

合同学术講演会

講演要旨

期日：昭和63年7月23日(土)
場所：帯広畜産大学講義棟

日本農芸化学会北海道支部
日本土壤肥料学会北海道支部
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2496・3352

学術講演会

午前の部

◎一般 講演 (9:30~11:45) (講演時間12分, 討論3分, ○印:講演者)

A 会場

(座長, 及川英秋)

9:30 A-1 新型ジガラクトシルジアシルグリセロールの分布と季節的変動について
(帶畜大農化) 小嶋道之, ○白木英行, 大西正男, 伊藤精亮

9:45 A-2 コウボウムギの抗菌性テトラスチルベンkobophenol Aの立体化学
(北大農化) ○栗原秀幸, 川端 潤, 水谷純也

(座長, 川端 潤)

10:00 A-3 トマト台木・耐病新交1号の成分研究(第5報)
(北大農化) ○大羅順子, 長岡俊徳, 吉原照彦, 坂村貞雄

10:15 A-4 チモシーがまの穂病病徵部からphytyl palmitateの単離とその生物活性
(北大農化, *北農試, **草地試) ○越野広雪, 吉原照彦,
坂村貞雄, 但見明俊*, 島貫忠幸**, 佐藤 徹**

(座長, 佐藤博二)

10:30 A-5 塩化銅処理により誘導的に生成されるセイヨウタンボボの抗菌性物質について
(北大農化) ○塙 藤徳, 田原哲士, 原田靖之, 水谷純也

10:45 A-6 拮抗微生物によるアズキ立枯病発病抑制とその作用機作の解明
(道立衛研, *道立中央農試) ○長谷川伸作, 児玉不二雄*

(座長, 鍋田憲助)

11:00 A-7 トリ型結核菌 *Mycobacterium avium* の長鎖脂肪酸伸長酵素系に対する
抗結核剤イソニコチン酸ヒドログリド(INH)の作用機序
(室工大化工, *川崎医大, **ワシントン州立大) ○菊地慎太郎,
日下 喬*, P.Kollattukudy**

11:15 A-8 高等植物の越冬中におこる G6P と GSH の濃度低下
(北大低温研) 勾坂勝之助, ○奥田 徹

11:30 A-9 耐寒性の異なる秋播小麦の示す細胞構造の変化
(北大低温研) ○松田祐介 勾坂勝之助

B 会場

(座長, 吉田 忠)

9:30 B-1 宿主特異性の異なるアズキ根粒菌(*Bradyrhizobium* sp. (*Vigna*))の性質の比較について
(帶畜大農化, *十勝農協連研究所) ○野原康徳, 佐藤哲也, 菅原四郎,
伊藤 晃*

9:45 B-2 好アルカリ微生物によるパルプ・スラッジ焼却灰の処理に関する研究
(I) 好アルカリ微生物の分離と処理反応の基礎的検討
(室工大化工) ○竹田公一, 安居光國, 竹内隆男, 菊地慎太郎

10:00 B-3 甜菜生汁および廃糖蜜の*Aspergillus terreus* K 26によるイタコン酸酵素 (帯畜大農化) ○中川允利, 上家一則, 石橋憲一, 弘中和憲 (座長, 松井博和)

10:15 B-4 *Corticium rolfsii*による生澱粉糖化酵素の生産 (第11報)
プロトプラスト菌体の調製と再生変異株の酵素生産性
(北大農化) ○黒澤和彦, 佐藤 潔, 佐々木博, 高尾彰一

10:30 B-5 *Corticium rolfsii*による生澱粉糖化酵素の生産 (第12報)
生澱粉分解性グルコアミラーゼの精製と性質 (IV)
(北大農化) ○黒澤和彦, 佐々木博, 高尾彰一

10:45 B-6 牛免疫グロブリンの熱安定性に対する荷電基の影響について
(帯畜大酪農化学) ○島崎敬一

(座長, 島崎敬一)
11:00 B-7 メチオニン過剰摂取による脾プロテアーゼ活性の上昇と脾外分泌応答
(北大農化) ○谷藤 健, 知地英征, 桐山修八

11:15 B-8 ギョウジャニンニクの培養とプロトプラストの単離および融合
(北東海大生物工学, *北大農場) ○笠原宏一, 西村弘行, 中嶋 博*

午後の部

◎北海道農芸化学協会総会 (13:00~13:30)

◎特別講演 (13:30~15:30)
エネルギーと物質の流れの場としてみた土壤 (北農試農芸化学部) 細瀬辰昭
(座長, 佐久間敏雄)

日本の甜菜糖製造技術について (日甜総合研究所) 佐山晃司
(座長, 菅原四郎)

◎懇親会 (16:30~) 帯広ステーションホテル
(JR帯広駅構内, ☎0155-23-2188)

札幌帯広間主要列車時刻表

札幌発	帯広着	帯広発	札幌着
8:04	10:50 (特急おおぞら1号)	1:20	6:52 (急行まりも)
9:57	12:54 (特急おおぞら3号)	7:27	10:15 (特急おおぞら2号)
11:15	14:15 (特急おおぞら5号)	9:40	12:35 (特急おおぞら4号)
12:20	16:24 (急行狩勝)	10:50	13:25 (特急おおぞら6号)
14:11	17:04 (特急おおぞら7号)	12:21	15:12 (特急おおぞら8号)
16:35	19:13 (特急おおぞら9号)	14:01	18:18 (急行狩勝)
17:58	20:47 (特急おおぞら11号)	15:26	18:20 (特急おおぞら10号)
20:00	22:55 (特急おおぞら13号)	17:20	20:14 (特急おおぞら12号)
23:00	3:11 (急行まりも)	19:03	21:54 (特急おおぞら14号)

