

合同学術講演会及びシンポジウム

講演要旨

期 日：昭和60年12月12日(木)～12月13日(金)

場 所：北海道大学学術交流会館小講堂

(北大構内 北8条西5丁目正門入って左手)

(電話 011-716-2111内線2005, 2006)

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 011-716-2111 内線2493

合同学術講演会及びシンポジウムスケジュール

昭和60年12月12日（木） 北海道大学学術交流会館 小講堂

9：30～12：15 一般講演

14：00～14：30 日本農芸化学会北海道支部総会
北海道農芸化学協会総会

14：30～17：00 特別講演

18：00～20：00 合同懇親会 共済サロン（北4条西1丁目 共済ビル）

昭和60年12月13日（金） 北海道大学学術交流会館 小講堂

10：00～15：00 シンポジウム「農芸化学諸分野における最近の話題」

学術講演会

日時：昭和60年12月12日(木) 9:30~12:15

場所：北海道大学学術交流会館小講堂

●一般講演

(座長：佐々木 博)

- 9:30 (1). *Kluyveromyces lactis* のキラ-毒素に対する耐性変異株の性質
..... (北大・農化) ○岩橋 均, 小林正明, 新井直美, 中村太郎
- 9:45 (2). 免疫電気泳動法による根粒菌の比較.....
..... (帯畜大・農化, *十勝臨床検査センター) ○佐藤哲也, *小出佳正, 菅原四郎

(座長：田原哲士)

- 10:00 (3). 残存脂肪分析法による原始古代の生活環境復原——とくに石器の用途の解明(第5報) ...
..... (帯畜大環境, *北海道埋文センター) ○中野益男, 中岡利泰, 根岸 孝, *長沼 孝
- 10:15 (4). アズキ種子中の極性トリテルペン系脂質について.....
..... (帯畜大・農化) ○小嶋道之, 大西正男, 伊藤精亮, 藤野安彦

(座長：吉原照彦)

- 10:30 (5). オリーブ (*Olea europea* Linn.) からの揮発成分の分離分析.....
..... (帯畜大・農化, *香川大・食品) ○鍋田憲助, *松尾敏正, *杉沢 博
- 10:45 (6). ギョウジャニンニクの花のフレバーに関する研究(第3報) 揮発性成分の同定並びに乾燥粉末化の検討.....
..... (北大・農化, *道工試) 西村弘之, ○ハニイ・ウィジャヤ, 水谷純也, *田中常雄

(座長：中野益男)

- 11:00 (7). チモシーがまの穂病病徴部(choke)からの抗菌物質の構造研究(第4報).....
..... (北大・農化, *草地試, **北農試) ○越野広雪, 研谷 啓,
吉原照彦, 坂村貞雄, *島貫忠幸, *佐藤 徹, **但見明俊
- 11:15 (8). アズキ落葉病菌により誘導されるアズキの抗菌性化合物の研究.....
..... (北大・農化) ○阿部尚樹, 小坂 学, 佐藤博二, 坂村貞雄
- 11:30 (9). Dihydrofurano-isoflavone の立体構造について.....
..... (北大・農化) ○田原哲士, 水谷純也

(座長：佐藤博二)

- 11:45 (10). 原料乳および市乳の遊離脂肪酸について.....
..... (北大・酪研) 斎藤善一
- 12:00 (11). N-サリチリデン——グリシン銅(II)とハロゲン化アルキルの反応による α -アミノ酸生成法の再検討.....
..... (北大・農化) ○葛西隆則, 知地英征, 桐山修八

●特別講演

- 14:30 1. 微生物の有用機能の開発ならびに異種微生物の連関による転換発酵に関する研究
(日本農芸化学会鈴木賞受賞) 北海道大学農学部 高尾 彰 一
2. アルコール業界の現状と将来 合同酒精㈱旭川工場 入江 淑 郎

シンポジウム

『農芸化学諸分野における最近の話題』

日 時：昭和60年12月13日(金) 10:00~15:30

場 所：北海道大学学術交流会館小講堂

(講演時間35分, 討論5分)

10:00~10:10 開 会 の 辞

北海道支部長 高 尾 彰 一

10:10~10:50 S 1. 新植物生長物質ブラシノライド——その化学・生理・応用研究における最近の発展

東大農化 横 田 孝 雄
(座長：西 村 弘 之)

10:50~11:30 S 2. 固定化生体触媒の新展開

京大工化 田 中 渥 夫
(座長：谷 田 昌 稔)

11:30~12:10 S 3. ヒト尿中酵素の特性とその利用

大阪市大理 南 浦 能 至
(座長：松 井 博 和)

12:10~13:30 休 憩

13:30~14:10 S 4. 動物のタンパク質代謝における筋肉の役割

東大農 門 協 基 二
(座長：葛 西 隆 則)

14:10~14:50 S 5. 遺伝子工学の応用における問題点

阪大醗酵 今 中 忠 行
(座長：八 島 重 昂)

14:50~15:20 討 論

(司会：葛 西 隆 則)

