日本植物生理学会1990年度年会

お　よ　び

第30回シンポジウム

植物生理学と分子生物学の接点をめぐって

植物生理学の古い問題の新しい展開

公開シンポジウム

我が国におけるプラントサイエンスの展望

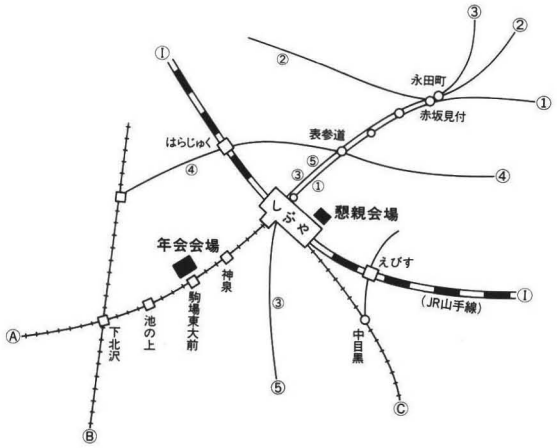
1990年3月28日（水）—3月30日（金）

東京大学教養学部

日本植物生理学会

交　通　の　御　案　内

〔年会会場へ〕



交　通

年会会場（東京大学教養学部，東京都目黒区駒場3-8-1）は井の頭線渋谷より２つ目の「駒場東大前」にあります。急行は停りません。御注意下さい。必ず各駅停車にお乗り下さい。

JR 山手線①　　私鉄線
地下鉄線
①銀座線
②丸の内線
③半蔵門線
④千代田線
⑤新玉川線
Ⓐ井の頭線
Ⓑ小田急線
Ⓒ東横線

〔懇親会場へ〕

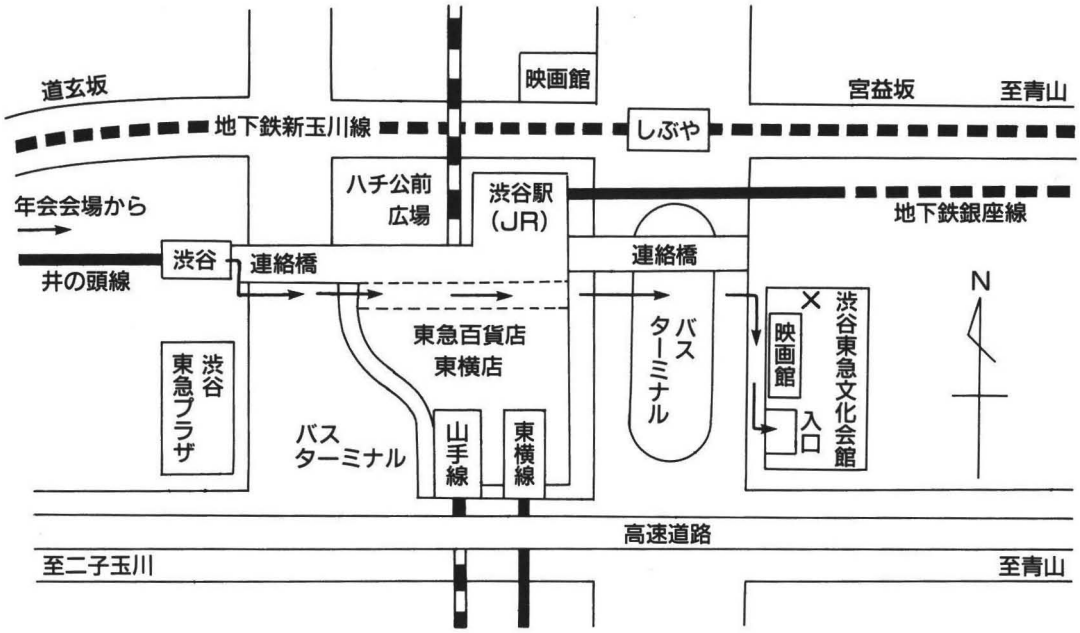
懇親会場（「東急ゴールデンホール」，渋谷東急文化会館７階）は JR 渋谷駅前です。年会会場から20分ほどのところです。

井の頭線渋谷駅改札口を出てすぐ右手の階段を降り，連絡橋下の横断歩道を渡って東急百貨店東横店内に入って直進して，いったん外に出，再び連絡橋下の横断歩道を渡ると渋谷東急文化会館前に着きます。（矢印の通り）

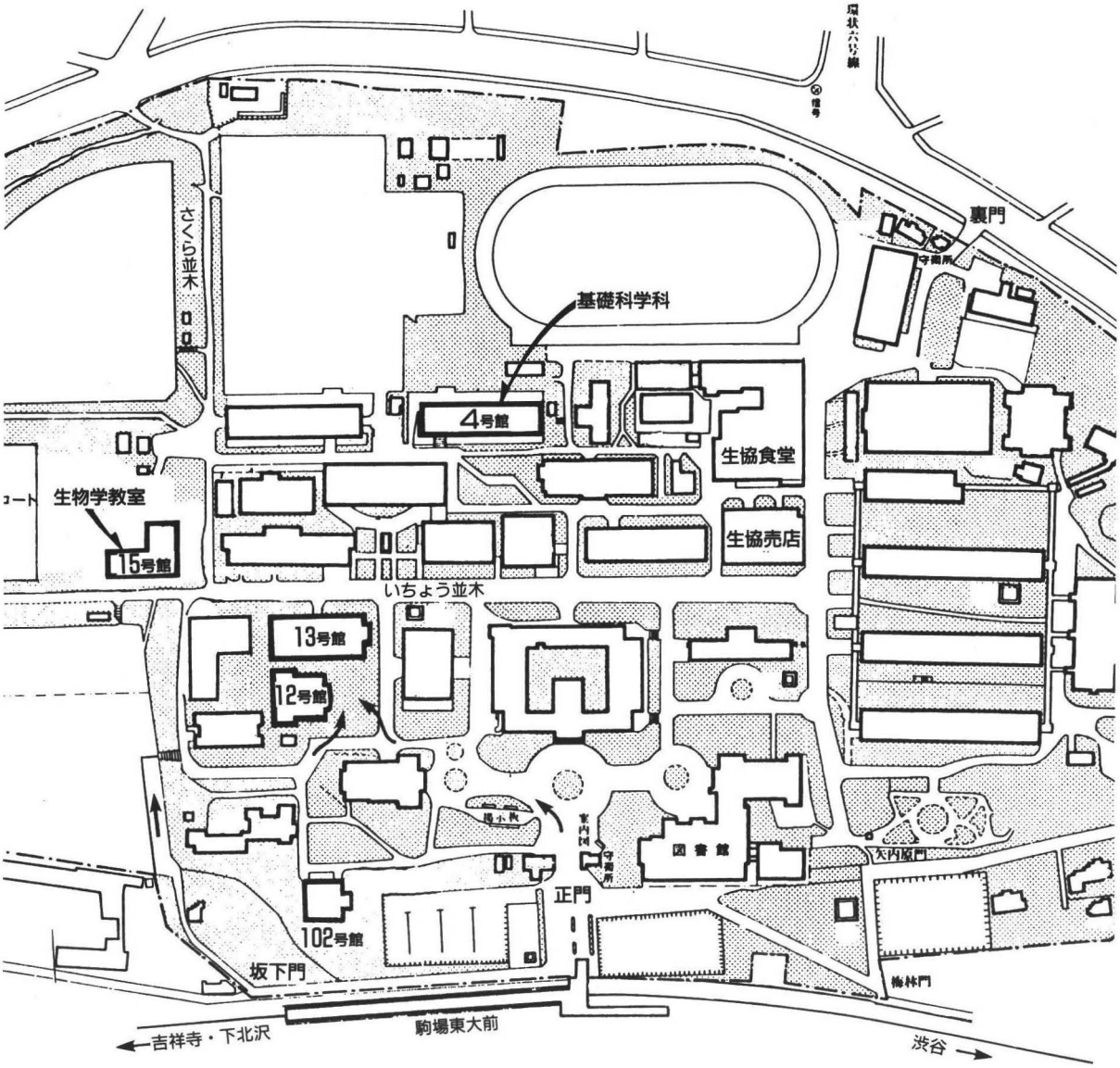
映画館左手に大きな入口がありますが，そこからは入らず，矢印のように外を通って右手に行き，ゴールデンホール入口のドアから入り，エレベータで７階までおいで下さい。

（同会館北側のエレベータ（×）からは行けませんので御注意下さい。）

東急ゴールデンホール（渋谷東急文化会館７Ｆ）
Tel 03-409-4181



東京大学教養学部案内図



〔年会会場〕

東京大学教養学部**12号館**および**13号館**

〒153 東京都目黒区駒場3-8-1

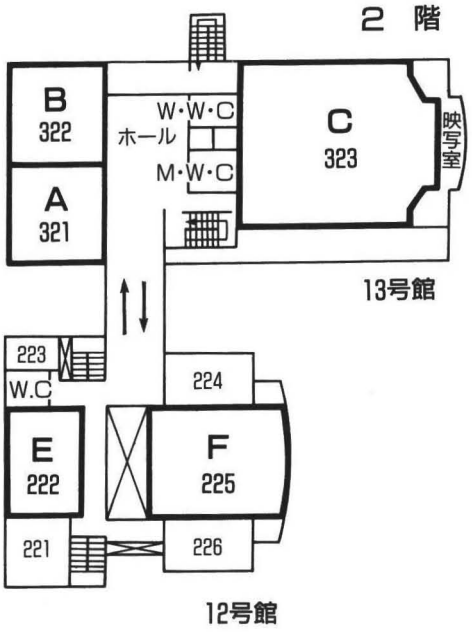
電話（03）467-1171　内線418，431（期間中，緊急の場合だけ御利用下さい）

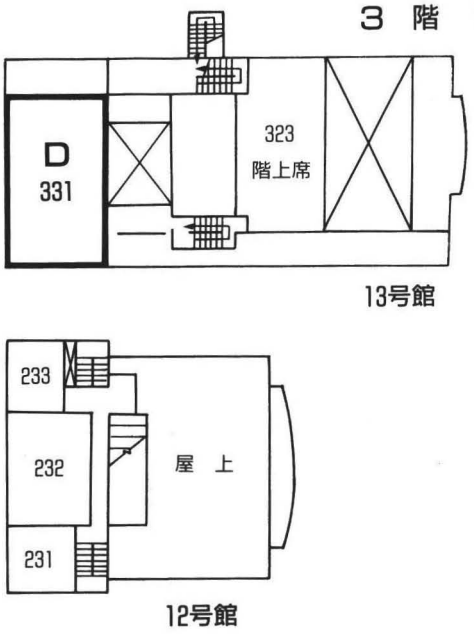
〔関連会議〕

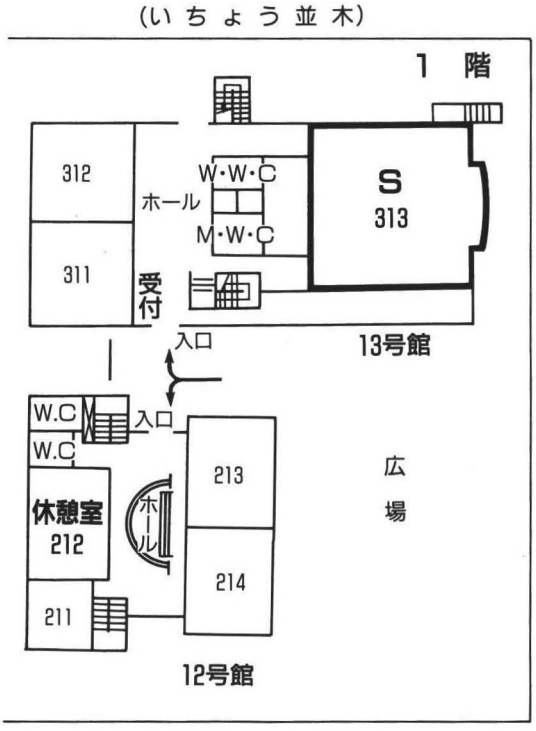
評議員会：102号館

常任評議員会，編集委員会，編集実行委員会：15号館

会 場 配 置 図







〔年会会場〕

一般講演

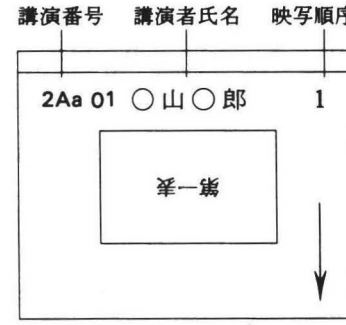
A会場　13号館２階
B会場　13号館２階
C会場　13号館２階
D会場　13号館３階
E会場　12号館２階
F会場　12号館２階