A-1

新型ジガラクトシルジアシルグリセロールの分布と季節的変動について
(帝大農化)

小嶋道之, ○白木英行, 大西正男,
伊藤精亮

1. 目的: 先に著者らは、従来より知られている植物ガラクト糖質、ジガラクトシルジアシルグリセロール(DGDG):Gal(α 1-6)Gal-DG(A型)とは糖のアノマー配位のみが異なる新型Gal(β 1-6)Gal-DG(B型)について豆科植物での分布およびその分子種組成を明らかにした。今回は豆科以外の被子植物、裸子植物、シダ類、コケ類および藻類でのB型の分布を調べるとともにオウシュウクロマツ葉中のB型DGDGの季節的変動を分子種レベルで明らかにしようとした。

2. 方法: 各種植物から常法に従ってDGDGを分取精製した。これを脱アシル化してからGLCに供し、A型とB型の割合を求めた。また各月ごとに採取したオウシュウクロマツ葉から分離したDGDGは、逆相HPLCに供して分子種組成の変動を調べた。A型とB型のDG残基の分子種組成は分取した各分子種中の両型の割合を求めて算出した。

3. 結果: 調査した16種の被子植物、8種の裸子植物および3種のコケ類葉のDGDGには、量的には異なるがすべてにB型が認められた。なかでもイネ、オウシュウクロマツ、セイタカスキ、コケなどでは、全DGDGに対して5~10%の割合で多く含まれていた。一方、7種のシダ類と6種の藻類のうち、スキナ、モザキヒトエなど4種には1~6%のB型が検出されたが、他の植物種ではA型のみからなっていた。また、イネ葉中のDGDGのA型とB型の割合を経時的に調べたところ、4% (発芽後30日目) から7% (57日目) まで増大したが、75日目には1%に減少した。

オウシュウクロマツの葉DGDGでは、9月から11月までは実質的にA型のみであったが、12月にはB型が認められた。その割合は4月まで増加(全DGDGの約10%)し、その後は減少した。両型のDG残基の分子種組成は、各時期においてほとんど変化せず、主要な分子種はA型では18:3-18:3と16:0-18:3、B型では18:3-18:3と18:3-16:3であった。

A-2

コウボウムギの抗菌性テトラスチルベンkobophenol Aの立体化学

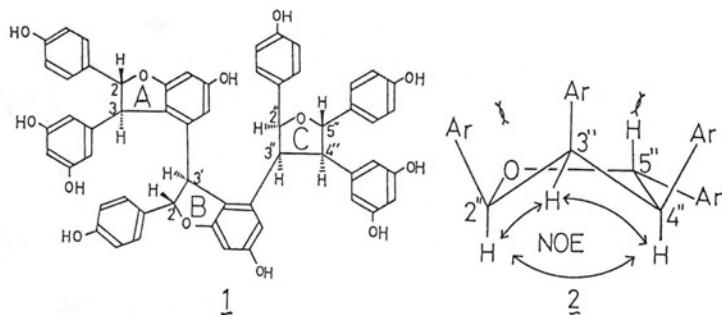
(北大農化) ○栗原秀幸、川端潤、水谷純也

1.目的 演者らは、高等植物の内在抗菌成分の検索過程で、カヤツリグサ科のコウボウムギ(*Carex kobomugi*)からresveratrol(3,5,4'-trihydroxystilbene)四量体kobophenol A(1)を単離、平面構造を決定した¹⁾。本報では、主として2-D NMRスペクトルを用いて、1のH,Cのシグナルを完全に帰属し、相対配置を決定したので報告する。

2.方法及び結果 1のH COSY, C-H COSY, ロングレンジC-H COSYを測定し、H,Cのシグナルを帰属した。また、PSNOESYを測定し、相対配置を以下のように決定した。① 2,3,4,5-テトラアリルオキソラン環C(2)の2",3",4"-H間でそれぞれNOE

がみられるが、5"-Hとはみられない、等から2の相対配置をrel-(2"S,3"S,4"R,5"S)と決定した。② 2,3-ジアリルジヒドロベンゾフラン環A, Bの3,3'位、C環の3"位は相互にNOEがみられ、A,B,C環に置換した1,4-二置換、1,3,5-三置換ベンゼン環の各H間のNOE及び各ベンゼン環のしゃへい効果から、A, B環の相対配置をrel-(2R,3R,2'S,3'S)と決定した。

1)市川ら、日本農芸化学会60年度大会要旨集、P571



A-3 トマト台木・耐病新交1号の成分研究（第5報）

（北大農化）○大羅順子，長岡俊徳，吉原照彦，坂村貞雄

1. 目的 演者らは、接木による病害抵抗性機作の解明の目的でナス科台木抗菌物質の検索を行なっており、既にトマトの台木である耐病新交1号 (*Lycopersicon esculentum* × *L. hirsutum* var. *glabratum*, hybrid) の根より2種の新規ステロイド類¹⁾と5種の新規ステロイドアルカロイド^{2,3)}を単離している。今回は、更に、新規ステロイドアルカロイド¹を単離したので報告する。