15:20~15:30 閉 会 の 辞

北海道農芸化学協会長 福 山 達 彦

世話人：葛西隆則，西村弘之，吉原照彦，谷田昌稔，松井博和，八島重昂，川本伸一

(1) Kluyveromyces lactis のキラー毒素に対する耐性変異株の性質

(北大・農化) ○岩橋 均、小林正明、新井直美、中村太郎

目的: 酵母 Kluyveromyces lactis IF01267株のキラー形質は2本鎖の線状DNAプラスミド、pGK1-1とpGK1-2に支配され、この株はキラー蛋白質を分泌すると同時に、これらのプラスミドによって自から作る毒素に対する免疫性も獲得している。毒素蛋白質は既に精製されており、アデニレートシクラーゼを阻害することが知られている。しかし、この毒素の作用機作については十分に解明されてはいない。そこで、K. lactisの毒素に対する耐性変異株を Saccharomyces cerevisiae から分離し、その性質を調べた。また郡家らの方法に従って、K. lactis IF01267株と S. cerevisiae AH22(a^ρ)株との細胞融合法で作成したpGK11とpGK12を持つハイブリッド株Y81の示す免疫性と耐性変異株の示す耐性とを比較した。

方法と結果: ニトロソグアニジンを変異原として、S. cerevisiae AH22株からキラー耐性株を誘導した。変異処理した細胞をキラー生産株と混合して集積培養をおこなった後、分離したコロニーから寒天平板上にローンを作り、それに塗抹したキラー株の周辺に生育阻止帯の現れない株を耐性変異株とし、18株を得た。これらのキラー耐性株、Y81株、AH22株をそれぞれ K. lactis IF01267株と混合して液体培養すると耐性株とY81株は生育したが、AH22株は生育しなかった。S. cerevisiaeの感受性株とのヘテロ接合体(a/a)及び細胞融合によって得たホモ接合体(a/a)は何れも毒素に対し感受性となり、これらの耐性形質は劣性であることを示している。これらの変異株をプロトプラスト化し、感受性を調べた所、耐性を残している株(TypeI)、感受性となる株(TypeII)、及び完全な細胞の再生しない株(TypeIII)の3タイプに分類された。Y81株はプロトプラストにしてもキラー毒素に対し免疫性を残しており、TypeIの耐性株と同様の挙動を示した。

(1) J. Bacteriol (1981) 145 382

(2) Nature (1983) 304 464

(2) 免疫電気泳動法による根粒菌の比較

(葦畜大農化、*十勝臨床検査センター) ○佐藤哲也、小出佳正、菅原四郎

1. 目的 これまでの研究で使用された大豆根粒菌(主として生育の違い菌株:SG)は広い宿主範囲を有することが明らかとなった。すなわちアズキおよびササゲの地に交互接種時の異なるインゲンなどに根粒を形成することが判明した¹⁾。そこで本研究においては生育の早い大豆根粒菌(FG)も含め、主として免疫学的技法を用いてこれらの差異について検討を行った。

2. 方法 菌株: これまでの実験に使用したSGタイプ根粒菌に加えFGタイプ根粒菌USDA191、USDA193およびUSDA194、アズキ根粒菌(OUA442およびOUA470)、ルーピン根粒菌(J80およびJ80a)ピーナツ根粒菌(A2P4)およびカウピー根粒菌(A2P6)を用いた。PAGEは常法によるスラフ泳動法で行なった。免疫電気泳動(IEP)はGraber-Williams、交互免疫泳動(CIE)はClerke-Freemanの方法に従って行なった。またこれらの試料として培養時間およびタンパク濃度を一定にした根粒菌の無細胞抽出液を用いた。

3. 結果 炭水化物利用率に差異のあるSGおよびFGタイプ根粒菌はPAGEのパターンに大きな差異が認められた。S32などのSGのもの是一般に泳動距離の小さいalkalineのものが多い。FGはacidicなタンパクが多く両者には明確な差異が視察された。またS32抗体を用いたIEPでは、S32などSGは多数の共通抗原を有していたがFGの場合殆んどアークが形成され免疫学的にも明確な差異が認められた。CIEパターンはSGとアズキ根粒菌は類似性が高かった。ピーナツおよびカウピー根粒菌のものは多数のピークが認められたがSGのパターンとは若干差異があった。これに対しルーピン根粒菌はピーク数も非常に少なく、明らかに他のものとは異なっていた。

1) 佐藤 哲也、小出 佳正、菅原 四郎 日農化要旨 75(1985)

(3) 残存脂肪分析法による原始古代の生活環境復原 — とくに石器の用途の解明 (第5報)

(帯広畜大畜産環境, 北海道埋文センター) °中野益男, 中岡利泰, 根岸孝, 長沼孝

1. 目的 先にわれわれは, 古代遺跡から出エシレ:土器片, 獣骨, 骨角器および腐朽分解が進み考古学的実証が困難な墳墓跡に生体成分の一部, とくに脂肪が微量ながら比較的安定した状態で残存していることと明らかにし^{1,2)}。この残存脂肪分析法を考古学的試料の分析に広く適用することにより, 目に見える形では遺存しない原始古代の動植物種を実証し, 空白となっていた原始古代の生活環境を生化学的側面から復原することが可能と考えられる。今回は, 食生活に関わりの深い道具, とくに石器に残存する脂肪を分析し, 縄文時代の生活環境の復原を試みた。1) 中野益男, 脂質生化学研究, 22, 41(1985)。

2. 方法 北海道今金町・美利河遺跡(縄文時代)から出エシレ:石器(スクレイパー類)3試料からクロロホルム-メタノール混液を用いて残存脂肪を抽出し, ケイ酸薄層フロマトグラフィーにより各脂質クラスに分離・精製した。残存脂肪の脂肪酸およびステロール組成は, ガスクロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィー質量分析により検索された。スクレイパー類出土周辺の土壌40試料についても同様の方法で分析した。

