により、 $\mu$ 、 $k_1$  及び  $V_{Fe}$  等  $\mu$  の速度増大効果があった。《謝辞》 微生物実験の聴講を快諾し、種々の御助言を下された高尾、吉田先生に感謝致します。又、微生物生化学の立場から鉄酸化酵素の抽出実験に御協力下さいました石本先生に謝意を表します。 <文献> 1. 化工会秋季大会: SK301 (78)

### 3.

#### 大腸菌の生育に対する低温条件の影響

(北大 農化)

○川本伸一・徳山真治・八島重昂・江口良友

1. 目的 微生物の生育に及ぼす低温の影響を解析するため、我々は*E. coli* K-12から固体培地上で親株が死滅する低温下において生育能を有する変異株(UV-2, DP-50)を分離した。今回、これら変異株と親株の低温下での生育並びに生理・生化学的挙動を比較し得られた結果について報告する。

2. 方法 菌体の脂肪酸組成は、菌体から Folch 法<sup>1)</sup>により総脂質画分を抽出、加水分解後メチルエステル化しガスクロマトグラフィーで分析した。 $\beta$ -ラクタム系抗生物質感受性の検定は、Kerstin et al.<sup>2)</sup>の方法に従った。

3. 結果 1) 固体培地上での生育(8°C)：完全培地(NA)上でUV-2, DP-50株は培養20日で塗抹菌数の90%以上が可視コロニーを形成するがK-12株は培養経過に伴い対数的に死滅し20日後には生存率は約0.5%となる。また合成培地(Davis)上では3株共培養に伴い生存率は低下するが、この培地に0.2%カザミノ酸を添加するとNA培地上と同様の挙動を示した。2) 液体培地(振盪培養)における生育(8°C)：NB培地ではUV-2, DP-50株共に親株に比べlag timeが約2日短縮した。またDavis(0.2% glucose)培地においては、UV-2株は親株に比べlag timeが約2日短縮したが、DP-50株は親株に比べ生育がかなり低下した。3) 生理的特性の比較：放射性同位元素を用いた、低温下での3株のRNA, protein合成能及びglucose, leucineの膜取り込み能並びに菌体脂肪酸組成においてはほとんど差は認められなかった。

4)  $\beta$ -ラクタム系抗生物質感受性：UV-2, DP-50株は親株に比べ, penicillin G, ampicillin に対する感受性が2倍ほど増加しているのが認められた。

1) J. Folch et al., J. Biol. Chem., 226, 497 (1957)

2) G. Kerstin et al., J. Bacteriol., 90, 54 (1965)

### 4. 畑圃場におけるベンゾ(a)ピレンの分解

(帯畜大畜産環境) ○小林進介, 中野益男, 根岸 孝

1. 目的 われわれはこれまで、環境発癌物質の一つとして広く知られている多核芳香族炭化水素の分解過程を2, 3のインキュベーション実験により検討してきた。このうち畑工場の例では、ベンゾ(a)ピレン[BaP]は2ヶ月後にはほぼ50%が分解し、その主は中間分解生成物が数種のBaPキノン類であることを明らかにした。そこで今回はBaPの分解を圃場レベルで実験し、農業環境中での多核芳香族炭化水素の分解過程を推定した。

2. 方法 実験は畜大畑圃場でおこなわれた。昭和55年6月27日にBaP含量を10ppmとした作土(生土)をガラス板で仕切った実験区に充てんし、経時的に工農試料を採取した。ついで残存するBaPとその中間分解生成物をクロロホルム-メタノール(2:1)で抽出した。BaPの分解率は薄層クロマトグラフィー・ケイ酸デントメトリーで求めた。BaPの中間分解生成物については、ケイ酸カラムクロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィーにより分離・精製した後、高速液体クロマトグラフィーおよび質量分析計によって同定・定量した。

3. 結果 工農に添加されたBaPは、時間の経過とともに減少し、1ヶ月後に15%、12ヶ月後に24%分解されていた。この分解率は室内のインキュベーション実験(30°C, 圃場含水量の60%)の場合と比較して、むしろ低いのが特徴的であった。しかしBaPの中間分解生成物の種類と生成割合はインキュベーション実験の結果とほぼ同様であった。以上の実験成績から、土壌中でのBaPの分解速度は温度や水分含量に大きく依存するが、分解反応のパターンは類似のものであると推定された。

## 5. 放線菌の酵素生成に対するアフリジン系色素処理の影響

(北大 農化) ○、島重昂 江口良友

1. 目的. アフリジン系色素の放線菌に対する生理作用は細胞質因子とも関連して数多く報告されている。しかし、これらの色素処理と物質生産の基本となる酵素の生成能に関する報告例は非常に少ない。そこで、これらの色素処理と放線菌のリボース生成系酵素生成能との関連性についての知見を得ることを目的とした。