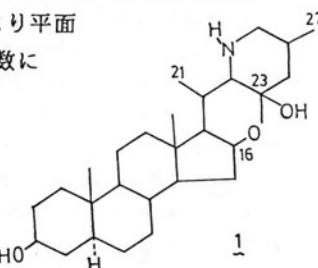
2. 方法及び結果 圃場で生育した耐病新交1号の根を70%エタノールで抽出し、減圧濃縮後、エーテル次いで酢酸エチルで抽出した。この酢酸エチル抽出部をシリカゲルカラムクロマトグラフィー等の分画操作により¹を4.2mg結晶として単離した。この化合物は、m.p. 215~219°C, MS m/z 431 (M)⁺で、¹H-NMR, ¹³C-NMRが、現在までに報告したステロイドアルカロイド類と類似している事と *Solanum aculeatum* より単離された 3-desamino-3 β -hydroxysolanocapsine⁴⁾ のスペクトルデータより平面構造を¹と推定した。更に27位のメチル基は、カップリング定数によりエカトリアルに存在すると決定した。23位の水酸基の立体化学と抗菌活性については、現在、検討中である。

文献 1) T. Nagaoka et al. phytochem., 26, 2113 (1987)

2) 長岡ら、日本農芸化学会講演要旨集 62. p. 507

3) 大羅ら、日本農芸化学会講演要旨集 63. p. 332

4) F.Coll et al. phytochem., 22, 2099-2100 (1983)

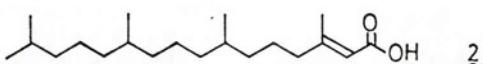
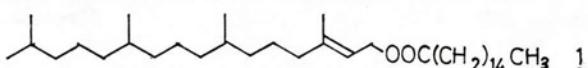


A-4 チモシーがまの穂病病微部からphytetyl palmitateの単離とその生物活性 （北大農化，北農試，草地試）

越野広雪，吉原照彦，坂村貞雄，但見明俊，島貢忠幸，佐藤徹

1. 目的 チモシーは、がまの穂病菌 (*Epichloe typhina*) に感染することにより、斑点病 (*Cladosporium phlei*) に対して抵抗性を示す。抵抗性発現に抗菌物質が関与していると考え、がまの穂病菌と宿主の相互作用の場である病微部 (choke) の抗菌物質を中心とした成分研究を行い、既に数種の化合物について報告してきた。¹⁾ 抗菌物質を検索中、抗菌活性の指標にしている *C. herbarum* 菌を用いた TLC bioautography で、抗菌活性は示さないが、TLC ブレート上に、他の部分より暗緑色の濃いスポットを形成する化合物の存在が認められた。今回、その化合物の単離と、微生物に対する生物活性について報告する。

2. 方法及び結果 がまの穂病病微部 (20 kg) の70%エタノール浸漬抽出物より、n-ヘキサン可溶部 (172 g) を得た。各種クロマトグラフィーを繰り返し、上記活性を示す化合物 (¹) を34mg単離した。MS, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR及び、合成品との比較により、化合物 (¹) を phytetyl palmitate と同定した。¹ は 1000ppm の濃度でも Czapex-Dox 寒天培地上で *C. herbarum* 菌の菌叢成長の阻害を示さなかった。さらに詳細な生物活性について現在検討中である。また、¹ の関連化合物である phytanic acid ² を 3.4mg 単離し、各種スペクトルデータ及び、phytolの酸化物との比較により同定した。

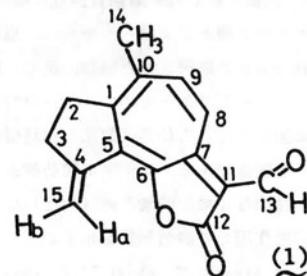


1). 越野ら 日本農芸化学会昭和63年度大会講演要旨集 p. 333.

(北大 農化) ○塙 藤徳、田原 哲士、原田 靖之、水谷 純也

1: 目的 植物は防御機構の1つとして病原菌の感染刺激により、ファイトアレキシンと呼ばれる抗菌性物質を誘導的に生成する。これらの抗菌性物質は生体の感染刺激のみならず重金属や紫外線などの非生物的方法によるストレスを与えることによっても生成されることが知られている。¹⁾ 我々は高等植物に重金属ストレスを与えることにより誘導される抗菌物質を検索する過程で、セイヨウタンポポ (*Taraxacum officinale* Web.) を塩化第二銅水溶液処理すると、少なくとも2種類の抗菌性物質が誘導的に生成されることを見いだした。これらの化合物の単離、構造決定を試みた。

2: 方法及び結果 セイヨウタンポポ葉部を3mMのCuCl₂水溶液に浸漬し、24時間後浸漬液をEtOAcで抽出した。抗菌活性本体は *Cladosporium herbarum* を検定菌とする TLC bio-autography によって検出した。主成分TF-1-1をシリカゲルカラムクロマトグラフィーと結晶化により単離した。各種スペクトル分析により本物質は高度に共役系の伸びたセスキテルペンラクトン構造を有していると推定された。部分構造の決定ならびに文献検索の結果、TF-1-1はレタスのファイトアレキシンとして報告された lettucenin A(1)²⁾ と同一化合物であることが分った。セイヨウタンポポ、レタスは共に Compositae - Lactucoideae; tribe Lactuceae に属する。本物質は TLC 板上(厚さ0.25mm)、*C. herbarum* の増殖を 6.25μg/cm² で完全に阻害した。1) J. A. Bailey, "Phytoalexins" ed. by J. A. Bailey and J. W. Mansfield, Blackie, Glasgow, 1982, pp. 289-318. 2) M. Takasugi et al., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1985, 621.