〔シンポジウム会場〕

S会場　13号館１階

◎講演者へのお願い

1．一般講演の時間は13分です。時間厳守をお願いします。
2．スライドは会場入口のスライド係に，講演30分前までに渡してください。終了後はその日のうちに係から受けとってください。
3．スライドは35ミリに限ります。図のように記号およびマークをお願いします。プロジェクターは一台です。
4．重複して使用するスライドは，必ず同じものを必要枚数作り，映写順序に用意して下さい。
5．OHP の準備はいたしません。
6．次演者は必ず「次演者席」に着席してください。
7．一般講演の時間指示は，講演開始後10分で1鈴，13分で2鈴（講演終了），15分で3鈴（討論終了）です。厳守してください。



◎参加者へのお願いとお知らせ

1．受付で，名札，講演要旨集，懇親会券などをお受け取りください。
2．会場では，会期中必ず名札をつけていてください。
3．年会実行委員と関係者はリボンをつけています。
4．13号館1階受付の近くに連絡板を設けますので，ご利用ください。
5．休憩室には湯茶，コーヒー，紅茶などを用意しますのでご利用ください。
6．会場内にクロークを設けます。時間は8時30分から17時30分までです。ただし，第3日は午前中で終了させていただきます。夜間は管理できませんので必ずそれまでにおひきとりください。
7．駐車場は用意いたしません。年会会場（東京大学教養学部）は井の頭線「駒場東大前」駅の前ですから，交通には電車をご利用ください。
8．お弁当の販売コーナーを設ける予定です。飲食店は駒場東大前駅下北沢寄り改札口の近く，駒場商店街（案内図右下）および裏門（案内図右上）の近くにあります。生協食堂もご利用ください。
9．年会についての問い合わせは，年会実行委員会にお願いします。

年会実行委員会：〒153 東京都目黒区駒場3-8-1
東京大学教養学部生物学教室内
電話（03）467-1171　内線418
委員長　村上　悟

◎関連集会

「植物生理若い研究者の会」

3月28日（水）　午後6時～8時　年会A会場
世話人：坪井　滋（東大・教養・生物）
電話（03）467-1171内線437
講演
寺島一郎（東大・理）：植物の生活における経済性の追求（cost-benefit 分析入門）
杉山宗隆（東北大・理）：植物細胞の分化転換と DNA 修復系

◎関連会議

編集実行委員会	3月27日（火）	午後4時―5時	東京大学教養学部15号館第2会議室
編集委員会	3月27日（火）	午後5時30分―9時	東京大学教養学部15号館第1会議室
常任評議員会	3月28日（水）	正午―午後1時	東京大学教養学部15号館第2会議室
評議員会	3月28日（水）	午後6時―9時	東京大学教養学部102号館第1会議室
総会	3月29日（木）	午後4時15分―5時15分	S会場（シンポジウム会場）
懇親会	3月29日（木）	午後6時―8時	渋谷東急文化会館7階「東急ゴールデンホール」（参加を申し込んでおられない方も，当日参加を受け付けますので，できるだけ多数の方の御参加をお願いいたします）

本学会会則第4条2項により，年会の研究発表の演者は本学会の会員に限ることと定められております。つきましては，演者が本学会に未加入の場合は，至急学会本部に入会手続をとっていただきますようお願いいたします。

お知らせ

1. 講演順序の変更

日本植物生理学会通信第48号（1990年2月25日発行）に収録されたプログラムの一部が下記のように変更されました。

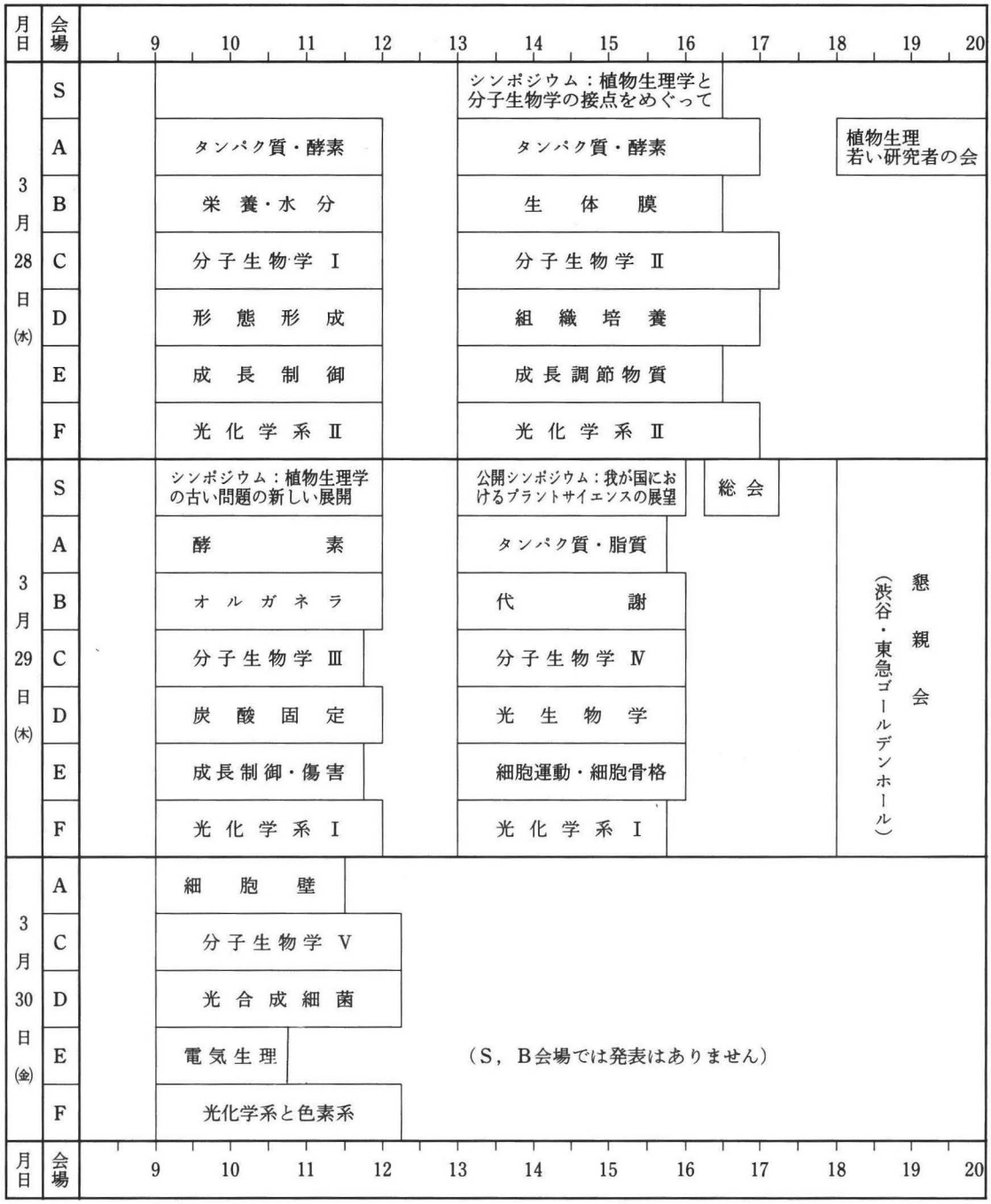
「2Ea03」と「2Ea08」の発表は順序が入れかわりました。

この講演要旨集のプログラムのその部分（20頁）と講演要旨（265頁と270頁）の順序はそのように訂正されています。

2. 年会会期中の呼び出しについて

年会に出席されている方に外部から連絡があった場合，伝言を13号館1階受付近くの掲示板（メッセージボード）に掲示します。講演発表中の会場での呼び出しはいたしません。

日　　程　　表


月日
会場
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
3月28日(木)
S
シンポジウム：植物生理学と分子生物学の接点をめぐって
A
タンパク質・酵素
タンパク質・酵素
植物生理若い研究者の会
B
栄養・水分
生体膜
C
分子生物学 I
分子生物学 II
D
形態形成
組織培養
E
成長制御
成長調節物質
F
光化学系 II
光化学系 II
3月29日(木)
S
シンポジウム：植物生理学の古い問題の新しい展開
公開シンポジウム：我が国におけるプラントサイエンスの展望
総会
懇親会（渋谷・東急ゴールデンホール）
A
酵素
タンパク質・脂質
B
オルガネラ
代謝
C
分子生物学 III
分子生物学 IV
D
炭酸固定
光生物学
E
成長制御・傷害
細胞運動・細胞骨格
F
光化学系 I
光化学系 I
3月30日(金)
A
細胞壁
C
分子生物学 V
D
光合成細菌
E
電気生理
（S，B会場では発表はありません）
F
光化学系と色素系

公開シンポジウム

我が国におけるプラントサイエンスの展望

主催　日本学術会議植物科学研究連絡委員会
共催　日本植物生理学会
　　日本植物学会

日時　3月29日（木）午後1：00–4：00
場所　東京大学教養学部　13号館S会場

開会の辞
竹内　郁夫（基生研）

1．生物学における機能的見方と進化的見方
広瀬　忠樹（東北大・理）
座長　岩槻　邦男（東大・理）

2．植物分子生物学の明日に若者たちは何を見ているか
南川　隆雄（東京都立大・理）
座長　川口　昭彦（東大・教養）

3．植物科学と科学技術の連続性を求めて
今関　英雅（名大・農）
座長　浅田　浩二（京大・食研）

4．パネルディスカッション
司会　古谷　雅樹（理研）

シンポジウム　第1日　3月28日（水）S会場

「植物生理学と分子生物学の接点をめぐって」

世話人　山田　晃弘（東大・教養）

13：00　**1Sp-1**　分化と脱分化における分子生物学的アプローチ

座長　駒嶺　穆（東北大・理）

「分化」　小関　良宏（東大・教養）

討論者　米田　好文（東大・理）

「脱分化」　高橋　陽介（名大・理）長田　敏行（基生研）

討論者　渡辺　昭（名大・農）

14：10　**1Sp-2**　種子代謝における分子機構解明の試み

座長　山本　幸男（名学院大）

「登熟種子」　田中　国介，光川　典宏（京都府大・農）

討論者　中村　研三（名大・農）

「発芽種子」　山内　大輔，南川　隆雄（都立大・理）

討論者　西村　幹夫（神戸大・理）

15：20　**1Sp-3**　植物の CO_2 濃縮機構の分子生物学的展開

座長　小川　晃男（理研）

「微細藻類」　都築　幹夫，福沢　秀哉，宮地　重遠（東大・応微研）

討論者　横田　明穂（大阪府大・農）

「高等植物」　松岡　信，鮫島　宗明（生物資源研）

討論者　臼田　秀明（帝京大・医）

シンポジウム　第2日　3月29日（木）S会場

「植物生理学の古い問題の新しい展開」

世話人　庄野　邦彦（東大・教養）

「成長調節物質」

9：00　**2Sa-1**　花芽誘導物質の探索

平井　伸博（京大・農）

座長　勝見　允行（ICU・生物）

討論者　竹葉　　剛（京都府大・生科）

9：45　**2Sa-2**　光屈性における Cholodny-Went 説の是非

長谷川宏司，J. Bruinsma（鹿児島大・教養，Agricultural Univ. The Netherlands）

座長　増田　芳雄（大阪市大・理）

討論者　藤伊　　正（筑波大・生物）

「オルガネラの機能」

10：30　**2Sa-3**　Hill 反応

加藤　　栄（東大・理）

座長　藤田　善彦（基生研）

討論者　井上　頼直（理研）

11：15　**2Sa-4**　脂質代謝とオルガネラ

山田　晃弘（東大・教養）

座長　村田　紀夫（基生研）

討論者　佐藤　直樹（東大・理）

第1日　3月28日（水）　〈午前の部〉

A会場　タンパク質・酵素

9:00　1Aa01　水稲葉の老化に伴う窒素の転流とグルタミン合成酵素
°蒲地一成，山谷知行，前忠彦，小島邦彦（東北大・農・農化）

9:15　1Aa02　イネ培養細胞における窒素同化系酵素の窒素給源に対する応答——グルタミン合成酵素アイソザイムとNADH-及びFd-グルタミン酸合成酵素活性
°早川俊彦，山谷知行，蒲地一成，前忠彦，小島邦彦（東北大・農・農化）

9:30　1Aa03　ヤエナリ芽生えの生長における“sink”酵素の誘導について
°新井雅雄[1,2]，森仁志[2]，今関英雅[1,2]（[1]名大・農・生化学制御，[2]基生研・情報制御）