2. 方法. フォルマイシン生産菌である *Streptomyces*. sp. MA406-A-1株を代表菌株として使用した。培養条件は maltose - peptone - yeast extract 培地に当該菌株を接種し、27°C、2日間の前培養を行なったつち27°C、22時間の本培養を行なった。各種酵素活性はそれぞれ従来報告されている常法を用いた。

3. 結果. フォルマイシンの構成部分であるリボース生成に関する酵素系について種々検討を行なった結果、アフリジン系色素処理によって得られたフォルマイシン非生産菌株は transketolase を欠失していたが transalodolase, hexokinase, hexose-monophosphate-isomerase, phosphofructokinase などの酵素生成能には変化が認められなかった。

さらに興味ある現象として、フォルマイシン非生産株は glucose-6-phosphate dehydrogenase および 6-phosphogluconate dehydrogenase を細胞内、また培地中に多量蓄積することを見出した。

## 6. 植物の $\gamma$ -Glutamyl誘導体の代謝における $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase の関与

(北大農化) ○、菅西隆則 大宮あけみ 坂村貞雄

目的: 植物からは70種を越える  $\gamma$ -glutamyl誘導体 ( $\gamma$ -GP) が見出されしており、これらは  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GTase) の作用で生成されると考えられている<sup>1)</sup>。しかし、 $\gamma$ -GP濃度の減少時に  $\gamma$ -GTase活性が増大するという報告はあるが、 $\gamma$ -GP蓄積中に  $\gamma$ -GTase活性が増大するかどうかは知られていない。本研究では完熟種子で異なる  $\gamma$ -GP 10パターンをもつ数種の植物を送び、その未熟種子の  $\gamma$ -GTase活性と特異性を比較し、 $\gamma$ -GP合成における  $\gamma$ -GTase関与の有無を明らかにしようとした。

結果及び検討: 豆科の緑豆は  $\gamma$ -Glu-Met 及びその sulfoxide を、大豆は  $\gamma$ -Glu-Phe と  $\gamma$ -Glu-Tyr を、小豆は  $\gamma$ -Glu- $\beta$ -phe- $\beta$ -Ala を多量に含む。そら豆、えん豆では  $\gamma$ -GP は存在したとしても極めて微量である。アスノ科のアスノラガス苗条には  $\gamma$ -GTase の存在が報告されているが、 $\gamma$ -GP濃度は非常に低い。緑豆、大豆、小豆、そら豆、えん豆の未熟種子及びアスノラガス苗条の  $\gamma$ -GTase活性を測定すると大豆とアスノラガスに活性が認められたが、そら豆、えん豆更に完熟時に多量の  $\gamma$ -GP を含む緑豆、小豆に  $\gamma$ -GTase活性は殆んど認められなかった。一方緑豆発芽中  $\gamma$ -GP の減少に伴い  $\gamma$ -GTase活性は増加した。部分精製した大豆未熟種子とアスノラガス、及び文献記載のいんげん豆 (上記各種の豆とは異なる  $\gamma$ -GP 10パターンを有する) の  $\gamma$ -GTase の性質は極めて類似しており各々の  $\gamma$ -GP パターンの相異を反映していることがわかった。又或る  $\beta$ -ミ) 酸が  $\gamma$ -Glu残基の受容体としての活性が高く且含量が高くてもその  $\gamma$ -Glu誘導体が見出されないという場合もある ( $\gamma$ -Glu-AsN 等)。アスノラガスの  $\gamma$ -GP濃度は低いからその中では  $\gamma$ -Glu-Gluが最も多い。しかし  $\beta$ -Gluの  $\gamma$ -Glu残基の受容体としての活性は極めて低い。以上の結果より植物の  $\gamma$ -GP代謝において  $\gamma$ -GTaseはその成熟中の合成過程ではなく、発芽中の分解過程に関与していると考えられる。1) T. Kasai and P. O. Larsen, *Fortschr. Chem. Org. Naturst.*, 32, 173 (1980).