A-6 拮抗微生物によるアズキ立枯病発病抑制とその作用機作の解明

○長谷川伸作、児玉不二雄* (北海道立衛研, *北海道立中央農試)

目的 先に、*Fusarium oxysporum* に起因するアズキ立枯病の生物防除を試み、拮抗微生物を用いた種子バクテリゼーションにおいて本病発病抑制効果を確認した^{1,2)}。今回、これら拮抗微生物による本病発病抑制の作用機作の解明を試みたので報告する。

方法ならびに結果 アズキ立枯病菌 *F. oxysporum* FA-3 株に対し、*Pseudomonas cepacia* B-17, *P. fluorescens* NS-7371, *P. aeruginosa* S-7, *Streptomyces* sp. No.2, St. sp. B-6 および St. *flavescens* Y-1 は逆層法ならびに対峙培養法で強い抗菌活性を示した。B-17株およびNS-7371 株から pyrrolnitrin, S-7 株から フェナジン系化合物の3種, Y-1 株から monazomycin 類似の antibiotic Y-1, 他の2株からはアミノグルコシド系抗生物質の産生が認められた。FA-3株に対する抗菌性物質のMICは、順に 3.13, 100~200, 3.13, 25, 50 μg/ml であった。pyrrolnitrin および antibiotic Y-1 の 1 および 10 μg/ml 含有培地上で、FA-3株の菌叢の拡大は完全に抑制されるか、または密となる異常生育を示した。他では 100 μg/ml で効果を示した。発病抑制試験は、温室内ポット (FA-3株 10⁵ spores/g 人工培土)へ、拮抗微生物 (10⁸個/ml 菌液)に浸漬したアズキ種子を播種し、効果を観察した。導管部に FA-3株が侵入し、褐変が生じたものを発病株として、発病率を算出した。その結果、無処理区の発病率 76.3% に対し、B-17株処理区で 8.8% に低下し、最も強い効果が認められた。また、Y-1株, 9.0%; S-7株, 11.6%; No.2 株, 15.2%; NS-7371株, 20.5% の発病率で明らかな効果があった。これら良好な発病抑制効果が示された場合、アズキ根圏における拮抗微生物の増殖、抗菌性物質の産生と、それに伴う病原菌 FA-3株の減少とが認められた。一方、効果が示されなかつた場合は、共通して拮抗微生物菌数の増加がなく、FA-3株の増加が認められた。圃場試験では、B-17株処理区で発病率が 88% から 58%, S-7株処理区では 63% の低下に止まった。放線菌 Y-1 株, No.2 株ではメチルセルロース処理により、それぞれ 38%, 41% に低下した。拮抗微生物による本病抑制作用には、アズキ根圏における拮抗微生物の増殖や抗菌性物質産生が関与していると考えられた。

1) 農芸化学会大会昭和60年度 p.70, 62年度 p.494, 2) *J. of Pharmacobio-Dynamics* 10, 57 (1987)

A-7 トリ型結核菌 *Mycobacterium avium* の長鎖脂肪酸伸長酵素系に対する抗結核剤イソニコチニ酸ヒドрагид (INH) の作用機序
○菊池慎太郎 (室工大・化工), 日下喬 (川崎医大), P. Kollattukudy (ワシントン州立大学)

1. 目的 抗酸菌に特異的な静菌剤であるイソニコチニ酸ヒドрагид (以下, INH と省略) の作用については, *in vivo* の研究結果から, 本薬剤が, 抗酸菌に特徴的な炭素数 24 以上の長鎖脂肪酸やあるいは抗酸菌細胞壁主成分である α -分岐極長鎖脂肪酸 (ミコール酸, 炭素数 40-60 程度) の合成を阻害することが推定されているが, *in vitro* における研究結果はほとんど報告されておらず, したがって本薬剤の詳細な作用機序については不明な点が多く残されている。われわれは, 抗酸菌の一種であるトリ型結核菌 *Mycobacterium avium* より分離した長鎖脂肪酸合成 (伸長) 酵素系の活性が *in vitro* において INH により阻害されることを見いだしたのでその結果について報告する。

2. 方法 長鎖脂肪酸合成 (伸長) 酵素系は, 牛胎児血清添加 McCarthy 培地で培養した *M. avium* から既に報告した方法¹⁾ に従って分離した。合成 (伸長) 酵素活性は, 適当なプライマーの存在下における縮合単位 (¹⁴C-マロニル-CoA) のベンタン抽出画分への取り込みを測定することによって行った。反応生成物の同定はラジオ-GC, あるいは GC-MASS 分析によって行った。

3. 結果 *M. avium* 細胞質画分には, NADPH の存在下でマロニル-CoA を縮合単位としてプライマーであるパルミチン酸を炭素数 18 から 30 程度の脂肪酸へ伸長する酵素系が存在した。この酵素系は, 大腸菌の脂肪酸 de novo 合成酵素系と同様, 反応に関与する成分酵素が細胞質内で各々独立して存在する multi-enzyme complex 型であったので, 各成分酵素をそれぞれ分離した後これらを再構成し, この再構成酵素系に INH を添加したところ伸長 (飽和) 脂肪酸画分への放射性マロニル-CoA の取り込みが減少し, かわって伸長反応の中間体である β -ケト脂肪酸あるいはヒドロキシ脂肪酸が蓄積した。これらの結果より, INH は抗酸菌に特徴的な長鎖脂肪酸合成 (伸長) に関与する酵素系, とくに還元反応に関与する酵素系において NADPH と拮抗的に作用して静菌効果を示すことが推定された。

1) Kikuchi, S. et al. J. Biochem. 92, 839 (1982) 94, 1045 (1983) 96, 841 (1984)