3. 結果 スクレイパー類からの残存脂肪の抽出量は約0.01%, 土壌試料のそれは約0.05%であった。脂肪としては, 遊離脂肪酸, トリグリセリドおよびステロールを抽出した。遺物の残存脂肪酸はパルミチン酸(28.8%), ステアリン酸(10.8%), オレイン酸(4.9%), ドコサモノエン酸(11.6%), ネルボン酸(9.8%)から構成されていた。この脂肪酸パターンは, 獣脂とくに鹿油のそれと類似し, 周辺土壌の構成脂肪酸とは異なっていた。また遺物の主要なステロールはコレステロールであった。これらの成績から, スクレイパー類は狩猟・採集および解体に使用されたものと推測した。この種の石器類の用途が解明されるにはこれが初めてである。2) 中野益男, 大塚環状列石周辺遺跡発掘調査報告書(1), 46(1985)。

(4) アズキ種子中の極性トリテルペン系脂質について

(帯広畜大農化) °小嶋道之, 大西正男, 伊藤祥亮, 藤野安彦

1. 目的 濱倉らは, 先にアズキ種子中の非極性トリテルペン系脂質(遊離型およびアシル型ステロールとトリテルペンアルコール)の化学組成について報告した¹⁾。引き続き極性トリテルペン系脂質について検索したところ, 既知の3種のステロール配糖体に加え2種の新しいオリゴグリコシルステロールと数種のサポニンが検出された。そこで今回は, これらの極性トリテルペン系脂質の種類とその組成および構造を明らかにし, トリテルペン系脂質間の代謝的関連性を探ろうとした。

2. 方法 アズキ種子から前報りと同様に調整した脂質抽出物を, Folch法(クロロホルム-メタノール-水, 8:2:3)で分配した。下層のクロロホルム層を濃縮後, ケイ酸フロマトグラフに供し, クロロホルムで非極性トリテルペン系脂質, メタノールで極性トリテルペン系脂質を溶出した。極性トリテルペン系脂質画分を再ケイ酸フロマトグラフと調整用ケイ酸TLCに供して, 各種のステロール配糖体およびサポニンを分離精製した。構成アグリコンと糖は, メタノール抽出液をGLCおよびGC-MSで分析した。また糖の結合様式は, PMRと完全メチル化物の分析から決定した。

3. 結果 アズキ種子から極性トリテルペン系脂質として, 5種のステロール配糖体と4種のトリテルペノイドサポニンが分離された。これらはモノグリコシル型からテトラグリコシル型までの糖脂質で, 主成分はモノグリコシルステロールとアシルモノグリコシルステロールであった。構成糖は前群ではグルコースのみ後群ではグルコースとグルクロン酸であった。ステロール配糖体の主要な構成アグリコンはシステロールとスタグマステロールで, サポニン群のそれはソヤサポニン-Bとアズキサポニンであった。オリゴグリコシルステロールの糖鎖は, [グルコシル(β1→6)]₂-グルコシル(β1→3)-と決定された。主要なサポニンであるジグリコシル型はグルコシル(β1→2)-グルクロン(β1→3)-ソヤサポニン-Bと推定された。また, モノグリコシル型のサポニンが今回アズキ種子から初めて分離された。

1) 伊藤, 小嶋, 大西, 藤野: 農化, 51, 465(1985) 2) I. Kitayama, H.K. Wang, M. Saito and M. Yoshikawa: Chem. Pharm. Bull., 31, 674(1983)

(5) オリーブ (*Olea europea* Linn) からの揮発成分の分離分析

(帯畜大・農産化学) ○鍋田憲助, 松尾敏正*, 杉沢博*

* 香川大・食品

1. 目的 オリーブ (Lucca 種, mission 種) の器官 (葉, 花, 中果皮+外果皮) からの揮発成分の分離同定を行い, 品種間差, 器官間の揮発成分の相異を検討する。また選択的イオン検出法 (SIM) により *trans*-2-hexenal の Lucca 種葉中の季節変化を求める。

2. 方法 オリーブの各器官から, 連続蒸留抽出装置 (SDE) 法で揮発成分を分離し, FFAP-FS/WCOT キャピラリーカラム, 50m × 0.25mm (内径) で GC および GC/MS 分析した。また *trans*-2-hexenal 量については, *m/z* 98 のマスフラグメントグラムから算出した。

3. 結果 揮発成分全体で 56 成分を同定した。そのうち 14 成分が直鎖状炭化水素, C₅-C₈ までのアルコール 6 成分, C₅-C₁₀ までのアルデヒド 2 成分, テルペン系化合物 5 成分などである。また今までオリーブ中に見い出されなかった 3-ビニルピリジン, メチルビニルピリジン, *cis*-Jasmone も同定した。その他, 種々の芳香環を有する化合物も同定した。

○各器官の揮発成分の違いでは, 花と他の器官との揮発成分の質的な相違が著しく, また, 葉と中果皮+外果皮との間では構成成分の違いは認められないが, それぞれの相対量にはかなりの差が認められた。また Lucca 種と mission 種では, 中果皮+外果皮において品種間差が著しいが, 葉および花では品種間差は, 比較的少ない。

○Lucca 種の葉中の *trans*-2-hexenal 量を, SIM 法で定量した。1984年6月11日から11月26日まで約3週間に一度, 試料を採集して定量したところ, 8月初旬に急激に増加を開始し, 11月初旬に最高値に達することが判った。なお SIM 法では, 通常の GC 法に比較して微量の試料で定量が可能である。