9:45　1Aa04　イネの再分化時におけるカルシウム結合タンパク質パルブアルブミンの発現
°梶原英之，平野久，福田実，川田元滋，大野清春（農水省・生物研）

10:00　1Aa05　ササゲ発芽種子におけるポリ(A)ポリメラーゼの発現
°樽井裕，南川隆雄（都立大・理・生物）

10:15　1Aa06　細胞性粘菌のDNAトポイソメラーゼⅡの精製と性質
°光原一朗，黒江謙治[1]，田仲可昌，柳澤嘉一郎（筑波大・生物科学系，[1]応用生物科学系）

10:30　1Aa07　大腸菌における嫌気的スーパーオキシドジスムターゼ合成に対する金属イオンの影響
三宅浩一郎（広島大・理・植物）

10:45　1Aa08　リン酸飢餓処理したニチニチソウ培養細胞の分泌するホスファターゼの精製と性質
°新井康仁，降旗敬，桜井英博（早大・教育・生物）

11:00　1Aa09　イネ・アスパラギン酸キナーゼの多様性
°清田誠一郎，坂野勝啓（農水省・生物研）

11:15　1Aa10　トウモロコシ・ミトコンドリア外膜のCa^{2+}・カルモジュリン依存性NAD kinaseについて
°早間睦，中嶋啓恵，長谷俊治（名大・農・農化）

11:30　1Aa11　ニセアカシア樹皮におけるレクチンの生合成について
°吉田和正，田崎清（森林総合研究所）

11:45　1Aa12　イネ種子胚に見出された日本型，インド型イネに特異的なタンパク質
°猿山晴夫，新橋登（北海道グリーンバイオ研究所）

B会場　栄養・水分

9:00　1Ba01　根粒菌の初期感染過程の解析——セルラーゼの根毛変形への影響——
°手呂内伸之，庄野邦彦（東大・教養・基礎科）

9:15　1Ba02　ダイズの根粒非着生系統(rj_1, rj_1)における根粒形成の抑制機構
°菅沼教生，川手文男，田中宏明，柳本直輝，佐藤貞子（愛媛大・生物）

9:30　1Ba03　ダイズ根粒形成変異株における硝酸耐性機構——$^{15}N_2$，$^{15}NO_3$の代謝と移行——
°大山卓爾，J. E. Harper[1]（新潟大・農，[1]Univ. Illinois）

9:45　1Ba04　イネ篩管液中のRNAの検出
°大嶋利幸，林浩昭，内藤哲[1]，米田好文[1]，茅野充男（東大・農・農化，[1]東大・遺伝子）

10:00　1Ba05　イネ篩管液中に存在するリン酸化を受けるタンパク質
°林浩昭，中村進一，茅野充男（東大・農・農化）

10:15　1Ba06　イネ篩管中に存在するタンパク質の諸性質
°中村進一，林浩昭，福澤まさき，茅野充男（東大・農・農化）

10:30　1Ba07　根液溢泌連続測定装置の開発——浸透ストレスと根液溢泌——
°田浦武英，加藤潔（名古屋大・理・生物）

10:45　1Ba08　Ion and Metabolite Distribution in Salt-stressed Barley Plants.
°Jean-Marie Stassart and Toshio Kawasaki (Res. Inst. Bioresources, Okayama Univ.)

11:00　1Ba09　麦における元素分布——Na，Mg，P，Cl，K，Caおよび Mnの葉内分布について
°中西友子，松本聰（東大・農）

第1日　3月28日（水）　〈午前の部〉

11:15　1Ba10　ドナリエラの成長に対する Mg と Ca の拮抗作用
°藤井修平，高田英夫（帝塚山短大）

11:30　1Ba11　高等植物の水ストレス適応と吸水ポンプ（カナルシステム）
°加藤潔，榎本美久[1]（名大・理・生物，[1]名大・理・物理）

11:45　1Ba12　チャ種子ならびに取り出し胚の乾燥前処理による液体窒素中の凍結保存
°倉貫幸一，吉田静夫[1]（静岡県茶試，[1]北大・低温研）

C会場　分子生物学 I

9:00　1Ca01　タバコの細胞質雄性不稔性に関与するミトコンドリア DNA 領域の構造解析
°小鞠敏彦，森岡真二，朝日孝宏，神代隆（日本たばこ・遺伝育種研）

9:15　1Ca02　タバコの細胞質雄性不稔性に関与するミトコンドリア DNA 断片の塩基配列とその転写
°森岡真二，朝日孝宏，小鞠敏彦，神代隆（日本たばこ・遺伝育種研）

9:30　1Ca03　イネ ミトコンドリア DNA の構造
°杉野公基，岩橋素子，菅野明，平井篤志（名大・農・生化学制御）

9:45　1Ca04　タバコ培養細胞におけるプロプラスチド DNA の複製
°武田穣，広川秀夫[1]，長田敏行[2]（名大・農，[1]上智大・生命科学研，[2]基生研・細胞機構）

10:00　1Ca05　Zinc finger motif をもつエンドウ葉緑体遺伝子の発現
°佐々木幸子，永野幸生，須天由貴子，松野隆一（京大・農・食品工学）

10:15　1Ca06　シダ葉緑体 DNA の構造解析
°山田恭司，高柳頼人，菅井道三（富山大・理・生物）

10:30　1Ca07　イネ LHCP 遺伝子の構造
°松岡信，坂本正弘[1]（農水省・生物研，[1]三井東圧化学）

10:45　1Ca08　トウモロコシ PEP カルボキシラーゼ遺伝子の窒素による発現制御
°鈴木石根，松岡信[1]，杉山達夫（名大・農・農化，[1]農水省・生物研）

11:00　1Ca09　C_4光合成遺伝子の C_3植物内での発現1．PEP カルボキシラーゼについて
°松岡信，真田康治，村上高，大橋祐子（農水省・生物研）

11:15　1Ca10　トウモロコシ PEP カルボキシラーゼ遺伝子の 5′上流域に結合するタンパク質
村上（嘉納）ゆり子，松岡信[1]，鈴木石根[2]，杉山達夫[2]（農水省・果樹試，[1]生物研，[2]名大・農）

11:30　1Ca11　トウモロコシ PPDK 遺伝子の 5′上流域に結合するタンパク質
°松岡信，村上（嘉納）ゆり子[1]（農水省・生物研，[1]果樹試）

11:45　1Ca12　エンドウマメ rbcS-3A 遺伝子 5′上流に結合するタンパク質 (3AF-I)
°村上（嘉納）ゆり子，E. Lam[1]，N.-H. Chua[1]（農水省・果樹試，[1]ロックフェラー大）

D会場　形態形成

9:00　1Da01　植物体内に存在する水溶性の花成誘導物質について
°田中修，竹葉剛[1]，目良具子，松本浩一（甲南大・理・生物，[1]京府大・生科）

9:15　1Da02　高分子性花成誘導物質による花成誘導機構
°竹葉剛，田中修[1]（京府大・応生，[1]甲南大・理）

9:30　1Da03　*Lemna* から抽出される水溶性花成誘導物質の諸性質
°瀧本敦，貝原純子（京大・農・応植）

9:45　1Da04　市販セルラーゼ処理による *Lemna* の花成誘導物質の生成
°貝原純子，瀧本敦（京大・農・応植）

10:00　1Da05　アサガオ子葉師管液の茎頂培養における花成誘導効果
°石岡奈穂子，谷本靜史，原田宏[1]（佐賀大・農・生物工学，[1]筑波大・生物科学）

10:15　1Da06　アサガオ子葉 mRNA の短日処理期間中の変化
°小野道之，山田幸一郎，提公代，岡崎光雄，原田宏[1]（信州大・繊維，[1]筑波大・生物）

第1日　3月28日（水）　〈午前の部〉

10:30　1Da07　アサガオ芽生えの頂芽除去と花芽誘導
°小野道之，提公代，山田幸一郎，岡崎光雄（信州大・繊維）

10:45　1Da08　カーバメート誘導体によるアスパラガス実生の花成誘導とクロロゲン酸合成阻害
°篠崎眞輝，吉田和市，矢野坂恵子[1]，岩村俶[1]（京大・農・応植，[1]京大・農・農化）

11:00　1Da09　シロイヌナズナ Columbia 株の花成遅延変異体の解析Ⅲ．*GI* 遺伝子座近傍の遺伝解析
°荒木崇，米田好文（東大・遺伝子実験施設）

11:15　1Da10　皮組織糖タンパク質 GP57の機能解明の試み
°佐藤忍，葭田寛美（筑波大・生物）

11:30　1Da11　ポプラ培養細胞の器官形成過程で蓄積するタンパク質――器官形成の分子指標となり得るか？――
°浅田隆之，酒井松山[1]，福西伸一，小川雅広[2]，角谷和男（京大・木研，[1]近大・農，[2]京大・食研）

11:45　1Da12　ブロッコリーの花粉発育におけるフェニルアラニンアンモニアリアーゼの関与
岸谷幸枝，°田中喜之[1]，今野昇，四方田淳（東北大・農，[1]農環研）

E会場　成長制御

9:00　1Ea01　キクイモ塊茎組織のカルス形成過程での細胞膜タンパク質の変化
°長谷昭，吉田静夫[1]（北教大・函館・生物，[1]北大・低温研）

9:15　1Ea02　小胞体と原形質膜に存在するオーキシン結合タンパク質の比較
下村正二（阪大・産研）

9:30　1Ea03　光屈性刺激による内生オーキシン (IAA) の横移動
飯野盛利（都立大・理・生物）

9:45　1Ea04　葉組織における IAA の細胞内局在性について
大宮あけみ，林建樹，垣内典夫（農水省果樹試）

10:00　1Ea05　エンドウ芽生えの成長に対する水ストレスの影響
°宮本健助，上田純一，桃谷好英，神阪盛一郎[1]（大阪府大・総合科学，[1]大阪市大・理・生物）

10:15　1Ea06　オートムギ幼葉鞘切片の成長に対するジャスミン酸の阻害作用
°上田純一，宮本健助，青木美也子，桃谷好英，神阪盛一郎[1]（大阪府大・総合科学，[1]大阪市大・理・生物）

10:30　1Ea07　オートムギ幼葉鞘並びにアズキ上胚軸のオーキシン誘導伸長とキシログルカン分解
°保尊隆享，増田芳雄，曽根良昭[1]，三崎旭[1]（大阪市大・理・生物，[1]大阪市大・生活科学）

10:45　1Ea08　イネの成長と細胞壁フェルラ酸
°神阪盛一郎，三並千佳，保尊隆享，増田芳雄（大阪市大・理・生物）

11:00　1Ea09　伸長生長と細胞壁における陽イオン交換
°水野暁子，加藤潔[1]（日本福祉大，[1]名大・理・生）

11:15　1Ea10　プレッシャープローブと道管圧ジャンプ法による生長解析（1）IAA の効果（Ⅱ）
°中堀清，加藤潔，岡本尚（名大・理・生物）

11:30　1Ea11　細胞壁の臨界降伏圧に対する Anoxia と IAA の影響
°岡本尚，三輪治代美[1]，中堀清，加藤潔（名大・理・生物，[1]名大・理・装置開発室）

11:45　1Ea12　滲透ストレス下における胚軸の生長調節：absorbable solute と IAA の効果（2）
°劉強，加藤潔，岡本尚（名大・理・生物）

F会場　光化学系Ⅱ（酸素発生系）

9:00　1Fa01　イネ突然変異株の電子伝達系
°寺尾富夫，加藤栄[1]（農水省・生物研，[1]東大・理・植物）

9:15　1Fa02　ゼンマイ胞子の発芽時における光合成の誘導
°井上弘，田村典明（富山大・理・生物）

第1日　3月28日（水）　〈午前の部〉　〈午後の部〉

9:30　1Fa03　クロマツ子葉の光化学系Ⅱ複合体への光に依存した Mn の組込み
°篠原健司，小野高明[1]，井上頼直[1]（農水省・森林総研，[1]理研・太陽光科学）

9:45　1Fa04　光合成酸素発生能光活性化の効率決定因子
°徳富光恵，井上頼直（理研・太陽光科学）

10:00　1Fa05　酸素発生系 Mn の酸化還元滴定
°磯貝泰弘，西村光雄[1]（理研・生体物理化学，[1]九大・理・生物）

10:15　1Fa06　系Ⅱ粒子の酸処理における Mn と表在性蛋白の脱離・再結合と S-state 遷移の阻害
°沈建仁，徳富光恵，井上頼直（理研・太陽光科学）