A-8 高等植物の越冬中におこる G6P と GSH の濃度低下
勾坂 勝之助, ○奥田 徹
北大低温研

目的: 越冬機能が充分に高くなったポプラや低温に順化した秋播小麦は越冬中、ほぼ一定の G6P と GSH 濃度を維持して細胞を還元状態に保つことが出来る。しかし、低温環境におかれる期間が長くなるとポプラなどは褐変化がおこって生存出来なくなる。この機構を調べるために長期間凍結保存したポプラ枝条中の G6P と GSH の濃度変化をしらべ、あわせて H_2O_2 の除去反応機構による上記基質の減少を想定したモデル実験を行った。

方法: ポプラの枝条を -10°C に保存して用いた。皮層部と材部から 0.2N HClO₄ を用いて抽出液を調製し、これに含まれる G6P と GSH 等の定量を行った。G6P は G6PDH を用いる比色法によった。GSH の定量はグルタチオン還元酵素と 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic acid) を用いて行い、GSSG の定量には 2-Vinylpyridine 処理した抽出液を用いた。

結果: 通常の越冬期間中、G6P と GSH の濃度低下はおこらないが長期間になると明瞭な濃度低下がみられた。組織中に含まれる庶糖濃度の変化はみられないでこれからグルコースを経て G6P を合成する反応系が進まないものと思われる。皮層組織を H_2O_2 で処理すると明瞭な G6P と GSH 低下がおこり、 H_2O_2 を除去したのち 4°C と -10°C に保つと GSH のレベルは回復したが、枝条と同様に -10°C で G6P 濃度の回復はみられなかった。

A-9 耐寒性の異なる秋播小麦の示す細胞構造の変化

浅田 実 ○松田 祐介 匂坂 勝之助

北大低温科学研究所

1:目的 高等植物が越冬する為の一要因として、その細胞の酵素活性および細胞内基質の水準を正常に維持する機能等が要求される。したがって越冬能力の高い植物はこの調節機能の高いことが考えられ、これらのこととは細胞の微細構造にも現れてくるものと考えられる。演者らは試料として耐寒性の異なる秋播小麦の2品種を用い、越冬中の細胞構造の推移を電子顕微鏡により観察した。この報告では2品種間で得られた結果から、耐寒性との関係について考察を加える。

2:方法 ホロシリコムギ（耐寒性強）と農林61号（耐寒性弱）の2品種を鉢植えとし、自然環境下で栽培した。ホロシリコムギは4月以降、氷中に保った。月毎に根茎移行部を採取して電顕観察に供した。試料の固定は2.5%グルタルアルデヒドで行い、オスミウム酸処理、脱水、包埋後超薄切片を酢酸ウラニウムとクエン酸鉛で処理して微細構造を観察した。

3:結果 2品種間の細胞構造に

差が見られ始めるのは12月以降である。それまでは両品種を通じてプラスチド、粗面小胞体、ポリゴームおよびミトコンドリアが数多く存在し、活発な蛋白質合成活性を示す電顕像が得られたが、12月以降の農林61号ではこれらの細胞内小器官の数が減り、液胞が増えて細胞の内容が疎になり始める。また細胞壁とプラズマレンマの間に空隙が出来る。

これは細胞の膨圧維持が不可能となったことを示すものと考えられる。この細胞構造を示すと（2月末）61号は死ぬ。これに対しホロシリコムギでは粗面小胞体およびポリゴームの数が減り（1月）蛋白質合成機能の一時的な変化を示すが、細胞の内容は密であり液胞も少ない。また浸透圧が正常に保たれていることが示される。以上の観察結果から高等植物が寒く長い冬を生きる為には細胞内の浸透圧を維持する機能が非常に重要であり、その為には細胞内基質の消費や酵素蛋白の適切な制御が要求されると考えられる。

B-1 宿主特異性の異なるアズキ根粒菌 (*Bradyrhizobium* sp. (*Vigna*)) の性質の比較について (帯畜大農化、^{*}十勝農協連研究所) ○ 野原 康徳
佐藤 哲也、菅原 四郎、伊藤 真*

1. 目的 アズキ根粒菌は生育の遅い *Bradyrhizobium* 属に分類され得る。その宿主特異性においてはアズキばかりでなくダイズに根粒形成可能な菌株も確認されている。そこで幾つかのアズキ根粒菌株についてそれらの宿主特異性および免疫学的性質の比較を行った。

2. 方法 アズキ根粒菌13菌株を用いた。アズキ栽培品種エリモおよびタカラそしてダイズ栽培品種北見白、キタムスメ、トヨスズ、トヨムスメ、およびスズヒクを用いて接種試験を行った。窒素固定能はアセチレン還元法により決定した。ロケット免疫電気泳動法 (RIEP) よび交差免疫電気泳動法 (CIEP) はそれぞれWeeke およびClarke-Freeman の方法に従って行った。

3. 結果 アズキ根粒菌13菌株をアズキおよびダイズの幾つかの栽培品種に対して接種試験を行った。全ての菌株がアズキに対して有効な根粒を多数着生した。13菌株のうち、宿主特異性が異なり、ダイズに根粒形成する菌株 DUA 480、481 および 483 が認められた。これら3菌株のアセチレン還元能はダイズに比べアズキを宿主とした場合に高い値が得られた。ダイズに対する根粒形成のパターンは、菌株と品種の組み合せによって多様であった。DUA 480 はダイズのうち幾つかの品種に対しては全く根粒を着生しなかった。アセチレン還元能はかなり低いあるいは全くなかった。DUA 481 および DUA 483 は使用した全てのダイズ品種に対して根粒を着生したが、アセチレン還元能は1品種をのぞいて低かった。RIEP よび CIEP によりこれら3菌株の無細胞抽出液を用いて免疫学的性質を詳細に比較した。