(6) ギョウジャニンニクのフレーバーに関する研究 (第3報) 揮発性成分の同定並びに乾燥粉末化の検討

(北大農化) 西村弘行, ○ハニイ・ウィジャヤ, 水谷純也 (道工試) 田中常雄

目的: 北方冷涼地帯に広く自生するギョウジャニンニク (*Allium victorialis* L.) は, 郷土色豊かな山菜として食用に供され, 成分分析と官能検査の結果, 主に *methyl allyl disulfide* (ニラ臭), *diallyl disulfide* (ニンニク臭), *dimethyl disulfide* (漬物臭) の混合物がフレーバーに大きく寄与していることを明らかにした¹⁾。今回は, 揮発性微量成分の同定並びにギョウジャニンニク利用方法の一つとして乾燥粉末化と成分変化について検討を行ったので報告する。

方法: 新鮮なギョウジャニンニク茎葉部を室温で微塵切りにし, ハッドスペースガス溶媒抽出法および直接溶媒抽出法の二つの方法で揮発性成分を抽出した。また茎葉部の乾燥粉末化は, 熱風乾燥法と凍結乾燥法によって行い, それぞれ 10g ずつ真空パックにした。以上のサンプルの成分比較は PEG 20M を化学結合パッキングしたシリカキャピラリーカラム (50m × 0.35 mm i.d.) を用い, グローブタイプスプリットレスインジェクターを内蔵させた日立ガスクロマトグラフ (263-30 FID) で行った。さらに同定は, 日本電子製 GC-MS (JMS DX 300) その他の機器を用いて行った。

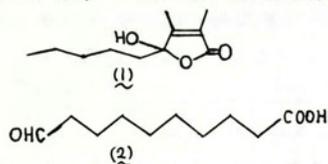
結果: 酵素反応によって生成した *alk(en)yl thiosulfinate* 類が, さらに不均化反応その他の各種の化学反応によって生じたと考えられる *disulfide* 類, *trisulfide* 類, 環化含硫化合物類が推定あるいは同定された。また乾燥粉末化した場合には新鮮なものより香りがマイルドになり *methyl allyl disulfide* × *diallyl disulfide* の量が相対的に少なかった。真空パックを室温に2ヶ月, 3ヶ月, 4ヶ月放置した場合の成分変化はほとんどなく, 品質保持上好ましいと思われる。(文献) 1) H. Nishimura, K. Fujiwara, J. Mizutani and Y. Obata, J. Agric. Food Chem., 19, 992 (1971).

(7) チモシーがまの穂病病徴部 (Choke) からの抗菌物質の構造研究 (第4報)
(北大農化, *草地試, **北農試)

越野広雪, 研谷啓, 吉原照彦, 坂村貞雄, 島貫忠幸*, 佐藤徹*, 但見明俊**

1. 目的 チモシー斑点病 (*Cladosporium phlei*) の抵抗性品種を育種する過程で、チモシーが、がまの穂病 (*Epichloe typhina*) に罹病した時、斑点病に対して抵抗性を示すことを認めた。この抵抗性発現には、病原菌ないしは罹病宿主植物が、抗菌物質を生成していると考えられる。これを明らかにするために、choke の抗菌物質の検索を行い、すでに五員環テルペン類¹⁾ 及び C₉, C₁₁ 脂肪酸について報告した²⁾。今回、他の抗菌物質について報告する。

2. 方法及び結果 圃場より採取した choke (20 Kg) を 70% EtOH に浸漬し、n-ヘキサンで抽出した。*Cladosporium herbarum* を用いた TLC bioautography を指標にして、n-ヘキサン可溶部 (172 g) を、シリカゲルカラム、HPLC などを用いて分画を繰返し、抗菌活性をもつ (1), (2) を各々 2mg, 3mg 単離した。(1) は分子式 C₁₁H₁₈O₃。EI-MS m/z: 199 (MH⁺), 180 (M⁺-H₂O), 127 (M⁺-C₅H₁₁)。IR ν_{\max}^{film} cm⁻¹: 3370, 1740。¹H-NMR $\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ ppm: 0.88 (3H, t, 6.4 Hz), 1.28 (6H, m), 1.75 (1H, ddd, 4.8, 9.2, 11.4 Hz), 1.82 (3H, q, 1.1 Hz), 1.94 (3H, q, 1.1 Hz), 2.00 (1H, ddd, 2.2, 4.4, 11.4 Hz), 3.03 (1H, brs, -OH)。[α]_D²⁵ = -6.7° (c 0.3 EtOH)。これらのデータより、(1) を hydroxydihydrobovolide と同定した。



(2) は分子式 C₁₀H₁₈O₃。EI-MS m/z: 187 (MH⁺)。IR ν_{\max}^{film} cm⁻¹: 3300~2500, 1700。¹H-NMR $\delta_{\text{TMS}}^{\text{CDCl}_3}$ ppm: 1.34 (8H, m), 1.63 (4H, m), 2.35 (2H, t, 7.3 Hz), 2.43 (2H, dt, 1.8, 7.3 Hz), 9.77 (1H, t, 1.8 Hz)。以上のスペクトルデータより、(2) を 10-oxodecanoic acid と同定した。

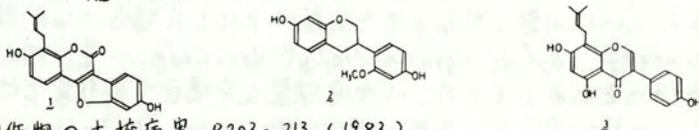
- 1). T. Yoshihara, S. Togiya, H. Koshino, S. Sakamura, T. Sato, T. Shimanuki and A. Tajimi. *Tetrahedron Lett.* (1985) 印刷中。
2). 越野, 研谷, 吉原, 坂村, 島貫, 佐藤, 但見。昭和 60 年度日本農芸化学大会講演要旨集 P. 547。