## 7. $\beta$ -アミノシクロプロパン- $\gamma$ -カルボン酸デアミナーゼのチオール基の修飾と基質関連アミノ酸の影響 (北大農化) 本間 守

目的. 生物による三員環の開裂反応は種々調べられているが、その中では $\beta$ -アミノシクロプロパン- $\gamma$ -カルボン酸(ACPC)の分解が比較的良好に調べる状態にある。細菌ACPCデアミナーゼの反応では結晶標品を用いた実験から可能な反応機構が示されている。本酵素は数種のチオール試薬で阻害される。そこで酵素の活性部位とチオール基との関係を調べる目的で実験を行った。

方法. ACPCデアミナーゼは既報のように*Pseudomonas* sp. ACP から精製し、活性測定はケト酪酸の定量によった。チオール基の滴定は5,5'-ジチオビスニトロ安息香酸を用いて行い、 $\beta$ -クロロ-D-アラニン、D-, L-アラニン等は市販品を用いた。

結果. 本酵素はサブユニット当り約1個の比較的反応性の高いチオール基を持つが、基質と拮抗して阻害するL-セリンによつてチオール基の反応性が抑えられる。同じ現象は $\beta$ -クロロ-D-アラニンによつて約90%失活した酵素によつても観察されており、チオール基が酵素の活性部位に含まれることをより強く示している。ヨード酢酸またはそのアミドによる酵素の失活はpH9.5以上で顕著に増大するが酵素反応の最適pH 8.5付近では高濃度の試薬と長時間とを必要とする。この時D-アラニンを共存させると失活の速度が増大する。逆に、L-アラニンはヨード酢酸アミドとの反応から酵素を保護する。後者はL-アラニンが酵素の強い拮抗阻害剤であることから理解され、前者についてはD-アラニンが阻害剤としては弱い。 $\alpha$ -プロトシンの脱離反応があり、そのような関係の中で酵素のチオール基の反応性を高くしていると考えられる。ヨード酢酸アミドとの反応性の増大は基質を含む他のアミノ酸等では起らず、D-アラニンによる反応性の増大はN-エチルマレイミド、や5,5'-ジチオビスニトロ安息香酸の場合には認められなかった。

## 8. 米および小麦中のジグリコシルセラミドについて

(帯広畜産農化) オカ西正男, 伊藤精亮, 藤野安彦

目的: 演者らは、植物スフィンゴ脂質の化学的特性を明らかにしようとしている。先に、代表的な植物スフィンゴ脂質であるセラブロシド(モノグリコシルセラミド,  $G_1CM$ )のセラミド(CM)基の構造が、葉では共通しているが、種子では植物種による特異性を示すことを報告した<sup>\*</sup>。今回は米糠、米胚乳、稻茎葉、小麦全粒および小麦粉から、ジグリコシルセラミド( $G_2CM$ )を単離し、それらの構造、とくに糖鎖部について比較検討しようとした。

方法: 各試料から調製した全脂質をケイ酸カラムクロマトグラフィー、弱アルカリ処理、分取ケイ酸薄層クロマトグラフィー、アセチル化などに供して、 $G_2CM$ を単離精製した。これを部分あるいは完全メタノリシスして、構成スフィンゴシン、脂肪酸および糖の種類と組成を主としてガスクロマトグラフィーで分析した。また糖鎖部の構造は、完全メチル化物およびクロム酸酸化物のガスクロマトグラフィーと質量分析から解析した。

結果: 米粒中の $G_2CM$ の構成脂肪酸およびスフィンゴシンの組成は、 $G_1CM$ のそれとは異なり、主成分は2-ヒドロキシリグノセリン酸と4-ヒドロキシスフィンゴ-8-エニンであった。小麦穀粒では、両脂質の構成成分の組成はよく類似していた。構成糖は、各試料ともにグルコースとマンノースとであった。両糖の比は、米の脂質では2~3:7~8、小麦のそれでは1:1であった。また糖鎖は、いずれも $\beta 1 \rightarrow 4$ 結合を有していた。以上の成績と部分脱グリコシル化糖脂質の分析から、米の $G_2CM$ の主要分子種は、Glc( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-Glc( $\beta 1 \rightarrow 1$ )-CMおよびMan( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-Glc( $\beta 1 \rightarrow 1$ )-CMと特徴づけられた。小麦のそれでは、前者(セラブロシド)が少なく、後者のほうが多かった。

\* 日農化大会議演集, p.36 (1980).