B-2 好アルカリ微生物によるバルブ・スラッジ焼却灰の処理に関する研究 (I) 好アルカリ微生物の分離と処理反応の基礎的検討
○ 竹田公一、安居光國、竹内隆男、菊池慎太郎 (室蘭工業大学・化学工学)

目的： 土壌中にはアルカリ条件下でのみ良好に増殖する、いわゆる“好アルカリ微生物”が存在する。初発 pH の高低にかかわらず、好アルカリ微生物の増殖にともなって養液の pH が 7.5-8 付近に収斂することから、この微生物は土壌中などの自然界において自身の周囲のミクロ環境の pH をその生存・増殖に都合の良いように変化させるものと考えられている。他方、製紙工場において大量に発生するバルブ・スラッジ焼却灰は強アルカリ性 (pH 10-11) を示すにもかかわらず、現在は、主として土壌中に埋蔵し降雨などによるアルカリの自然希釈に依存した処理がなされている。われわれは、上述のような好アルカリ微生物の諸性質を利用するバルブ・スラッジ焼却灰の処理法の確立を目指し、幾つかの基礎的検討を行ったのでその結果について報告する。

方法と結果： 北海道内のバルブ・スラッジ焼却灰埋藏地付近の土壌および河川水から Horikoshi らの方法に従って好アルカリ微生物を分離し、形態学的、生化学的性質からこれを *Bacillus* 属細菌と同定した。なお、分離した細菌は、中性培地における増殖の可否から“耐アルカリ微生物”とは別個であることを確認した。

バルブ・スラッジ焼却灰はアルミニウム、チタン、マグネシウム等の多種、多量の重金属を含有するために、分離した細菌は、焼却灰存在下では良好には生育せず従って焼却灰の pH も効率良くは低下しなかった。しかし、アルカリ培地で培養した分離細菌の休止菌体をバルブ・スラッジ懸濁液に添加した反応系においては、懸濁液 pH は有意に低下した。本菌の休止菌体による pH 低下の機構の詳細については未だ不明であるが、反応系にグルコースを添加しても pH 低下は促進されず、また反応液中にビルビン酸等が蓄積されなかったことから、有機酸の產生に起因する pH 低下ではないことが示唆された。

1. 目的 イタコン酸のごとき合成樹脂の原料として多量安価な供給が要求されている酸を醸酛法によって製造する場合、如何に安価な原料を使用できるかが重要な鍵となる。そこで、甜菜生汁および廃糖蜜のイタコン酸醸酛の原料化に関する研究を行った。

2. 方法 原料の生汁および廃糖蜜は、日本甜菜製糖(株)より恵与されたシックジュース、H A および H B 廃糖蜜(以下それぞれ T J、H A および H B と省略)である。培養は、麦芽寒天培地に着生した胞子を白金耳で糖濃度10%に調製した培地に接種し、35°C、140 rpmの往復振盪機で4日間行った。培地の最低栄養源量はグルコース天然培地と、全く同じ醸酛成績が得られるグルコース模擬培地を基準とし、無処理の各糖質原料液およびそれらのカチオン交換、エーテル抽出、カチオン交換・エーテル抽出および電気透析処理液中の成分で模擬培地の栄養源レベルに達していないものは補添された。

3. 結果 T J 培地は、イタコン酸蓄積速度(以下速度と省略)0.35(g/dl·day)、対消費糖イタコン酸収率(以下収率と省略)34(%)に留った。カチオン交換処理液では若干の醸酛成績の向上が認められたにすぎず、エーテル抽出処理では速度が0.8、収率が40に上昇した。一方、カチオン交換・エーテル抽出あるいは電気透析処理液では、速度が1.25および収率が55と模擬培地と同程度の醸酛成績が得られた。H A 培地では速度の若干の低下が認められたが、カチオン交換処理により回復した。H B 培地およびカチオン交換処理液では菌の生育は認められなかった。エーテル抽出処理では、速度が0.32および収率が19であった。一方、カチオン交換・エーテル抽出あるいは電気透析処理では模擬培地にほぼ匹敵した。T J・H A・H B およびその処理液中に存在し、菌の増殖・代謝に影響を及ぼした主な成分は、金属ではK・Mn・Fe、有機酸では琥珀酸・酢酸であった。

1. 目的 演者らが見いたした *C. rolfsii* AHU 9627 は、澱粉質の無蒸煮糖化を行う上で、極めて有用性の高い糖化アミラーゼを生産する。これまでに、この糸状菌の生産する粗酵素の諸性質および培養方法等について明らかにしたが²⁾、本研究では、本菌の酵素生産性の向上を目的として、菌株改良を試みるまでの基礎知識を得るために、プロトプラスト化の条件検討を行い、得られた再生変異株の酵素生産性を調べたので、その結果を報告する。

2. 方法 ソルブルスターーチを炭素源とした基本培地で、27°C、5~10日間、液体振とう培養して得られた洗浄菌体をボリトロン処理後、酵素処理してプロトプラストを調製した。酵素反応は、浸透圧調節剤を含んだ緩衝液に、各種の市販細胞壁溶解酵素を単独または組み合わせて行った。再生条件の検討は、液体培養法あるいは重層法により行い、光学顕微鏡を用いてコロニーの発生数を求めた。また、変異株の取得は、精製プロトプラストを直接紫外線照射することにより得た。