10:30　1Fa07　酸性処理による S-state 遷移閾温度の上昇
小野高明，°井上頼直（理研・太陽光科学）

10:45　1Fa08　光化学系Ⅱコア標品での水分解系の再構築
°田村典明，蒲池浩之，穂刈博行，井上弘（富山大・理・生物）

11:00　1Fa09　化学修飾による 33 kDa タンパク質の酸素発生複合体への結合部位の研究
°植木潤，和田敬四郎（金沢大・理・生物）

11:15　1Fa10　光化学Ⅱコア複合体の酸素発生能に対する Lysylendopeptidase 処理の効果
°藤村洋子，P. Mohanty，村田紀夫（基生研）

11:30　1Fa11　Betaine protection of oxygen-evolving activity of photosystem Ⅱ
P. Mohanty，G. Papageorgiou，藤村洋子，°村田紀夫（基生研）

11:45　1Fa12　パルス光音響法による酸素発生機構の解析
°森宏樹，高橋正昭（甲南大・理・生物）

第1日　3月28日（水）　〈午後の部〉

A会場　タンパク質・酵素

13:00　1Ap01　ジャガイモ塊茎において細胞内存在部位を異にする2種のホスホリラーゼ・アイソザイム
°森博幸，中野憲一，谷澤克行，福井俊郎（阪大・産研）

13:15　1Ap02　ヤエナリ液胞膜 H^+-ATPase の低温傷害
°遠藤千絵，前島正義，吉田静夫（北大・低温研）

13:30　1Ap03　オーキシンにより誘導されるエンドウ子葉 α-アミラーゼの de novo 合成
°平澤栄次，山本進（大阪市大・理・生物）

13:45　1Ap04　Endo 型，Exo 型ポリガラクチュロナーゼの定量法
°田中敬一，石沢ゆり（農水省果樹試）

14:00　1Ap05　イネ培養細胞由来のβ-Glucan Synthase
°栗林郁夫，木村信，伊賀上郁夫[1]（新潟大・自然科学研究科，[1]新潟大・農化）

14:15　1Ap06　トウモロコシ葉の可溶性画分に存在するプロテアーゼ
古谷善明，°高宮建一郎（九大・理・生物）

14:30　1Ap07　光化学系Ⅱ膜のジチオスレイトール感受性4量体プロテアーゼの性質
°桑原朋彦（東邦大・理・生物分子）

14:45　1Ap08　好アルカリ性細菌 *Bacillus* YN-2000の *c* 型チトクロムの生育 pH による量的・質的変動
°湯本勲，福森義宏，山中健生（東工大・理・生命理学）

15:00　1Ap09　トマトにおけるフェレドキシン分子の組織特異性
°上出佳永子，酒井治美，和田敬四郎（金沢大・理・生物）

15:15　1Ap10　非光合成組織における電子伝達系（2）組織特異的 FNR の構造比較
°森ヶ崎進，田中育代，和田敬四郎（金沢大・理・生物）

15:30　1Ap11　ダイコンの根の ascorbate peroxidase　1.　純化と精製
森村洋子，°大屋俊英[1]，三原俊一[1]，猪川倫好[1]（恵泉短大，[1]筑波大・生物）

15:45　1Ap12　Glutamate dehydrogenase and protein synthesis by soybean cells.
P. D. Shargool and S. K. Bhadula (Dept. Biochemistry, Univ. Saskatchewan)

第1日　3月28日（水）　〈午後の部〉

16:00　1Ap13　硝酸及びグルタミン培地におけるホウレンソウ培養細胞の同化型硝酸還元酵素について
°白石斉聖，竹葉剛[1]，佐藤隆英，小倉長雄，中川弘毅（千葉大・園芸・農化，[1]京府大・生科・応生）

16:15　1Ap14　クロレラ細胞の熱応答における細胞の重水素化の影響
°海野けい子，山田直美，安藤一郎，岡田昌二（静岡県大・薬）

16:30　1Ap15　真正粘菌 *Physarum polycephalum* のスライム層に存在するN型糖タンパク質について
°守田雅志，西荒介（富山医薬大・薬・微生物）

16:45　1Ap16　真正粘菌 *Physarum polycephalum* の子実体形成に伴う膜たん白質の変化
°村田芳美，守田雅志，西荒介（富山医薬大・薬）

B会場　生体膜

13:00　1Bp01　イネの原形質膜 H^+-ATPase の活性化におよぼすホスファチジルコリンの分子種の影響
笠毛邦弘（農水省・生物資源研）

13:15　1Bp02　ヤエナリ液胞膜の H^+-ATPase 活性への種々のアミノ酸化学修飾試薬の影響
°山西弘恭，笠毛邦弘（農水省・生物資源研）

13:30　1Bp03　トウモロコシおよびホウレンソウの CF_1-ATPase の NBD-Cl による活性阻害とその結合部位
°鍵田文子，篠原健司[1]，笠毛邦弘（農水省・生物資源研，[1]森林総研）

13:45　1Bp04　ヤエナリ培養細胞の低温による液胞膜 H^+-ATPase の失活と回復
吉田静夫（北大・低温研）

14:00　1Bp05　植物の耐冷性と液胞膜 H^+-ATPase の硝酸イオン感受性
吉田静夫（北大・低温研）

14:15　1Bp06　食塩ストレスによるキウリ根膜画分のカルシウム，リン脂質，H^+-ATPase 活性の変動
G.C.Chung，°松本英明[1]（Chonnam Natl. Univ.，[1]岡山大・資生研）

14:30　1Bp07　植物培養細胞によるリン酸輸送と細胞質 pH の調節機構　I．蛍光試薬による細胞質 pH の測定
°三村徹郎，坂野勝啓[1]（東大・理・植物，[1]農水省・生物研）

14:45　1Bp08　植物培養細胞によるリン酸輸送と細胞質 pH の調節機構　II．有機酸代謝による調節
°坂野勝啓，矢崎芳明，清田誠一郎（農水省・生物研）

15:00　1Bp09　洋ナシ果実からのトノプラストの調製と糖の透過
°坂野満，山木昭平（名大・農）

15:15　1Bp10　塩ストレス状態のモヤシマメ幼根における H^+ 放出に及ぼす外液 Ca^{2+} の影響
°中村善行，下里規子，太田英二，坂田亮（慶大・理工・計測）

15:30　1Bp11　光照射によってチラコイド膜につくられる電位差と pH 差に対するアニオン輸送阻害剤の効果
°柴田正敏，荒田博行，山崎秀雄，西村光雄（九大・理・生物）

15:45　1Bp12　低温及び熱ショックを与えた“モヤシマメ”(*Vigna*) 芽生えにおける ^{1}H-NMR 緩和挙動とストレス誘導蛋白質
°井上眞理，賀来章輔（九大・教養・生物）

16:00　1Bp13　二次元電気泳動法による植物膜タンパク質複合体の分析
°久堀徹，赤羽康宏[1]，井上和仁[2]，岩上淳，真鍋勝司（横浜市立大・文理・生物，[1]ライオン，[2]神奈川大・理・応用生物）

16:15　1Bp14　大腸菌 *acrA* 遺伝子の細胞膜タンパク質の合成支配
°長谷篤，船附賢三[1]，中村運[1]（大阪市立環境科学研究所，[1]甲南大・理）

C会場　分子生物学II

13:00　1Cp01　イネ *waxy* 座遺伝子の構造と発現
°平野博之，山田初音，佐野芳雄（国立遺伝研）

第1日　3月28日（水）　〈午後の部〉

13:15　1Cp02　ダイズメタロチオネイン様 cDNA の単離
°川嶋一郎，井口義夫[1]，茅野充男，木村正己[2]，清水信義[1]（東大・農・農化，[1]慶応大・医・分子生物，[2]産医研）

13:30　1Cp03　カボチャ・グリオキシゾーム・リンゴ酸脱水素酵素の cDNA クローニングとその構造解析
°武田陽子，槻木竜二，西村いくこ，森仁志[1]，西村幹夫（神戸大・理・生物，[1] 基生研・情報制御）

13:45　1Cp04　カボチャ・グリコール酸酸化酵素のマイクロボディへの局在化
°槻木竜二，武田陽子，西村いくこ，西村幹夫（神戸大・理・生物）

14:00　1Cp05　アスコルビン酸ペルオキシダーゼの cDNA クローニング
°久保明弘，佐治光，田中浄，田中國介[1]，近藤矩朗（国立公害研・生物環境，[1]京府大）

14:15　1Cp06　ハツカダイコン子葉のセネッセンス時に特異的に発現するグルタミン合成酵素遺伝子の構造
°数岡徹，横井宏行，渡辺昭（名大・農・生化学制御）

14:30　1Cp07　トウモロコシ フェレドキシン依存性グルタミン酸合成酵素の遺伝子と発現
°榊原均，長谷俊治，杉山達夫（名大・農化）

14:45　1Cp08　キュウリのアスコルビン酸オキシダーゼのゲノム遺伝子のクローニング
°大川淳，大屋智資，岡田尚輔，新名惇彦，高野光男（阪大・工・発酵）

15:00　1Cp09　イネグルタミン合成酵素アイソザイム遺伝子プロモーターのタバコでの発現調節
°木崎暁子，坂本敦[1]，田中國介[1]，竹葉剛[2]（京大・農・応植，[1]京府大・農化，[2]京府大・応生）

15:15　1Cp10　矮化遺伝子 (*rolC*) 5′側非転写領域の特異的構造と結合タンパク質——AT-1 box および octamer 配列の存在について
°金谷潔，早川克志，内宮博文（筑波大・生物）

15:30　1Cp11　レポーター遺伝子による分化始原細胞の解析
°内宮博文，藤井伸治，菅谷純子（筑波大・生物）

15:45　1Cp12　トランスジェニック植物における Ri プラスミド *rolC* 遺伝子産物の解析
°大野豊，里見透，内宮博文（筑波大・生物科学）

16:00　1Cp13　T-DNA 転移の分子機構；VirD4 タンパク質の *Agrobacterium* 膜局在性
°岡本繁久，伊藤賢治，山本章子，町田泰則（名大・理・生物）

16:15　1Cp14　トウモロコシのトランスポゾン *Ac* と *Ds* のイネへの導入と転移・トランスポゾンの脱離により生ずる塩基配列
°飯田滋，井沢毅[1]，山本幹博[1]，寺田理枝[1]，宮崎力，島本功[1]（東理大・基礎工，[1]植工研）

16:30　1Cp15　パーティクルガンによる植物細胞への遺伝子導入と発現（第4報）
森川弘道，°鎌田光宣，飯田朝子，関原明，山田康之（京大・農・細胞実験センター）

16:45　1Cp16　ラン藻への遺伝子導入
°細谷義孝，北廣恒司，芦田直美，澤嘉弘，柴田均，落合英夫（島根大・農・生物機能）

17:00　1Cp17　植物種子の Ti-プラスミド-アグロバクテリア系による形質転換条件
°山際洋子，西川正信，鈴木克周，吉田和夫（広島大・理・植物）

D会場　組織培養

13:00　1Dp01　テンサイ懸濁培養細胞に対するウサギ血清の影響について
°増田宏志，菅原四郎（帯広畜大・農化）

13:15　1Dp02　オーキシン飢餓，再添加により誘導されるニチニチソウ同調培養系の確立
西田敏昭，°大西直人，児玉浩明，駒嶺穆（東北大・理・生物）

13:30　1Dp03　ニンジン不定胚分化初期過程における分裂活性の推移と組織構築の三次元画像解析
°藤原有仁，川原良一，福田裕穂，駒嶺穆（東北大・理・生物）

13:45　1Dp04　cAMP によるトレニア茎切片からの不定芽誘導
石岡奈穂子，°谷本靜史（佐賀大・農・生物工学）

第1日　3月28日（水）　〈午後の部〉

14:00　1Dp05　コーヒー，*Coffea canephora* の体細胞胚形成と植物成長調節物質との関係
°畠中知子，安田武司[1]，内田直次，山口禎[1]（神戸大・自然科学，[1]神戸大・農・園芸農学）

14:15　1Dp06　*Coffea arabica* の体細胞胚形成能を持つカルスの特徴——特にタンパク質について——
°神山俊治，畠中知子[1]，仲西孝弘[1]，安田武司[2]，内田直次[1]，山口禎[2]（長瀬産業，[1]神戸大・自然科学，[2]神戸大・農）

14:30　1Dp07　再分化能をもつインド型イネ培養細胞の特異的タンパク質について
°仲西孝弘，神山俊治[1]，安田武司，内田直次[2]，山口禎（神戸大・農，[1]長瀬産業，[2]神戸大・自然科学）