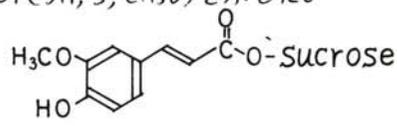
9. 中心子目植物の化学成分 (5)

フタンソウ種子から *trans*-feruloylsucrose の単離と構造  
(北大農化) ○長尾明宣, 知地英征

1. 目的 *Beta* 属植物の成分研究の一環として, フタンソウ (*Beta vulgaris* L. var. *cicla* Moq.) の種子から, 2種類の新クマラノクロモンを単離したが<sup>1,2)</sup>、今回, 更にそのブタノール可溶画分から新フェノール性化合物を単離したので, その構造について報告する。

2. 方法と結果 フタンソウ種子 (60kg) のメタノール抽出液から常法により得た *m*-ブタノール可溶画分を活性炭カラム (水-アセトン), シリカゲルカラム (CHCl<sub>3</sub>-EtOH) で精製し, UV 蛍光の強いフェノール性化合物 **1** (920 mg, mp 127-128°) を単離した。その機器分析結果は, UV λ<sub>max</sub><sup>EtOH</sup> nm (log ε): 216 (4.10), 234 (4.03), 296 sh (4.10), 335 (4.25). IR ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup>: 3350 (OH), 1700 (C=O), 1620, 1590. FDMS *m/z*: 557 (M<sup>+</sup>), 541 (MNa<sup>+</sup>), 519 (MH<sup>+</sup>), 518 (M<sup>+</sup>, HR-FDMS; 518.1622, C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>14</sub>), 357 (base peak). PMR δ<sub>TMS</sub><sup>D<sub>2</sub>O</sup> ppm: 9.63 (1H, s, OH, D<sub>2</sub>O 添加で消失), 7.54 (1H, d, J=15.6 Hz), 7.32 (1H, d, J=2 Hz), 7.13 (1H, dd, J=2, 8 Hz), 6.79 (1H, d, J=8 Hz), 6.48 (1H, d, J=15.6 Hz), 3.8~5.3 (m, sugar-CH, CH<sub>2</sub>), 3.81 (3H, s, CH<sub>3</sub>O) を示した。

**1** の酸加水分解で ferulic acid, glucose と fructose が検出され, アルカリ加水分解によって *trans*-ferulic acid と sucrose を単離, 同定したことなどにより, **1** の構造を *trans*-feruloyl-



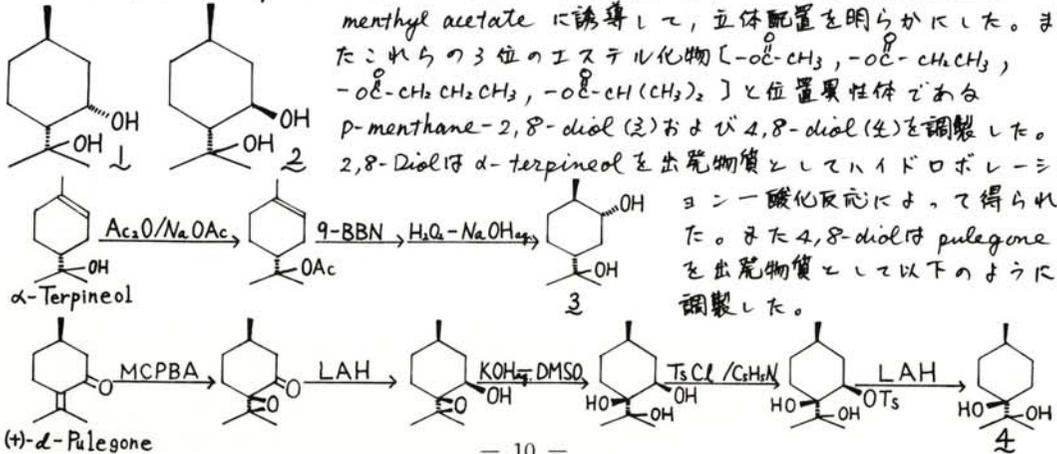
sucrose と決定した。その結合位置については, 現在検討中である。今迄に天然から単離されている sucrose と cinnamic acid とのエステルは disinapoylsucrose のみである。<sup>3)</sup> 1) 知地, 藤田, 長尾, 伊沢. 日本農芸化学会 昭和55年度大会 (福岡), 2) 長尾, 知地. 日本農芸化学会 北海道支部会 (昭和56年7月), 3) M. Linscheid et al., Z. Naturforsch. 35c 907 (1980)

10. *p*-Menthane-3,8-diol 関連化合物の合成および生理活性

(北大農化) の角康一郎, 西村弘行, 中原志郎, 三島吉雄, 水谷純也

1. 目的 先に, 我々は, レモニユーカリ (*Eucalyptus citriodora*) から *p*-menthane-3,8-diol の2つの立体異性体 [cis体(1), trans体(2)] を見いだした。シス体(1)は, レタス種子を用いた発芽試験で発芽阻害活性をもっていたが, トランス体(2)はそれほど強い活性を持たなかった。そこで, *p*-menthane-3,8-diols (1,2) の立体構造を明らかにするとともに, それらの関連化合物を調製し, 構造と活性との関係について調べた。