3. 結果 プロトプラスト調製用の酵素を検討したところ、マンニトールを含むリン酸緩衝液(pH 6.0)に、cellulase-ONOZUKA, β-glucuronidase (SIGMA) および chitinase-GODOを組み合わせて、30°Cで2時間作用させることによって、 5×10^6 個/mlのプロトプラストを得た。プロトプラストの再生に好適な浸透圧調節剤としてはシュクロースが有効で、再生率は約2%であった。また、得られた90菌株の再生変異株を最適培地で培養したところ、親株に比較して、アミラーゼ生産量が50%程度増強された菌株が出現した。一方、再生変異株は、一般的にアミラーゼ生産能が高まる傾向を示した。

1) 公開特許公報 昭62-126989, 166876. 2) Agric. Biol. Chem., 52, 1661, 1979 (1986).
 現在)^{*}ニッカウヰスキー・^{**}静峰短大。

1. 目的 強力な生澱粉糖化力を持つ C. rufi AHU 9627 の生産するアミラーゼは、グルコアミラーゼが主成分で、生澱粉分解性を示す3成分と非分解性を示す2成分に分画することができる。これらグルコアミラーゼの分子的特性を解析することを目的として、前回までに、2成分の生澱粉分解性グルコアミラーゼ(FIおよびFII)の精製を行って諸性質を明らかにした^{1,2)}。今回は、量的には少ないFIII成分の生澱粉分解性グルコアミラーゼについて精製を試みたので、その結果を報告する。

2. 方法 基本培地で27°C、10日間のフラスコ振とう培養で得られた培養ろ液を80%飽和硫酸による塩析後、DEAE-Toyopearl 650 M、SP-Toyopearl 650 MおよびDEAE-Sepharose CL-6Bのカラムクロマトグラフィーを用いて、ディスク電気泳動的に单一にまで精製した。酵素活性は、前報りと同様に測定した。

3. 結果 精製酵素は、至適pH 4、至適温度65°C、pH安定域3~8(30°C, 60min)、熱安定域55°C以下(pH 4, 10min)であり、活性はS₂₀²⁵で阻害された。分子量は約79000、等電点3.85、糖含量8.0%、アミノ酸組成は、Thr, Ser, Asp, Gluの含量が99かた。また、精製酵素は、生澱粉に対して吸着性を示し、1%生澱粉の48時間後の水解率(pH 4, 40°C, 5GAU/ml)は、ワキシーコーン100%，ウルチ米85%，コーン70%，ボテト3%で、さらに、これら生澱粉に対する分解能(RDA)は、それぞれ11, 29, 6, 0.2であった。一方、主な基質に対する分解限度は、アミロース、グリコーゲン、マルトースは100%，ソルビルスターク90%，K_mはそれぞれ2μM, 0.5μM, 0.6μM, 0.2μMであった。以上の結果は、いずれもFIおよびFIIグルコアミラーゼの蛋白化学的、酵素化学的性質と類似していた。^{*}現在静修短大。

1) 昭和62年度日本酵酇工学会要旨集 p.10. 2) 日本農芸化学会誌 62, 340 (1988).

(東京農大・酪農化学会) 長崎 敏一

目的牛免疫アプローリンのサブクラスIgG1とIgG2について、その熱安定性あるいは熱凝固性が非常に異なる事が見い出された。そこで、その違いが何に由来するのかを検討するために以下の実験を行った。

方法—IgG1は牛初乳より、IgG2は牛血清より硫酸亜鉛柱面にてイオン交換クロマトグラフィーにて洗浄後これを分離、精製した。IgG2はさらに固定化Staphylococcal Protein Aカラム(Protein A-Sepharose CL-4B、Pharmacia社製)を用いたアフィニティークロマトグラフィーを行った。クエン酸-磷酸ナトリウム(McIlvaine)バッファーを吸着用に、1M酢酸溶液を溶出用に用いた。IgG2のアミノ基の修飾には無水コハク酸を用いた。各蛋白質は磷酸バッファーに溶解して加熱し(65°Cおよび100°C)、それらの熱安定性に対するpH、イオン強度、加熱時間の影響を550nmでの濁度、上澄み液の280nmでの吸光度、さらに上澄み液のゲル沈過クロマトグラフィーパターンの比較によって検討した。ゲル沈過クロマトグラフィーにはTSK-GEL G3000 SW(7.5mm ID × 600 mm、東ソーKK製)を用い、溶出液には0.05M磷酸バッファー(pH 6.5、含0.1M硫酸ナトリウム)を用いた。

結果—IgGの熱安定性を与えるpHの影響を検討したところ、IgG1ではpH5において、またIgG2ではpH6において最も大きかった。またイオン強度の影響もIgG1とIgG2で大きく異なった。さらに沸騰水浴上での加熱により、IgG2はいかなる条件下でも沈殿を生じたが、IgG1はイオン強度が0.01M以上でのみ沈殿を生じた。そこでサクシニル化IgG2についてもその熱安定性を比較したところ、IgG1とIgG2の型に対する安定性の大きさの違いは、主に両者の荷電の違いに由来するものとの結論に達した。