14:45　1Dp08　光誘導アントシアン合成系の酵素活性 mRNA レベルに対する桂皮酸の効果
°竹田淳子，阿部俊之助[1]（京大・農，[1]愛媛大・農）

15:00　1Dp09　ヨウシュヤマゴボウ培養細胞におけるチロシン供給レベルでのベタシアニン生成の制御
°作田正明，清水碩（お茶の水大・理・生物）

15:15　1Dp10　ニンジン培養細胞の β-1,3-glucanase
°時任康弘，黒崎文也，守田雅志，西荒介（富山医薬大・薬）

15:30　1Dp11　茎頂培養アサクラサンショウ育成株の生葉香気成分
°今泉和光，戸塚良宣，小田茂，山田康之[1]（PL学園女子短大・植物研，[1] 京大・細胞実験センター）

15:45　1Dp12　ニチニチソウ茎葉器官培養における二量体インドールアルカロイド生合成について
°片山博史，瀬川恭子，平田収正，宮本和久，三浦喜温（阪大・薬）

16:00　1Dp13　茶カルスのテアニン蓄積に及ぼす前駆体及び温度の効果
°松浦孝宣，角田隆巳（伊藤園・中央研究所）

16:15　1Dp14　カボチャ培養細胞から分泌されるキチナーゼおよびアスコルビン酸酸化酵素について
°江坂宗春，榎恵子，藤沢浩一，豊田安基江（広島大・生物生産）

16:30　1Dp15　コンピュータ制御電気信号発生器によるプロトプラストの性状——2
°前田桝夫，中村三千代（福井大・教育・生物）

16:45　1Dp16　花粉プロトプラストの寒天培地及び柱頭上での発芽について
°西原昌宏，伊藤道夫[1]（名古屋大・理・生物，[1]静岡大・理・生物）

E会場　成長調節物質

13:00　1Ep01　トウモロコシ子葉鞘の L- および D-トリプトファンそれぞれに特異的なアミノ基転移酵素
小柴共一（都立大・理・生物）

13:15　1Ep02　D-トリプトファンを経由するインドール酢酸生合成経路の検討
°鶴崎健一，桜井直樹，倉石晉（広島大・総科）

13:30　1Ep03　トマトのつぼみから果実までの成長段階での IAA と ABA の変動
°倉石晉，児島清秀，櫻井直樹，房尾一宏[1]（広大・総科，[1]広島県農試）

13:45　1Ep04　*Pichia spartinae* におけるインドール酢酸の存在と作用
°中村輝子，村上智子，早乙女真紀，村山肇子[1]，橘和丘陽[2]，メイヤー サムエル[3]（日女大，[1]関東学院大，[2]島津製作所，[3]ルイジアナ大学）

14:00　1Ep05　アカパンカビ albino 株の分生子発芽過程
°沖津由紀子，中村輝子（日本女子大・生理研）

14:15　1Ep06　プラズマエッチング処理によるレタス種子発芽におけるジベレリン感受性の上昇
°井上康則，江頭徹太郎[1]，本多卓也[1]，神沢淳[1]（東大・理・植物，[1]東工大・工・化工）

14:30　1Ep07　イネ茎葉部内生ジベレリン含量に及ぼす矮化剤 BX-112 の影響
°中山礎，阿部洋，小林正智[1]，神谷勇治[1]，桜井成[1]（クミアイ化学，[1]理研）

14:45　1Ep08　矮化剤 BX-112 を用いた活性型ジベレリンの研究
小林正智，°神谷勇治，中山礎[1]，阿部洋[1]，桜井成（理研，[1]クミアイ化学）

15:00　1Ep09　正常品種のイネをパクロブトラゾールにより矮化して短銀坊主の代わりに用いる点滴法
村上浩（農業生物資源研）

第1日　3月28日（水）　〈午後の部〉

15:15　1Ep10　わい性エンドウの光生長抑制の定常状態と回復期における生長抑制物質 A-2 と xanthoxin の挙動
°野口尚，鶴見誠二，橋本徹（神戸大・自然科学）

15:30　1Ep11　コムギ種子の休眠とアブシジン酸によって変化する胚の mRNA
°川上直人，川端ちさと，野田和彦（横浜市大・木原生研）

15:45　1Ep12　トマトにおけるペクチナーゼのエチレン生合成系に及ぼす影響について
°沢村正義，宮崎智子，伊藤耕三（高知大・農・農化）

16:00　1Ep13　ACC 合成酵素の cDNA の構造
°中嶋信美，森仁志[1]，山崎健一，今関英雅（名大・農・生化学制御，[1]基生研・情報制御）

16:15　1Ep14　エチレンによりアズキ第1葉に誘導される蛋白質の性質とその遺伝子の cDNA クローニング
°石毛郁治，森仁志[1]，山崎健一，今関英雅（名大・農・生化学制御，[1]基生研・情報制御）

F会場　光化学系Ⅱ

13:00　1Fp01　担体を用いない光化学系Ⅱ膜乾燥標品の調製
°川本邦男，浅田浩二（京大・食研）

13:15　1Fp02　光化学系Ⅱコア-複合体の構造の沈降法および電子顕微鏡による解明
寺下紀子，小林睦，藤吉好則[1]，°高橋正昭（甲南大・理・生物，[1]蛋白工学研）

13:30　1Fp03　系Ⅱコア複合体の解体
°小池裕幸，藤井良子，井上頼直（理研・太陽光科学）

13:45　1Fp04　シネココッカス系Ⅱ・反応中心複合体の Zwittergent 3-14 による部分的解体
°菓子野康浩，佐藤和彦，加藤栄（東大・理・植物）

14:00　1Fp05　シネココッカス D1-D2-チトクローム b_{559} 複合体の単離とその性質
°元木章裕，佐藤和彦，加藤栄（東大・理・植物）

14:15　1Fp06　光化学系Ⅱ反応中心の部分解体
°唐暁松，伏見和郎[1]，佐藤公行[1]（四川大・生物系，[1]岡山大・理・生物）

14:30　1Fp07　D1/D2/cytochrome b-559 反応中心複合体中の Chl a と β-カロテンの分子数
°小林正美，前田広幸，渡辺正，中根弘之[1]，佐藤公行[1]（東大・生産研，[1]岡山大・理・生物）

14:45　1Fp08　光化学Ⅱ反応中心 (D_1-D_2-b_{559}) 複合体へのキノン再構成——ハロゲン化キノンは Q_A 機能をリゲインできるか？！
中根弘之，佐藤公行，岩城雅代[1]，°伊藤繁[1]（岡山大・理・生物，[1]基生研）

15:00　1Fp09　ハロゲン置換ベンゾキノンと Q_B 部位との相互作用
°佐藤和彦，加藤栄，A. Donner[1]，W. Oettmeier[1]（東大・理・植物，[1]Ruhr Univ.）

15:15　1Fp10　光化学系Ⅱ膜における D1タンパク質とアトラジンの親和性に影響を与える要因
高野正好，°高橋正昭（甲南大・理・生物）

15:30　1Fp11　PS II　Q_A 機能の再構成．そのⅡ
°福原聡，荒賀千笑，赤堀興造，豊島喜則（広島大・総合科）

15:45　1Fp12　光合成光化学系Ⅱプラストキノンアニオンラジカル ($Q_A^{\bullet}$) の EPR/ENDOR
小林次郎，°赤堀興造，豊島喜則，河盛阿佐子[1]（広島大・総合科，[1]関学大・理）

16:00　1Fp13　配向した PS II 膜の ENDOR による研究
°三野広幸，河盛阿佐子，小寺義男，永谷明美（関西学院大・理）

16:15　1Fp14　光化学系Ⅱの D1タンパク質のヨウ素化部位
°池内昌彦，篠原健司[1]，井上頼直（理研・太陽光科学，[1]森林総研・遺伝子発現）

16:30　1Fp15　葉緑体熱発光の発光スペクトル
°園池公毅，小池裕幸，井上頼直（理研・太陽光科学）

16:45　1Fp16　イネクロロフィル b 突然変異株におけるケイ光クエンチングの段階的暗回復過程
°小林善親，山本晃市，与志平尚，奥達雄（九大・農・林）

第2日　3月29日（木）　〈午前の部〉

A会場　酵素

9:00　2Aa01　D1蛋白質プロセシング酵素の精製と性質（続報）
°藤田修嗣，佐藤公行（岡山大・理・生物）

9:15　2Aa02　アルファルファ発芽種子中のアミラーゼ系の特殊性
°河野昭子，南森隆司[1]（大手前栄養文化学院，[1]神戸大・農）

9:30　2Aa03　イネ種子からの Branching Enzyme (Q-Enzyme) の精製
°武市哲郎・中村保典（農業生物資源研）

9:45　2Aa04　ホウレンソウ緑葉中に存在する硝酸還元酵素不活性化因子の精製と性質
°吉村倫彰，佐藤隆英，小倉長雄，中川弘毅（千葉大・園芸・農化）

10:00　2Aa05　NAD-ME 型 C_4 植物からのアスパラギン酸アミノ基転移酵素アイソザイムの精製とその性質
°谷口光隆，杉山達夫（名大・農・農化）

10:15　2Aa06　ニラにおけるシステイン合成酵素系に関する研究
°中村勝人，田村五郎（千葉大・農化）

10:30　2Aa07　フェレドキシン-NADP 還元酵素の精製途上における限定分解について
辻田麻紀，亀井加恵子[1]，°先浜直子，押野礼子[1]，新勝光（神戸大・理・生物，[1]神戸山手女短大・生化）

10:45　2Aa08　ソラマメ葉肉細胞液胞のペルオキシダーゼの精製とその性質
高浜有明夫（九州歯大・生物）

11:00　2Aa09　アスコルビン酸ペルオキシダーゼの組織及び細胞内での分布——分別定量法——
°陳功祥，浅田浩二（京大・食研）

11:15　2Aa10　アスコルビン酸ペルオキシダーゼの自殺基質——その構造との関係
陳功祥，°尼子克己，浅田浩二（京大・食研）

11:30　2Aa11　モノデヒドロアスコルビン酸還元酵素のアミノ酸配列
°佐野智，浅田浩二（京大・食研）

11:45　2Aa12　葉緑体グルタチオン還元酵素の特異性
°田中浄，久保明弘，榊剛，河村幸雄[1]（国立公害研・生物，[1]食総研・蛋白研）

B会場　オルガネラ

9:00　2Ba01　とうもろこし葉原形質膜の Ca^{2+} ポンプの可溶化と再構成
°葛西身延，武藤尚志，宮地重遠（東大・応微研）

9:15　2Ba02　イネ細胞膜構成タンパク質の組織間での比較
°川崎信二，宮本勝[1]，児玉治[1]，赤塚尹巳[1]（農水省・生物研，[1]茨城大・農化）

9:30　2Ba03　タバコ培養細胞のゴルジ体分画の細分画とゴルジ体特異的タンパク質の検出
°川崎信二，宮本勝[1]（農水省・生物研，[1]茨城大・農化）

9:45　2Ba04　ホウレンソウ培養細胞からの液胞の単離及び精製
°本間督二，小倉長雄，佐藤隆英，中川弘毅（千葉大・園芸・農化）

10:00　2Ba05　ヤエナリ胚軸の伸長細胞における液胞膜の発達機構
前島正義（北大・低温研）

10:15　2Ba06　イタドリ胚軸細胞液胞中のアントシアニン蓄積能のある小胞について
°久保浩義，野末雅之，安田齊（信州大・理・生物）

10:30　2Ba07　サツマイモ培養細胞のアントシアノプラストの単離とその諸性質の検討
°野末雅之，西村幹夫[1]，今関英雅[1]，久保浩義，服部千穂，加藤朗，臼田信光[2]，永田哲士[2]，安田斉（信州大・理・生，[1]基生研・情報制御，[2]信州大・医・第1解剖）

10:45　2Ba08　高分泌突然変異 (*ssl1*) は液胞のプロテアーゼをミスソーティングする
°鈴木克周[1,2]，地神芳文[1]（[1]工業技術院・化学技術研究所，[2]広島大・理）

第2日　3月29日（木）　〈午前の部〉

11:00　2Ba09　単離チラコイドへのタンパク質の輸送
°小西智一，丸田嘉幸，渡辺昭（名大・農・生化学制御）

11:15　2Ba10　イネ温度感受性クロロフィル突然変異株における葉緑体の発達
°射場厚，高宮建一郎，藤義博，西村光雄，佐藤光[1]（九大・理・生物，[1]九大・農・遺伝子）

11:30　2Ba11　同調培養ユーグレナ細胞における LHCP II の細胞内分布に関する免疫電子顕微鏡法による観察
°長舩哲齊，角田修次，江原友子，J. A. Schiff[1]，長谷栄二[2]（東医大・微生物，[1]ブランダイス大・光生物，[2]帝京大・医）