(8) アズキ落葉病菌により誘導されるアズキの抗菌性化合物の研究

(北大農化) ○阿部尚樹, 小坂 学, 佐藤博二, 坂村貞雄

目的; アズキ落葉病は北海道のアズキ栽培地域全般にわたり多大な被害を与えている。その病原菌として強い病原性をもつ *Cephalosporium gregatum* Type A 株と、ほとんど病徴を示さない Type B 株が分離されており、圃場において Type B が優占群となると、Type A への感染がおこせられるとの報告がある。本研究は、弱病原性 Type B で処理したアズキ根部に、誘導される抗菌性物質を検索し、その化学構造を明らかにすることを目的とした。

方法および結果; 圃場より採取したアズキ根部を、3~5 日間 *C. gregatum* Type B 培養液に浸漬後、70% EtOH で抽出した。抽出部をさらに酢酸エチルで抽出した。酢エチ抽出部を *Cladosporium herbarum* による TLC-bioautography に供したところ、未処理のアズキ根部酢エチ抽出部にはみられない多数の抗菌スポットが認められた。酢エチ抽出部を、シリカゲルクロマトグラフィーさらに PTLC、逆相 Lobar column 等により精製して、抗菌スポットより 4 個の化合物を単離した。NMR, MS, UV 等による機器分析の結果、基本骨格として Coumestan を有すると考えられる化合物 1、および既知イソフラボノイド 2 種 (Vestitol (2), 5,7,4'-Trihydroxy-8-isopentenyl isoflavone (3)) さらにフラバノン Naringenin を単離、同定した。1 は新化合物と考えられ、2 はマメ科植物の抗菌物質として知られているものであり、3 については、Yellow lupin からの単離が報告されている²⁾。



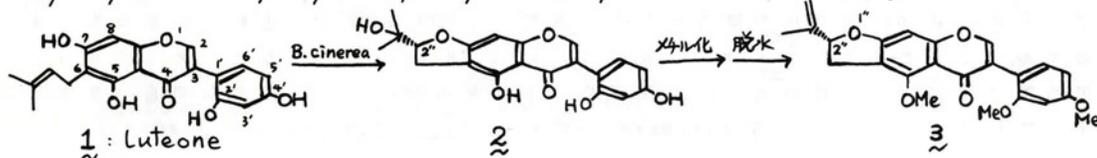
- 1) 宇井格生 北海道畑作物の土壌病害 P. 203~213 (1983)
2) 橋本泰之 日本農芸化学会昭和 60 年度大会講演要旨集 P. 177

(9) Dihydrofurano-isoflavone の立体構造について

(北大農化) °田原 哲士、水谷 純也

〔主旨〕 広くイソフラボノイドについては、ロテノイドやフテロカルパン、イソフラバノン等の立体化学に関する報告も決して少なくない。しかし、骨格そのものに不斉炭素を持たないイソフラボン類では、プレニル基の導入後修飾反応(環化や水酸化)を経て初めて不斉中心が出現し、200種程知られる天然イソフラボン中、不斉炭素を有するものはプレニルイソフラボンの微生物代謝産物を含めても1割前後と思われる。不斉中心を有するイソフラボンの旋光性や立体化学に関する記載は、我々の報告を除いては見当たらないようである。今回 dihydrofurano-isoflavone 類の立体構造、ひいてはそれらの生合成反応の立体化学を解明するために、Luteone metabolite BC-1 (2) の絶対構造の解析を試みた。

〔方法と結果〕 Luteone (1) の *Botrytis cinerea* による主代謝産物 BC-1 (2) $[\alpha]_D^{23} -99.9^\circ$ ($c=0.112$, MeOH) をアセトン中 $(CH_3)_2SO_4/K_2CO_3$ でメチル化し、次に $SOCl_2$ /pyridine で脱水、主生成物 3 を pyridine を含む CH_2Cl_2 中、 OsO_4 と反応させて osmate ester pyridine complex を形成させ、CD を測定 $470nm$ 付近の CD 極大の符号を立体化学既知の rotenone から誘導した osmate ester pyridine complex の符号(負のコットン)と比較し、3 の場合も $[D]_{475}$ に負の極大値が観察されたことから 2' 位の絶対配置が R と決定された。よって左旋性 2 の構造を 5,2',4'-trihydroxy-[2'(R)-(1-hydroxy-1-methyl)ethyl]-2',3'-dihydrofurano-[4',5':6,7]-isoflavone と結論した。



(10) 原料乳および市乳の遊離脂肪酸について

(北大酪研) 斎藤 善一

1. 目的 生乳の冷蔵中にリパーゼの作用により遊離脂肪酸 (FFA) が生成されるが、通常は均質化効果をもたなう処理や温度処理 (冷却-加温-再冷却) などの、いわゆる活性化処理をしないかぎり異常風味ランシッドを感じさせるにいたらない。均質化効果についてはよく知られているが、温度処理の影響はあまり研究されず重要とは思われていない。しかし、冷蔵時の温度上昇や、遠心処理時における加温などがあるので、温度処理の影響を調査し、市乳の FFA 量との関係を探察する。

2. 方法 搾乳直後の生乳を、そのまま、あるいは温度処理をした後に 0~2℃ に 24 時間保存し、その間における FFA の増加でリポリシスの程度を示した。FFA はフェノールレッド法により、パルミチン酸 (mg/ml) として示した。