B-7 メチオニン過剰摂取による肺プロテアーゼ活性の上昇と肺外分泌応答

北大農化 ○谷藤 健 知地 英征 桐山 修八

【目的】我々は、低カゼイン飼料にオリゴメチオニン(OM, 重合度6-8)を過剰に添加するラットの肺プロテアーゼ(特にカルボキシペプチダーゼA(CPA)、トリプシン)活性が増大し、同時に肺外分泌応答も上昇することを見いたしました。^{1),2)}しかし、これらの効果のうち、肺プロテアーゼ活性上昇は、OMのみならず1.5%Met添加でも発現することを最近明らかにした。本研究ではこの現象の発現機構を明らかにするために、まずその再現性を詳細に検討した。すなわち、低タンパク食へのMet添加レベルを段階的に変え、それが肺プロテアーゼ活性に及ぼす影響を調べ、同時に肺外分泌応答との関連性を比較した。

【方法】SD系雄ラット(60.5g)を4群に分け、8%Casein(Basal;B)、B+1%Met,B+2%Met,B+3%Met添加食でそれぞれ2週間飼育した。1日絶食後、全ラットに試験食(8%Casein+3%OM)を1gづつ与え、30分後、麻酔下で門脈血、腹部大動脈血を採取し、ついで肺臓を摘出した。血漿は除蛋白後PTC化し、HPLCでアミノ酸分析を行い、肺臓は凍結乾燥後磨碎し、トリプシン、キモトリプシン、CPA活性を測定した。

【結果】2%および3%Met添加で過剰毒性が発現し、成長は低下した。肺プロテアーゼのうち、トリプシン、CPA活性はMet添加レベルの増加にしたがって上昇したが、1%MetとBasalには差がなかったことから、Metによる肺プロテアーゼ活性の上昇は、過剰毒性発現レベルではじめて引き起こされることが示された。キモトリプシン活性にはこの傾向は見られなかつた。以上の結果は、従来観察されていない新しい知見であるとともに、タンパク質以外の物質がラット肺トリプシン、CPA活性の上昇を調節する機構が存在することを示唆するものである。また、肺外分泌活性の指標として用いたOMの摂取後の門脈Met濃度増加量(門脈血中Met濃度と腹部大動脈血中Met濃度の差)には全群とも差はなく、肺プロテアーゼ活性の上昇が必ずしも肺外分泌応答の上昇には結びつかない場合もあることが示された。

1)昭和60年農芸化学会講演要旨集P511 2)昭和61年農芸化学会講演要旨集P208

B-8 ギョウジャニンニクの培養とプロトプラストの単離および融合

(北東海大 生物工学) ○笠原宏一、西村弘行、(北大 農場) 中嶋 博

目的: ギョウジャニンニク(Allium victorialis L.)はアイヌネギとも呼ばれ北海道に多く自生する山菜の一つであるが、味はもとより、近年その薬効成分が注目を浴びている。¹⁾しかし、これまで種子発芽や茎頂培養による繁殖方法では収穫までに5~6年を要している。このようにギョウジャニンニクの生育は非常に遅いため、農作物としての生産には栽培期間を縮めることが急務となっている。我々は組織培養法およびプロトプラストを用いた細胞工学的アプローチにより、ギョウジャニンニクの生育期間を短縮する目的で本研究を開始した。

方法: ギョウジャニンニクの葉の一部を各種濃度の2,4-DとKinetinおよびNAA(1-naphthalene acetic acid)と6-BAP(6-benzylamino purine)を含むMS mediumに植え込み、培養を試みた。また、ギョウジャニンニクのプロトプラスト単離部位および単離条件を他の2, 3のネギ属植物のものと比較検討し、その後MS mediumを用いてプロトプラスト培養を行った。その他、PEG法および電気融合法により、ニンニク(A. sativum L.)との細胞融合を試みた。

結果: 葉組織の培養ではカルス化が見られず、単離組織部位、培地の種類などの検討が望まれる。プロトプラスト単離条件は他のネギ属植物における単離条件と同様の条件で好結果を得た。ただしプロトプラストそのものは機械的な外力に対して極めて弱い。明所で培養したプロトプラストは葉緑体を保持し生存するが、暗所での培養ではプロトプラストの生存率が落ちる。PEGによる細胞融合では、ニンニクとギョウジャニンニクの融合率は、ニンニク同士あるいはギョウジャニンニク同士のそれよりも高かった。また、電気融合でも同様の傾向が見いだされた。

(文献) 1) H. Nishimura et al., J. Agric. Food Chem., 26:563(1978)

合同懇親会

昭和63年7月23日(土) 16:30~

於: 帯広ステーションホテル (JR帯広駅構内
TEL 0155-23-2188)

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	関東化学販売株式会社
ベル食品株式会社	キッコーマン株式会社千歳工場
福山醸造株式会社	麒麟麦酒株式会社千歳工場
富良野市ぶどう果樹研究所	日本化学飼料株式会社
合同酒精株式会社	日本清酒株式会社
北海道朝日麦酒株式会社	日本新薬株式会社札幌工場
北海道日産化学株式会社	日本甜菜製糖株式会社技術部
よつ葉乳業株式会社	ニッカウヰスキー株式会社
北海道糖業株式会社	サッポロビール株式会社札幌工場
北海道和光純薬株式会社	札幌酒精工業株式会社
北海三共株式会社	サントリー株式会社千歳工場
株式会社北海測量図工社	宝酒造株式会社札幌工場
北海製罐株式会社罐詰研究所	高砂香料工業株式会社札幌出張所
株式会社北開水工コンサルタント	東洋科学産業株式会社札幌営業所
池田町ブドウ・ブドウ酒研究所	十勝農業協同組合連合会農産化学研究所
岩田醸造株式会社	雪印乳業株式会社
	雪印食品株式会社