11:45　2Ba12　クラミドモナスの基粒体に DNA は存在しない
°黒岩常祥，内田英伸，矢部尚登（東大・理・生物）

C会場　分子生物学III

9:00　2Ca01　細胞周期特異的 cDNA のニチニチソウ培養細胞の増殖過程における発現パターンの解析
°伊藤正樹，児玉浩明，駒嶺穆（東北大・理・生）

9:15　2Ca02　ニチニチソウ同調培養系の細胞周期における proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 遺伝子の発現の解析
°児玉浩明，伊藤正樹，大西直人，鈴鹿巌[1]，駒嶺穆（東北大・理・生物，[1]農水省・生物研）

9:30　2Ca03　タバコ培養細胞への高頻度形質転換系を用いた液胞タンパク質の液胞輸送シグナルの検討
°松岡健，中園幹生，中村研三（名大・農・生化）

9:45　2Ca04　サツマイモ葉柄における塊根主要タンパク質とデンプンのショ糖処理による蓄積誘導
°大藤雅章，武田真，中村研三（名大・農・生化）

10:00　2Ca05　サツマイモ塊根主要タンパク質スポラミン遺伝子プロモーター:GUS 融合遺伝子のトランスジェニック・タバコでの発現
°太田象三，服部東穂，中村研三（名大・農・生化）

10:15　2Ca06　サツマイモ塊根主要タンパク質遺伝子の 5′上流域に結合する核内因子
°石黒澄衛，加藤麻理子，中村研三（名大・農・生化）

10:30　2Ca07　タバコ葉肉プロトプラストより単離されたオーキシンで誘導される遺伝子 *par* のシス・エレメントの決定
高橋陽介，丹羽康夫，町田泰則，°長田敏行[1]（名大・理・生，[1]基生研・細胞生物）

10:45　2Ca08　タバコ感染特異的 (PR) タンパク質遺伝子のタバコ葉肉プロトプラスト中における発現制御
°大橋祐子，大島正弘，松岡信（農水省・生物研）

11:00　2Ca09　タバコ感染特異的タンパク質遺伝子の 5′上流域に結合す核内因子
°萩原央子，松岡信，大島正弘，渡辺実[1]，細川大二郎[1]，大橋祐子（農水省・生物研，[1]東農工大）

11:15　2Ca10　タバコ PR タンパク質遺伝子の発現は植物の生育段階において異なる制御を受けている
°村上高，横山富美子，大島正弘，松岡信，大橋祐子（農水省・生物研）

11:30　2Ca11　タバコ PR タンパク質遺伝子の異種植物における発現制御
°伊藤博孝，榎本末男，石毛光雄，大島正弘，村上高，大橋祐子（農水省・生物研）

D会場　炭酸固定

9:00　2Da01　ホウレンソウ葉緑体における PGA 依存の酸素発生
°都筑幹夫，M. N. Sivak[1]，D. A. Walker[1]（東大・応微研，[1]シェフィールド大・光合成研）

9:15　2Da02　定常状態におけるカルビンサイクルの調節機構：phosphoribulokinase と aldolase の役割
°岩城俊雄，和田野晃，横田明穂，姫野道夫（大阪府大・農・農化）

9:30　2Da03　D_2O 環境下におけるクロレラの sucrose 合成とその調節
°榛葉繁紀，山内伸子，海野けい子，岡田昌二（静岡県大・薬）

9:45　2Da04　イネの穂の炭酸固定特性と関連酵素の誘導について
今泉信之，鮫島宗明[1]，石原邦（東京農工大・農，[1]農水省・生物研）

第2日　3月29日（木）　〈午前の部〉

10:00　2Da05　CO_2濃度によるピレノイドの制御と RuBP carboxylase 活性
°朽津和幸，都築幹夫，宮地重遠（東大・応微研）

10:15　2Da06　コムギ葉より機械的または酵素的手法により単離した葉緑体の RuBisCO 分解特性
宮台健司，前忠彦，°鈴木正人，牧野周，小島邦彦（東北大・農・農化）

10:30　2Da07　ケイ光プローブを使っての RuBisCO の反応時の構造変化の解析
横田明穂（大阪府大・農）

10:45　2Da08　高濃度 RuBP 存在下におけるホウレンソウ RuBisCO の動力学的諸性質
°辻本憲孝，横田明穂（大阪府大・農）

11:00　2Da09　水陸両生植物エレオカリスの組織構造と光合成酵素の分布
°上野修，鮫島宗明（農水省・生資研）

11:15　2Da10　窒素欠乏トウモロコシの回復過程における代謝中間体と PEP カルボキシラーゼ mRNA レベルの変動
°Bambang Sugiharto，杉山達夫（名大・農）

11:30　2Da11　微細藻類のグリコール酸取り込み機構
°白岩善博，大川英子[1]，猪熊正則（新潟大・理・生物，[1]日本化薬・高崎研究所）

11:45　2Da12　*R. rubrum* プラスミドと G-1-P adenylyltransferase 遺伝子のホモロジー
°金福煥，井手口隆司，西瀬弘[1]，胡澄，山下仁平[2]，角野冨三郎（阪大・蛋白研，[1]甲子園大，[2]阪大・RI センター）

E会場　成長制御・傷害

9:00　2Ea01　光合成促進物質の検索
°蔡晃植，趙徹，玄丞培，磯貝彰，鈴木昭憲（東大・農化）

9:15　2Ea02　バレイショ塊茎形成活性を示す化合物
°幸田泰則，高橋淳，喜久田嘉郎（北大・農・植物）

9:30　2Ea03　紫外線 UV-B 照射のキュウリ芽生えに及ぼす影響
近藤矩朗，川口和彦[1]（国立公害研究所，[1]東邦大学）

9:45　2Ea04　ゼニゴケの細胞増殖に関与するプロテインキナーゼ (MK-II) の生理的な役割
°金勝一樹，道家建二郎，大槻健蔵[1]（北里大・教養・生物，[1]衛生・生物科学）

10:00　2Ea05　イネ培養細胞のメチルシトシンについて
°田仲可昌，大野清春[1]（筑波大・生物科学，[1]生物資源研・細胞育種）

10:15　2Ea06　褐藻遊走子の cAMP
°大森正之，武藤尚志[1]，宮地重遠[1]（東大・海洋研，[1]東大・応微研）

10:30　2Ea07　ラン藻の cAMP: アデニル酸シクラーゼ活性との相関
坂本敏夫，村田紀夫[1]，°大森正之[2]（東大・理・生化，[1]基生研，[2]東大・海洋研）

10:45　2Ea08　イネの2種類の老化異常変異体 (non-yellowing mutant) の性質について
°川崎信二，飯田修一[1]（農水省・生物研，[1]農水省・放射線育種場）

11:00　2Ea09　ヤグルマギク培養細胞におけるアントシアニン生成と紫外光によるピリミジン二量体形成の防御
°高橋昭久，武田幸作，大西武雄[1]（東京学芸大・生物，[1]奈良県立医大・生物）

11:15　2Ea10　トマトの培養細胞と芽ばえにおけるカドミウム結合性物質の生成
°井上雅裕，光宗円，今井千春，村山徹郎（愛媛大・理・生物）

11:30　2Ea11　イネ幼苗における凍結融解傷害に関連するタンパク質
°肥後健一，肥後ひろみ（農水省・生物研）

第2日　3月29日（木）　〈午前の部〉　　〈午後の部〉

F会場　光化学系 I

9:00　2Fa01　光化学系 I 反応中心複合体のサブユニット構成
°岩崎行玄，中島京也，石川浩，高倍昭洋（名城大・理工・化学）

9:15　2Fa02　高等植物の光化学系 I 複合体の低分子量タンパク質成分の同定
°池内昌彦，平野篤[1]，檜山哲夫[2]．井上頼直（理研・太陽光科学，[1]東京電力，[2]埼玉大・生化）

9:30　2Fa03　5 kDa ポリペプチドを結合した光化学系 I 標品の架橋反応について
°星名哲，須江七丈，和田敬四郎，伊藤繁[1]，榎並勲[2]（金沢大・理・生物，[1]基生研，[2]東理大・理・生物）

9:45　2Fa04　鉄・イオウセンター A, B を配位する 9 kDa ポリペプチドの単離・精製とその性質
°大岡宏造，伊藤繁[1]，佐伯和彦，高橋康弘，松原央（阪大・理・生物，[1]基生研）

10:00　2Fa05　高等植物及びランソウ光化学系 I 9 kDa サブユニット遺伝子 (*psa* C) の解析
°清水徳朗，檜山哲夫，小池裕幸[1]，池内昌彦[1]，井上頼直[1]（埼玉大・理・生化，[1]理研）

10:15　2Fa06　ホウレンソウ葉から精製した PSI 反応中心複合体標品に含まれる 19 kDa 蛋白
°仲本準，檜山哲夫（埼玉大・理・生化）

10:30　2Fa07　異質倍数性に由来するタバコ属光化学系 I サブユニットの多形性
°三上浩輝[1,2]，小保方潤一[1]，林田信明[3]，杉浦昌弘[4]（[1]北大・遺伝子，[2]北大・理・植，[3]理研・遺伝子解析，[4]名大・遺伝子）

10:45　2Fa08　光化学系 I 粒子および緑色光合成細菌光化学系粒子のシステイン含有ペプチド
°白澤聖一，井上和仁[1]，檜山哲夫[2]，高橋健治[3]，桜井英博（早大・教育・生物，[1]神奈川大・理・生物，[2]埼玉大・理・生化，[3]東大・理・生化）

11:00　2Fa09　光化学系 1 で機能する集光性クロロフィルタンパク質複合体
°小木曽英夫，檜山哲夫（埼玉大・理・生化）

11:15　2Fa10　光化学系 I 反応中心標品の機能と構造
°檜山哲夫，平岩裕美，大日向光，鈴木浩一（埼玉大・理・生化）

11:30　2Fa11　キノン及びキノン類似化合物を再構成した改造光化学系 I 反応中心（1）キノン，鉄硫黄センター，P700, A_0 の反応
°伊藤繁，岩城雅代，星名哲[1]（基生研，[1]金沢大・理・生物）

11:45　2Fa12　キノン及びキノン類似化合物を再構成した改造光化学系 I 反応中心（2）キノン結合部位（Q_ϕ 部位）の構造
°岩城雅代，伊藤繁（基礎生物学研究所）

第2日　3月29日（木）　〈午後の部〉

A会場　タンパク質・脂質

13:00　2Ap01　タバコ不定胚性花粉に特徴的に出現するリン酸化蛋白質の細胞内局在性と部分精製法
°京正晴，大川俊彦，宮武博昭（香川大・農）

13:15　2Ap02　クラミドモナスの 28 kDa ユビキチン化蛋白質の精製と同定
°下河原浩介，武藤尚志，宮地重遠（東大・応微研）

13:30　2Ap03　カボチャ黄化子葉からの非特異性脂質転移タンパク質の精製
°堀純子，坪井滋，山田晃弘（東大・教養・生物）

13:45　2Ap04　種子の脂質蓄積に及ぼす光の影響
°稲永醇二，柳川辰己，中庸一，山之口佳与子（鹿大・農）

14:00　2Ap05　クロレラの脂質代謝に対する CO_2 濃度の影響
°佐藤典裕，川口昭彦（東大・教養・生物）

14:15　2Ap06　Changes in membrane constituents by mutation of the gene for fatty acid desaturase in the cyanobacterium, *Synechocystis* PCC6803
Gombos, Z., H. Wada, Z. Varkonyi, N. Murata(Natl. Inst. Basic. Biol.)