3. 結果 搾乳後、5~25℃ として攪拌をしてもリポリシスの増加はみられないが、5℃ に冷却した後 15℃ 以上に加温し (1.5 分間) 再び冷却すると、その後におけるリポリシスは著しく増加し、30℃ に加温した場合が最も高い値 (0.4 mg/ml) を示した。0~2℃ に 20 時間冷蔵した後 10℃ 以上に加温 (2 分間) した場合もリポリシスは増加し、特に 20~25℃ 加温が高い効果を示したが、同温度における攪拌の影響は少なかった。個乳の場合、加温処理の効果も個体差が大きく (対照の 1.6~28.6 倍)、攪拌の影響にも差がみられた。朝乳に比べ夕乳のリポリシスが高いが (8 例平均 1.8 倍)、加温の影響も大きく、夕乳を冷却した後朝乳を加えた場合に温度上昇があればリポリシスが增大する可能性がある。

市乳の FFA は変動が大きく、ADV (N KOH ml/100g 脂肪) として牛乳では 1.3~6.0、加工乳では 1.9~9.3 であった。これは、殺菌工程以前における FFA の変動が大きいことを示唆している。

(11) N-サリチリデン-グリシン銅 (II) とハロゲン化アルキルの反応による α -アミノ酸生成法の再検討

(北大・農化) ○高西 隆則, 知地 英征, 桐山 修八

〔目的〕グリシン(Gly)のメチレン基を活性化して側鎖を導入し α -アミノ酸, 特に必須アミノ酸に導く方法が検討されており, スレオニン合成法のように工業的に確立されているものもあるが, 制限アミノ酸となりやすいメチオニン, リジン等については報告されていない。ペプチド結合しているGly残基を他の α -アミノ酸残基に変換する試みの一環として, Glyを効率良く他の α -アミノ酸に転換することができるかどうかを検討するために, 中原等の方法¹⁾及びそれをやや変更した条件下での, N-Salicylidene-glycinato-aquocopper (Sal-Gly-Cu)と種々のハロゲン化アルキル(RX)の反応生成物を精査した。その結果を報告する。

〔方法と結果〕先ず中原等の方法¹⁾により, Sal-Gly-Cuと大過剰のRXを多量のKOH存在下DMPF中で反応させた。その結果文献¹⁾とは異なり, Me-Iとの反応の主生成物は α -アミノイソ酪酸, 次にサルコシンで, 目的のアラニンの収率は極めて低かった。又 $(\text{Me})_2\text{CH}\cdot\text{Br}$, 及び $(\text{Me})_2\text{CHCH}_2\cdot\text{Br}$ との反応でも目的とするバリン, ロイシンの生成量は極めて低かった。更に前者からは微量のDiGlyが生じた。次にNaOEtを用いDMSO中で $(\text{Me})_2\text{CH}\cdot\text{Br}$ と反応させるとバリン生成量は増加した。  $\text{CH}_2\cdot\text{Cl}$ との反応では目的のフェニルアラニンとその β -OH-誘導体であるフェニルセリンが少量ずつ生じた。しかし, $\text{MeSCH}_2\text{CH}_2\cdot\text{Cl}$ との反応では目的とするメチオニンは得られず, その β -OH-誘導体¹⁾が得られた。これ等 β -OH-誘導体の生成は, 原料中に夫々のアルデヒドである  CHO , 或いは $\text{MeSCH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ が存在したためと考えられ, 現段階ではGlyの錯体とRXの反応による種々の α -アミノ酸の効率良い生成には至っていない。

1) A. Nakahara, et al., Bull. Chem. Soc. Japan, 40, 2212 (1967)

S1 新植物生長物質(ブラシノライド) — その化学・生理・応用研究における最近の発展

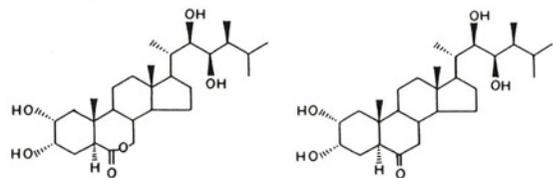
東京大学農学部農芸化学科 横田孝雄

ブラシノライドはステロイドとしてははじめての植物生長物質である。そのアブラナ花粉からの単離以来、すでに6年を経過し、その間かなりの量の研究結果が蓄積した。ここでは筆者らの仕事を含めて天然物化学的側面を概括するとともに、その生理作用における特徴ならびに応用面についても述べてみたい。

1. 植物に存在するブラシノステロイド ——— ブラシノライドの発見以後、14種類のブラシノライド類縁体(ブラシノステロイドと総称される。BRと略す)が見出され、その構造が決定されてきた。さらにはこれらのすべては合成されている(森ら、池川ら)。これらの単離・構造決定・合成のかなりの部分が日本の研究者によってなされたことはここに記しておきたい。BRの存在が確認された植物は14種類にのぼっており、その分布は被子植物(8種の双子葉と3種の単子葉)、裸子植物(2種)から藻類(1種)にまで広がっている。BRの分布は普遍的なものと考えてよいであろう。一方筆者らはインゲン未熟種子に未知のBRが多数含まれることを明らかにしており、近い将来天然BRの種類が増えることも確実である。一方BRは植物のほとんどすべての部位から見つかった。即ち花粉(アブラナ、ガマなど)、未熟種子(フジマメ、インゲンなど)、葉(クリ、チャイソキ)、新梢(アラスカトウヒ)、蕾(クリ)、茎(クリ)などである。中でも花粉や未熟種子における含量は高く(数100μg/kg)、またBRには花粉管伸長作用があるということなので(Sasse 1985)、BRは栄養生長ばかりでなく、生殖生長にも重要な役割を果していると思われる。