2. 方法および結果 (1) および (2) は, citronellal の酸触媒環化反応により得られ, これらは天然から得られた diols と完全に一致したので, 合成トランス体(2)を天然既知の



menthyl acetate に誘導して, 立体配置を明らかにした。またこれらの3位のエステル化物 [-O<sup>+</sup>C-CH<sub>3</sub>, -O<sup>+</sup>C-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -O<sup>+</sup>C-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -O<sup>+</sup>C-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] と位置異性体である *p*-menthane-2,8-diol (2) および 4,8-diol (4) を調製した。2,8-Diol は *d*-terpineol を出発物質としてヒドロボレーシヨニ-酸化反応により得られた。また 4,8-diol は pulegone を出発物質として以下のように調製した。

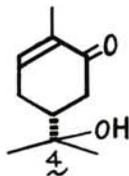
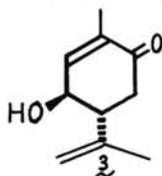
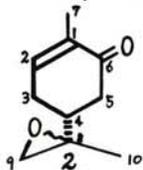
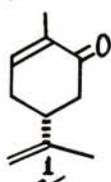
## 11. スペアミント系ハッカ成分 *l*-carvone および関連化合物の発芽阻害活性

(北大農化) 西村弘行, ○平本 茂, 藤田 孝, 水谷純也

1. 目的 ハッカの品種には和種ハッカ(ペパーミント)と洋種ハッカ(スペアミント)に分けられ、前者は *l*-menthol が主成分であるが、後者は *l*-carvone である。これまで、土壤中より分離した放線菌による *l*-carvone (1) の微生物変換で、各種の酸化生成物が同定され、<sup>1)</sup> あるものは種物体からも単離されている。微生物変換生成物 (2, 3) および関連化合物を調製し、生理活性と化学構造との関係とを調査することは、新しい活性物質をドラッグデザインする上で重要である。

今回は、 $\alpha, \beta$ -不飽和ケトンをもつ *l*-carvone 誘導体並びにそれらの antipode を調製し、レタス種子に対する発芽阻害活性を調べたので報告する。

2. 方法および結果 *l*- または *d*-carvone の 2 つの二重結合を位置選択的にエポキシ化して酸化生成物を得た。さらに、化合物 2 を  $\text{LiAlH}_4$  で完全に還元して diol とし、コリンズ酸化によって化合物 4 とした。生物検定には、レタス種子 100 粒を使用し暗所 24 時間における発芽率を計算することにより阻害活性を調べた。その結果、*l*-carvone-8,9-epoxide (2) が 200 ppm 濃度で強い活性を示し、その antipode よりもかなり活性が高かった。



文献 1) 野間義明, 西村弘行, 辰巳忠次, 第24回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会講演要旨集, P.67, 昭和55年9月8日, 郡山

# 日本農芸化学会北海道支部総会

昭和56年11月27日（金） 13:30～14:00

於：北海道大学百年記念会館大会議室

## 日本農芸化学会北海道支部，北海道農芸化学協会 合同懇親会

昭和56年11月27日（金） 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 TEL 2 4 1 - 2 6 6 1）

会 費 3, 0 0 0 円（学生 1, 500 円）

---

❖

### 北海道大学農学部藪田セミナー

北大農学部において、引続き下記セミナーの開催を予定しております。  
多数御参集下さい。

会 場：北海道大学農学部 S 2 1 3 講義室

第3回 小林彰夫氏（お茶の水女子大学家政学部） 開催責任者 坂村貞雄  
「食品加熱香气成分の化学」 12月10日(木)15:30より

第4回 後藤俊夫氏（名古屋大学農学部） 開催責任者 水谷純也  
「天然生理活性物質の合成」 1月12日(火)15:30より

第5回 川岸舜朗氏（名古屋大学農学部） 開催責任者 西村弘行  
「香辛性物質と食品，生体成分との相互作用」  
2月4日(木)15:30より

以上講演会等連絡先は  
北大農学部農芸化学科 水谷純也

TEL011-711-2111 内線3840まで

## 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  
富良野市ぶどう果樹研究所  
古谷製菓株式会社  
合同酒精株式会社  
北海道朝日麦酒株式会社  
北海道日産化学株式会社  
北海道農協乳業株式会社  
北海道理器械株式会社  
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  
北海製罐株式会社罐詰研究所  
北開水工測量社(有限会社)  
ホクレン開発研究部  
池田町ブドウ・ブドウ酒研究所

岩田醸造株式会社  
関東化学販売株式会社  
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  
日本新薬株式会社札幌工場  
日本甜菜製糖株式会社技術部  
ニッカウキスキー株式会社  
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  
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