14:30　2Ap07　*Vibrio* ABE-1株の温度シフトに伴うリン脂質分子種の変動について
°岡島伸浩，森田直樹，奥山英登志，佐々木昭治，東正一[1]，村田紀夫[1]（北大・理・植物，[1]基生研）

14:45　2Ap08　*Vibrio* ABE-1株による長鎖脂肪酸の *in vitro* 生合成について
°森田直樹，岡島伸浩，奥山英登志，佐々木昭治，東正一[1]，村田紀夫[1]（北大・理・植物，[1]基生研）

15:00　2Ap09　サフラワー種子ホスファチジン酸ホスファターゼの細胞内転移による脂肪合成の調節
°市原謙一，室田直紀，藤井昭治（京都府大・農）

15:15　2Ap10　チャ生葉ヒドロペルオキシド開裂酵素の精製と性質
°松井健二，梶原忠彦，畑中顯和（山口大・農・農化）

15:30　2Ap11　アシルー（アシルキャリアプロテイン）チオエステラーゼの精製と性質
°今井博之，西田生郎，村田紀夫（基生研）

B会場　代謝

13:00　2Bp01　グラム陽性脱窒細菌 *Bacillus firmus* の亜硝酸還元系
°浦田克郎，佐藤敏生[1]（小山工業高専，[1]広島大・理・植物）

13:15　2Bp02　*Chlamydomonas* におけるセレン添加及び低 CO_2 培養による Glutathione peroxidase の誘導
°武田徹，重岡成，横田明穂[1]，飯塚義富（近畿大・食栄，[1]大阪府大・農化）

13:30　2Bp03　ラン藻 *Trichodesmium* NIBB1067の窒素固定：窒素固定活性の制御
°大城香，J. P. Zehr[1]，P. G. Falkowski[2]，藤田善彦（基生研・細胞生物，[1]ニューイングランドバイオラボ，[2]ブルックヘブン国立研）

13:45　2Bp04　ラン藻 *Trichodesmium* NIBB1067の窒素固定:窒素固定酵素の細胞内分布
°大城香，P. G. Falkowski[1]，藤田善彦（基生研・細胞生物，[1]ブルックヘブン国立研）

14:00　2Bp05　硝酸イオンによるマメ科根粒レグヘモグロビンの機能阻害
°金山喜則，山本幸男[1]（名大・農・園芸，[1]名古屋学院大）

14:15　2Bp06　タンパク質合成阻害剤によるシャジクモ細胞内におけるアミノ酸分布の変動
°田沢仁，三村徹郎，坂野勝啓[1]，森安裕二[2]（東大・理・植物，[1]農業生物資源研，[2]静岡県立大・生物）

14:30　2Bp07　カゼクサ種子の温度処理による二次休眠制御とアミノ酸代謝について
高橋信，植松直子，°鈴木章方（山梨大・教育・生物）

14:45　2Bp08　クロレラ白色変異体のアミノ酸取り込み及びアンモニア放出に対する青色光効果
°神谷明男，W. Kowallik[1]（帝京大学・薬学部・化学，[1]西独・ビーレフェルト大）

15:00　2Bp09　オーキシンを含まない培地で培養した Hiproly オオムギカルスにおける S-アデノシルメチオニンと1-メチルヒスチジン含量の変化について
加藤芳伸（北海道立衛研・生活科学部）

15:15　2Bp10　オオムギ・エチオプラストのプロテオリシス
°本多忠紀，田中歩，辻英夫（京大・理・植物生態研）

15:30　2Bp11　発芽ヤエナリ種子の子葉におけるα-アミラーゼの発現様式
°肥塚信也，田中喜之[1]，諸橋征雄（東京農工大・農，[1]農水省・農環研）

15:45　2Bp12　ステビア葉中のステビオール，ステビオサイド類の配糖体化酵素
°柴田均，園家暁，落合英夫，西橋秀治[1]，山田正治[1]（島根大・農・生物機能学，[1]大日本インキ・中研）

第2日　3月29日（木）　〈午後の部〉

C会場　分子生物学Ⅳ

13:00　2Cp01　緑化過程における小麦光化学系Ⅱ mRNA 群の経時変化
°川口博，福田功，椎名隆，豊島喜則（広島大・総合科）

13:15　2Cp02　重複遺伝子族に由来するタバコ光化学系Ⅰ *psaE* サブユニットの多形性
°小保方潤一[1]，三上浩輝[1,2]，林田信明[3]，山本義治[4]，杉浦昌弘[5]（[1]北大・遺伝子，[2]北大・理・植，[3]理研・遺伝子解析，[4]京大・理・植生研，[5]名大・遺伝子）

13:30　2Cp03　*Nicotiana* 属の光化学系　Ⅰ *psa* H 蛋白をコードする cDNA の解析
°林田信明，井土伸一[1]，小保方潤一[2]，杉浦昌弘[3]（理研・遺伝子解析，[1]北大・理・植，[2]北大・遺伝子，[3]名大・遺伝子）

13:45　2Cp04　エンドウ　フィトクロムⅠ遺伝子–GUS 遺伝子融合体のペチュニアにおける発現制御
°山下博史，米田好文，佐藤直樹[1]，内藤哲（東大・遺伝子，[1]東大・理・植物）

14:00　2Cp05　酵母菌におけるエンドウフィトクロムアポ蛋白質の発現とその解析
伊藤直子，°富澤健一，古谷雅樹（理研・フロンティア）

14:15　2Cp06　シロイヌナズナ・熱ショックタンパク質遺伝子の発現解析
°高橋卓，米田好文（東大・遺伝子実験施設）

14:30　2Cp07　トランスジェニック・アラビドプシスにおけるダイズ種子貯蔵蛋白質遺伝子発現の変異株を用いた解析
°内藤哲，米田好文（東大・遺伝子実験施設）

14:45　2Cp08　トランスジェニック植物におけるダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子発現の栄養条件による制御
°横田優美，藤原徹，内藤哲[1]，米田好文[1]，茅野充男（東大・農学部，[1]東大・遺伝子）

15:00　2Cp09　トランスジェニック・アラビドプシスにおけるペチュニアカルコン合成酵素遺伝子 CHS-A::GUS 融合遺伝子の糖による発現制御
°塚谷裕一，大嶋利幸[1]，内藤哲，茅野充男[1]，米田好文（東大・遺伝子実験施設，[1]東大・農・農芸化学）

15:15　2Cp10　Developmentally regulated expression of a chalcone synthase promoter-GUS chimeric gene in tobacco.
D. Wing，Klaus Frize[1]，Jeff Schell[1]（農業生物資源研，[1]マックスプランク研）

15:30　2Cp11　形質転換タバコにおける外来遺伝子の発現と遺伝
加藤明（農業生物資源研究所）

15:45　2Cp12　植物における転写因子の構造と機能Ⅰ．cDNA 及び遺伝子の解析から明らかにされた核タンパク因子の構造とその特徴
高瀬尚文，°三上浩司，高山しのぶ，坂本綾子，野沢康平，中山卓哉，多羽田哲也，岩渕雅樹（京大・理・植物）

D会場　光生物学

13:00　2Dp01　エンドウ胚軸におけるフィトクロム発色団の生合成に対する Fe ケラターゼ阻害剤 (N–Methyl Mesoporphyrin IX) の効果について
°許斐康嗣[1]，李合生[1,2]，古谷雅樹[1]（[1]理研・国際フロンティア，[2]武漢華中農業大学）

13:15　2Dp02　フィトクロム発色団の分子内配向と光変換による変化；intact と large フィトクロムの比較
°徳富哲，三室守（基生研）

13:30　2Dp03　エンドウ　フィトクロムの共鳴ラマン散乱スペクトル；Pr 型 large フィトクロムに対する重水置換効果
°徳富哲，水谷泰久[1]，北川禎三[1]（基生研，[1]分子研）

13:45　2Dp04　イネ フィトクロム遺伝子導入タバコにおける光による成長制御
°長谷あきら，S. A. Kay[1]，M. Deak.[1]，N.-H. Chua[1]，古谷雅樹（理研・国際フロンティア，[1]Rockefeller 大）

14:00　2Dp05　シダ原糸体細胞の葉緑体光定位運動にともなうアクチンフィラメント構造の変化
°門田明雄，和田正三（都立大・理・生物）

第2日　3月29日（木）　〈午後の部〉

14:15　2Dp06　カルシウムと強い一方向レーザー (458 nm) 光照射によるフシナシミドロの負光屈性の誘導
片岡博尚（東北大・遺伝生態研究センター）

14:30　2Dp07　クリノスタット上のアベナ子葉鞘の光屈性（II）
°三好泰博，森安裕二（静岡県立大・教養・生物）

14:45　2Dp08　カニクサ胞子発芽に対する光およびジベレリンの作用の相互関係について
°加川貴俊，菅井道三（富山大・理・生物）

15:00　2Dp09　藓類ケヘチマゴケ原糸体の生長を誘導する光質について
°江口亨，逸見光明（山口大・理・生物）

15:15　2Dp10　UV-A による植物の生長促進
°手塚修文，安藤由香（名大・農・園芸）

15:30　2Dp11　紫外光照射によって *Rhodotorula minuta* 細胞膜画分に生じる吸収スペクトル変化
°多田幹郎，中川一郎，荒見真一郎，中辻勝也，木村吉伸，高木茂明（岡山大・農）

15:45　2Dp12　紫外光照射によって *Rhodotorula minuta* 菌体に生じる吸収スペクトルの変化
多田幹郎，滝本浩之，°荒見真一郎，木村吉伸，高木茂明（岡山大・農）

E会場　細胞運動・細胞骨格

13:00　2Ep01　トウモロコシ根端における Ca^{2+} の移動に及ぼす重力と光の影響
°鈴木隆，佐藤宏昭，山田好広（山形大・教育）

13:15　2Ep02　遠心加速度場における車軸藻類節間細胞の原形質流動
°上坪英治，菊山宗弘[1]（一橋大・生物，[1]放送大・生物）

13:30　2Ep03　原形質流動の軌道保持のしくみ　1．原形質分離によるマイクロフィラメントの配列変化
°増田由美，高木慎吾，永井玲子（阪大・教養・生物）

13:45　2Ep04　緑藻チョウチンミドロに存在する 90-kDa MAP（微小管結合蛋白質）
前川誉実，荻原哲，室伏擴[1]，°永井玲子（阪大・教養・生物，[1]東大・理・生化）

14:00　2Ep05　ヒャクニチソウ葉肉細胞における細胞膜へのアクチン繊維の結合
°小林仁，福田裕穂[1]，柴岡弘郎（阪大・理・生物，[1]東北大・理・生物）

14:15　2Ep06　フラグモプラストにおける vesicle の輸送機構
°安原裕紀，園部誠司，柴岡弘郎（阪大・理・生物）

14:30　2Ep07　フラグモプラスト微小管構築の制御機構
°浅田哲弘，園部誠司，柴岡弘郎（阪大・理・生物）

14:45　2Ep08　プロトプラストゴースト微小管の細胞質因子による ATP 依存的消失
園部誠司（阪大・理・生物）

15:00　2Ep09　核表面にある微小管重合中心における特徴的な重合様式と必須因子
水野孝一（阪大・理・生物）

15:15　2Ep10　タマネギ子葉細胞における分裂準備期微小管帯 (Preprophase band of microtubule) と紡錘体との連結構造の発達とその役割
°峰雪芳宣[1,2]，B. A. Palevitz[2]（[1]広島大・理・植物，[2]ジョージア大・植物）

15:30　2Ep11　タバコ同調培養細胞における β-チューブリン遺伝子の発現
°西村誠，岡村昭治，西荒介（富山医薬大・薬）

15:45　2Ep12　粘菌 (*Polysphondylium pallidum*) の接着タンパク質 gp 64の接着部位における局在
°落合廣，伊東一彦，朝見恭裕，綱島康亘，福沢雅志（北大・理・植物）

F会場　光化学系 I

13:00　2Fp01　好熱性ラン藻 (*Synechococcus elongatus*) における P700の耐熱性：クロロフィルの抽出，再添加の影響
°池上勇，加藤栄[1]（帝京大・薬，[1]東大・理）

第2日　3月29日（木）　〈午後の部〉　第3日　3月30日（金）　〈午前の部〉

13:15　2Fp02　ホウレンソウ系I標品のP-700差分子吸光係数に対するTriton X-100の影響
°園池公毅，加藤栄[1]（理研・太陽光科学，[1]東大・理・植物）

13:30　2Fp03　嫌気条件下での循環的電子伝達とその機構
°遠藤剛，浅田浩二（京大・食研）

13:45　2Fp04　ホウレンソウ葉緑体の嫌気条件下でのメチルバイオロゲン依存の循環的電子伝達系
°浅田浩二，C. Neubauer[1]，U. Heber[1]，U. Schreiber[1]（京大・食研，[1]Univ. Würzburg）

14:00　2Fp05　光化学系I反応中心複合体とプラストシアニンの相互作用
安藤孝幸，岩崎行玄，原彰[1]，°高倍昭洋（名城大・理工・化学，[1]名城大・農・生化）

14:15　2Fp06　プレカーサープラストシアニンの大腸菌における発現とそのプロセッシング
°日比野隆，山本治世，村川冨彦，D. Boer[1]，P. Weisbeek[1]，高倍昭洋（名城大・理工・化学，[1]オランダ・ユトレヒト大学）

14:30　2Fp07　オオムギ葉緑体のNADP光還元活性と高分子型フェレドキシン-NADP還元酵素について
°大橋和子，先浜直子[1]，新勝光[1]，辻英夫（京大・理・植生研，[1]神大・理・生物）

14:45　2Fp08　葉緑体電子伝達反応に伴って生成するO_2^-のチラコイド膜中の定常濃度
°白石卓夫，高橋正昭[1]，浅田浩二（京大・食研，[1]甲南大・理）