2. 生理作用 ——— BRはジベレリン、オーキシンならびにサイトカイニン様の活性を併せ有しており、その生理作用のメカニズムは単純ではない。しかしながら、最も特徴的なことはオーキシンのバイオアッセイ系に顕著な活性を示すことである。ここで重要なことは、インゲン第一節間キウリ胚軸を用いた実験においてBRとオーキシンの間に強い相乗効果が認められることである。

このような事実および様々な実験データから、ブラシノライド自身が直接生長促進作用を示すのではなく、オーキシンを介して作用を発現すると考えられている。さらにBRはオーキシンに対する植物組織の感受性を増大させるという証拠もある。近年「植物の生長は内生植物ホルモンレベルの変化とい



ブラシノライド
カスターステロン
(代表的なブラシノステロイド)

うよりむしろホルモンに対する組織の感受性の変化としてとらえるべき」と主張されはじめているが、BRはこの感受性の問題を解決する有効な手段となるかもしれない。

3. 応用 ——— アメリカ農務省によればBRを幼植物にスプレーしたり、種子処理すると全体的な成長が良くなり、成熟・収穫が早まるという(レタス、ハツカダイコン、ジャガイモなど)。この作用は成長の悪い個体において顕著であり、光によって影響を受ける。最近日本の民間および大学においても種々の作物に対する増収効果が確認されている。例えば、イネやコムギは開花期処理により弱勢穂花の結実が促進され、その結果として収量が増加する。一方低温・寒害・病原菌・塩による障害などの環境ストレスに対する緩和効果もある。これらの「効果」が農業技術となるかどうかは大いに興味のもたれることである。

82 固定化生体触媒の新展開

(京大・工・工化) 田中 滉夫

生体触媒の固定化とその応用に関する研究は、すでに第二世代に入ったとされている。すなわち、単一の酵素や微生物菌体を固定化して加水分解、付加、異性化など単一の反応を行わせることから、複数の酵素、細胞内オルガネラ、微生物菌体、さらには動物細胞を固定化して、より複雑な反応を行わせたり、有機溶媒中のような特殊環境下で生化学反応を行わせることに移りつつある。また、遺伝子組換えや細胞融合によって育種した細胞の固定化とその応用も、第二世代の研究に含まれる。ここでは、いくつかの話題について、筆者らの最近の研究成果を中心に述べてみたい。

有機溶媒中での生化学反応——化学工業において扱われる化合物の多くは疎水性、水難溶性であり、これらの化合物の生化学的変換には結晶発酵法や液-液二層発酵法が用いられてきた。しかしながら、固定化生体触媒の長所の一つである反応の連続化を考へるとき、均一な反応系を構築することが必要となる。この目的のためには、基質や生成物を十分に溶解しうる有機溶媒の導入が必須となる。一、加水分解酵素を合成反応や基転位反応に用いる場合、反応系の水含量を減少させなければならず、この際にも反応溶媒として有機溶媒が利用される。以上のような例として、ステロイドの脱水素反応、テルペンの光学分割、トリグリセリドの変換などを挙げる事ができる。

固定化生細胞の利用——生体触媒を用いて複雑な合成反応や変換反応を行わせるためには、生細胞の持つ代謝機能を利用しなければならぬが、生細胞を固定化することにより連続生産システムを組み立てることが可能となる。エタノールの発酵生産についてはすでに大規模での研究が進んでいるが、ステロイドの水酸化や抗生物質の発酵などにおいても固定化の有利さが示されている。

S3 ヒト尿中酵素の特性とその利用

(大阪市立大学・理学部) 南浦 能至

ヒト尿中には少量ではあるが種々の酵素、たとえば尿1リットル当り α -アミラーゼ、ウロペプシノーゲンあるいはRNA分解酵素はそれぞれ大略0.5-1.0mg、また医薬として利用されているウロキナーゼは約0.05-0.08mgが正常成分として含まれている。一方、ヒト尿は我々がなんら制約を受けることなしに取り扱うことのできるヒト起源酵素の唯一の給源である。ヒト尿から得られる酵素は血栓症治療薬ウロキナーゼに見られるように免疫学障害なしに静注薬として使用できる種特異的特質を有するのみならず、病態の診断にしばしば応用されているイムノアッセイのための抗原として直接利用できる利点もを有している。それにもかかわらず、上記ウロキナーゼや目下研究段階にある尿カリクレインなど2・3の酵素を徐き、ほとんどのものが顧みられていないのが現状である。また、ヒト尿中には種々酵素の存在することの指摘や尿のそれら酵素活性と病態との関連性についての報告は数多いが、それら酵素のほとんどのものが、その分離精製法についてはもちろん詳細な酵素化学的・蛋白化学的性質が明らかにされていない。また、未知の酵素の存在の可能性も大いに考えられる。演者らは上述の観点から、未利用のままそのほとんどが廃棄されているヒト尿中の酵素をより一つでも多く純化して、その酵素化学的・蛋白化学的性質を明らかにして、起源臓器組織を突き止め医学的応用途の基礎とすべく若干のものについて検討してきた。今回は、演者らがこれまで行ってきた研究の一端、すなわちヒト尿中の種々酵素の可久的分離精製法、報告されていない新既と思われるDNA分解酵素、 α -グルコシダーゼの起源臓器組織、ウロペシノーゲンの活性化機構あるいはモノクローナル抗体を利用する唾液型および臍型 α -アミラーゼアイソザイムの分別定量など中心に話題を提供させていただき、御批判を仰ぎたい。

動物におけるタンパク質代謝（アミノ酸代謝も含む）は生理状態の変化に応じて際立った臓器特異性を示しながら調節を受けている。従って、その全体像を理解するためには各臓器（肝、筋肉、腎、小腸、脳、etc.）での多様な代謝を正確に把握し、かつ総合していかねければならない。近年、ようやくその種の栄養学、生化学上の知見が蓄積しつつあり、臓器特異性及び相関性に基づいた活発な議論が展開されるようになった。初めにそれら一般的な概観をした後、我々の研究室の後肢筋灌流法について紹介し、主に筋肉に焦点を絞って以下の二つの話題を提議したい。

1) 筋肉でのタンパク質分解

筋肉タンパク質の代謝回転は肝臓に比べてかなり緩慢であるか（4-8%/日 vs 40-60%/日）、その体内に占める大きさ（約45%）ゆえに極めて重要である。特に筋肉のタンパク質分解が生理的意義を持つ例としては、絶食時に肝臓での糖新生に対してアミノ酸（炭素骨格）を供給するという役割がよく知られている。ところが、肝心の分解速度の測定法に関しては合成速度に比べてまだ問題点が多く、数々の矛盾に満ちた結果で溢れている。近年、*in vivo*での筋肉タンパク質分解の指標として尿中3-メチルヒスチジン（3-MH）排泄量の測定が盛んになったが、この方法では筋肉以外の臓器の影響が無視できない。そこで我々はこの方法の欠点を克服すべく灌流後肢筋で3-MH放出量を測定し、*in vivo*と*in vitro*のかけ橋となり得る新しい、より正確な分解速度測定法を開発して従来法であるTyr放出法と比較した。その結果、3-MH放出量は種々の生理条件に敏感に反応し、また、絶食や糖尿病などで筋肉内のタンパク質分解がheterogenousに調節を受けている可能性も示唆されるに至り、3-MH法は筋肉内の、特にミオフィブリンタンパク質分解の指標として有効であることが認められた。

2) 分岐鎖アミノ酸の代謝

分岐鎖アミノ酸（Leu, Val, Ile）と筋肉とは縁が深い。従来よりこれらのアミノ酸は他の多くのアミノ酸と異なり、筋肉で代謝されると言われてきた。また、特にLeuは筋肉でのタンパク質合成促進、分解抑制という特異的な調節作用を持つことも知られている。更に最近では、臨床場で肝性昏睡時の著しい覚醒作用（脳・神経系への影響）が指摘されている。ところが、最近Harperにより、これら分岐鎖アミノ酸の代謝は酵素の臓器局在性（BCAA transaminaseは主に筋肉、BCKA dehydrogenaseは主に肝臓に存在）から、最初の脱アミノ反応は筋肉で起こるか次の酸化脱炭酸反応以降は主として肝臓で進行するという特異な臓器相関性が提唱された。我々はこの仮説に対して検討を加えたところ、必ずしも完全な臓器分担が行われているのでは無く、一部ではあるが常に筋肉自身でも完全酸化が起こっていることが判明した。現在、この筋肉での酸化は運動時などでは大きく促進されることが推定されている。しかしながら、一体なぜ生体内で分岐鎖アミノ酸だけが臓器相関的代謝を行うのか、そしてこれがLeuの筋肉タンパク質代謝回転に対する調節作用と何らかの関連があるのか、更にはこれが果して神経系にどのように関わってゆくのか、いずれも全く明らかにされておらず、将来に残された大きな課題である。

S5 遺伝子工学の応用における問題点
(阪大・工・醸酵) 今中忠行

組換えDNA分子の作成と宿主菌の形質転換法を背景とした遺伝子操作技術を利用して、多数の遺伝子が既にクローン化されている。更に、DNA塩基配列決定法や位置特異的変異法が一般化するにつれ、生物機能をDNAレベルで人為的に制御し得るようになってきた(遺伝子工学)。

有用物質の工業生産に向けて、遺伝子工学の応用を考える場合、クローン化された遺伝子の十分な形質発現と、組換えプラスミドの安定性が肝要である。しかしこれは一般に相反的であり、目的達成のためにはいずれの制御過程でも最適レベルが存在するものと予想される。本シンポジウムではこれらを考慮しつつ、以下の項目につきその問題点と解決法について述べてみたい。

- A) 一次代謝産物としてのトリプトファン生産
 - 制御系の解除法
 - 目的産物に応じたプラスミドの最適コピー数決定
 - 回分培養と連続培養の比較
- B) 二次代謝産物としてのストレプトマイシン生産
 - 宿主の選定とベクターの開発
 - 生合成酵素遺伝子群の構造
 - 固体培養と液体培養の特性
- C) ヤブチド産物の物性改良
 - 酵素のアミノ酸置換と耐熱性の変化
 - 酵素の触媒活性発現部位の推定
- D) 組換えプラスミドの安定性
 - 不安定性要因の解析
 - 安定性の推算
 - 組換えプラスミドの安定化策

日本農芸化学会北海道支部総会

昭和60年12月12日(木) 14:00~14:30

於：北海道大学学術交流会館小講堂

合同懇親会

昭和60年12月12日(木) 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）

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