15:00　2Fp09　らん色細菌 *Synechocystis* 6803と *Anacystis nidulans* におけるH_2O_2消去
°三宅親弘，浅田浩二（京大・食研）

15:15　2Fp10　Biophoton emission from isolated chloroplasts is related to superoxide production in the thylakoid.
°Hideg, É.[1]，稲場文男[1,2]（[1]新技術事業団，[2]東北大）

15:30　2Fp11　単離光リン酸化ATPaseのテントキシン感受性
°太田嘉則，久堀徹[1]，桜井英博（早大・教育・生物，[1]横浜市立大・文理・生物）

第3日　3月30日（金）　〈午前の部〉

A会場　細胞壁

9:00　3Aa01　タケノコ細胞壁中でのフェノール酸と糖の結合
°石井忠，広居忠量（農水省森林総研）

9:15　3Aa02　イネ培養細胞の単細胞化．II．細胞壁の分析
°加藤陽治，大住千栄子[1]，林隆久[1]，山ノ内宏昭[2]，日向康吉[2]（弘前大・教育，[1]味の素・中研，[2]東北大・農）

9:30　3Aa03　*Chlorella ellipsoidea* C-27のプロトプラスト調製
°城斗志夫，長由美，波多野昌二（九大・農・食化工）

9:45　3Aa04　矮性エンドウ根のジベレリン誘導成長と細胞壁
谷本英一（名古屋市大・教養）

10:00　3Aa05　細胞壁のin vivoとin vitroクリープ
°山本良一，桜井直樹[1]（帝塚山短大，[1]広島大・総合科学）

10:15　3Aa06　*Chlorella ellipsoidea* C-87における細胞壁溶解酵素の精製とその性質
°荒木直子，武田宏[1]（新潟大・理・生物，[1]新潟大・教養・生物）

10:30　3Aa07　クロレラにおける細胞壁溶解活性の種特異的変異II
°荒木直子，武田宏[1]（新潟大・理・生物，[1]新潟大・教養・生物）

10:45　3Aa08　アズキ細胞壁キシログルカンの構造変化を引き起こす酵素
°西谷和彦，冨永るみ，千田ゆかり（鹿児島大・教養）

11:00　3Aa09　カボチャ下胚軸切片のUDP-糖合成に対するABAの影響
°若林和幸，桜井直樹[1]，倉石晉[1]（香大・教育，[1]広大・総科）

11:15　3Aa10　単離フラグモプラストによる[^{3}H] UDP-glucoseのとり込み
柿本辰男，柴岡弘郎（阪大・理）

第3日　3月30日（金）　〈午前の部〉

B会場　（講演発表はありません）

C会場　分子生物学V

9:00　3Ca01　分裂酵母の性フェロモンによるシグナル伝達
°下田親，北村憲司[1]（大阪市大・理・生物，[1]大阪市大・医・第二生理）

9:15　3Ca02　酵母 (*S. cerevisiae*) の紫外線処理細胞における染色体 DNA の変動
°久冨泰資，依田彰，壺井基夫（福山大・工・生物工）

9:30　3Ca03　酵母 GAL4タンパク質 DNA 結合領域による植物内遺伝子発現の調節
°横井久美，町田千代子，町田泰則（名大・理・生物）

9:45　3Ca04　PCR 法を用いた *Heterosigma akashiwo* 細胞膜 ATPase cDNA のクローニング
°和田雅人，浦山修[1]，原諭吉[1]，佐藤忍，藤伊正（筑波大・生，[1]東医歯大）

10:00　3Ca05　*Synechocystis* PCC6803の無機炭酸輸送に必須な遺伝子
°小川晃男，小俣達男，J. G. K. Williams[1]（理研・太陽光科学，[1]DuPont）

10:15　3Ca06　ラン藻 *Synechocystis* PCC6803の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の構造
°和田元，村田紀夫（基生研）

10:30　3Ca07　遺伝子組換えによるラン藻 *Synechocystis* PCC6803の多価不飽和脂肪酸欠損株の作成
°坂本敏夫，和田元，Z. Gombos，村田紀夫（基生研）

10:45　3Ca08　ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942の亜硝酸還元酵素遺伝子のクローニング
°小俣達男，小川晃男（理研・太陽光科学）

11:00　3Ca09　ラン藻 *Anabaena variabilis* の低温誘導性遺伝子
佐藤直樹（東大・理・植物）

11:15　3Ca10　炭酸脱水酵素遺伝子の光による発現制御
°福澤秀哉，藤原祥子，Maribel L. Dionisio，宮地重遠（東大・応微研）

11:30　3Ca11　*Rhodobacter capsulatus* の2種のフェレドキシンのクローニングと遺伝子解析
°佐伯和彦，宮武美枝，Debra A. Young[1]，Barry L. Marrs[1]，松原央（阪大・理・生物，[1]DuPont 社・中央研）

11:45　3Ca12　藍色細菌 *Plectonema boryanum* における2つの Fe 蛋白質遺伝子 (*nifH, frxC*)
°藤田祐一，高橋康弘，松原央（大阪大・理・生物）

12:00　3Ca13　好冷菌 *Vibrio* ABE-1株のイソクエン酸脱水素酵素アイソザイムII遺伝子のクローニング（予報）
°石井睦，福永典之，佐々木昭治（北大・理・植）

D会場　光合成細菌

9:00　3Da01　脱窒光合成細菌における DMSO 呼吸末端還元酵素のペリプラズミック空間への局在化機構
°吉田嘉宏，高井許子[1]，嶋田敬三，佐藤敏生[1]，高見伸治[1]（都立大・理・生物，[1]広島大・理・植物）

9:15　3Da02　光合成細菌 *Rhodopseudomonas viridis* における反応中心チトクロムへの電子伝達
°松浦克美，甲斐章彦，畑中究，三木邦夫[1]（都立大・理・生物，[1]阪大・工・応用精密工）

9:30　3Da03　オーストラリア海域のバクテリオクロロフィルを含む好気性細菌の分布と性質I．東海岸および西海岸
芝恒男，塩井祐三[1]，°高宮建一郎[2]，C. R. Wilkinson[3]，D. Sutton[4]（東大・海洋研，[1]宮崎医大・生，[2]九大・理・生，[3]AIMS，[4]ジェームズクック大）

9:45　3Da04　*Rhodobacter sulfidophilus* から単離された色素蛋白質複合体の性質
°土井道生，塩井祐三，N. Gad'on[1]，G. Drews[1]（宮崎医大・生物，[1]Inst. Biol.，Albert-Ludwigs-Univ.）

第3日　3月30日（金）　〈午前の部〉

10:00　3Da05　*Rhodobacter sulfidophilus* の好気的色素生産と光合成活性
°塩井祐三，土井道生（宮崎医大・生物）

10:15　3Da06　光合成細菌 *Rhodopseudomonas palustris* の光捕集系——B800の複数の存在状態
°嶋田敬三，山崎巌[1]，玉井尚登[1]，三室守[2]（都立大・理・生物，[1]北大・工・合化，[2]基生研）

10:30　3Da07　緑色光合成細菌のクロロソームにおける色素間相互作用の可逆的破壊とエネルギー転移
°松浦克美・J. M. Olson[1]（都立大・理・生物，[1]Odense Univ.）

10:45　3Da08　*Protogonyaulax tamarensis* 色素蛋白に結合したペリジニンのラマン分光
°栗本宜孝，橋本秀樹，小山泰，山野由美子[1]，伊藤允好[1]，緒方武比古[2]，三室守[3]（関西学院大・理，[1]神戸女子薬大，[2]北里大・水産，[3]基生研）

11:00　3Da09　ピコ秒過渡ラマン分光法によるホウレン草クロロプラスト結合カロテノイドの$S_1(2^1Ag^-)$状態の研究
°橋本秀樹，小山泰（関学大・理）

11:15　3Da10　光合成バクテリア *Rhb. spheroides* 2.4.1クロマトフォアに結合したカロテノイドの2 $^1Ag^-$ 状態のラマン分光
°九鬼導隆，橋本秀樹，小山泰（関西学院大・理）

11:30　3Da11　*Rs. rubrum* クロマトフォアに結合した二種類のカロテノイドの T_1 状態のラマンスペクトル
°成瀬充，橋本秀樹，九鬼導隆，小山泰（関西学院大・理）

11:45　3Da12　クロロフィル a 及びバクテリオクロロフィル a 励起状態の共鳴ラマンスペクトル
°西澤栄一，橋本秀樹，小山泰（関西学院大・理）

12:00　3Da13　紅色光合成細菌 *Chromatium vinosum* に含まれるカロテノイドの励起一重項の共鳴ラマン散乱
°林秀則，野口巧，田隅三生，G. H. Atkinson[1]（東大・理・化学，[1]アリゾナ大）

E 会場　電気生理

9:00　3Ea01　植物プロトプラストへの DNA 電気導入過程の細胞電気回転法による解析
°角谷忠昭，柴谷滋郎，千田貢[1]（京大・農・細胞実験センター，[1]京大・農・農化）

9:15　3Ea02　植物プロトプラストの膜電位および電気融合に及ぼす Ca, La イオンおよびカルモジュリン阻害剤の効果
角谷忠昭，°村田芳行，野中龍一，千田貢[1]（京大・農・細胞実験センター，[1]京大・農・農化）

9:30　3Ea03　ホウレンソウ葉肉液胞に与える Mg^{2+} の影響
°吉野宏，太田英二，坂田亮（慶大・理工・計測）

9:45　3Ea04　車軸藻節間細胞内外の H^+ の空間的分布
緒方惟昭（産医大・医短・生化）

10:00　3Ea05　シャジクモ原形質膜におよぼす局所麻酔剤の影響
野坂修一，°大川和秋[1]，沖原清司[2]，吉川清（大阪成人病センター，[1]阪大・教養・生物，[2]阪大・基礎工・生物）

10:15　3Ea06　汽水産シャジクモ類シラタマモの膨圧調節に及ぼす DCCD の影響
°岡崎芳次，岩崎尚彦（大阪医大・教養・生物）

10:30　3Ea07　シャジクモ　H^+-pump に対する SH 試薬の効果
°筒井泉雄，大川和秋[1]（生理研・機能協関，[1]阪大・教養・生物）

F 会場　光化学系と色素系

9:00　3Fa01　ラン藻チラコイド系での電子伝達状態と光化学系Ⅰ／Ⅱ量比の調節
°村上明男，藤田善彦（基生研・細胞生物）

9:15　3Fa02　光化学系Ⅰ／Ⅱ量比の調節とチトクロム b_6-f の酸化還元状態との対応
°村上明男，藤田善彦（基生研・細胞生物）

9:30　3Fa03　光化学系Ⅰの形成調節とクロロフィル合成系の関連
°藤田善彦，村上明男（基生研・細胞生物）

第3日　3月30日（金）　〈午前の部〉

9:45　**3Fa04**　生育光条件を異にした *Synechocystis* PCC 6803のクロロフィル蛋白質
°相澤克則，藤田善彦（基生研・細胞生物）

10:00　**3Fa05**　*Rhodobacter sphaeroides* の色素タンパク複合体の合成におよぼす光およびカロチノイドの影響
°嶋田裕士，射場厚，青井文明，高宮建一郎（九大・理・生物）

10:15　**3Fa06**　*Euglena* のクロロフィルタンパクについて
°平松浩行，溝淵章央，鎌田堯，山本泰（岡山大・理・生物）

10:30　**3Fa07**　暗所生育トウヒにおける光に依存した LHC-II リン酸化活性の発現と性質
°與志平尚，奥達雄，小林善親（九大・農・農林生物物理）

10:45　**3Fa08**　種々の黄色植物の光捕捉色素蛋白の分子集合体
°加藤哲也，保田京子（京大・理・植）

11:00　**3Fa09**　褐藻 *Ectocarpus* のフコキサンチン・クロロフィル蛋白におけるエネルギー転移
加藤哲也，°三室守[1]，山崎巌[2]，山崎トモ子[2]，西村賢宣[2]，高市真一[3]（京大・理，[1]基生研，[2]北大・工，[3]日本医大）

11:15　**3Fa10**　ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC 7942の界面活性剤不溶性画分での zeaxanthin
正元和盛（熊本大・教育・生物）

11:30　**3Fa11**　クラミドモナス変異株におけるクロロフィル退色過程と活性酸素
°山崎秀雄，嶌紗穂美[1]，岡山繁樹[1]（九大・生物，[1]九大・教養）

11:45　**3Fa12**　イネの葉の老化に伴う光合成活性とタンパク質の変化
°岡田克彦，佐藤和彦，加藤栄（東大・理・植物）

12:00　**3Fa13**　イネ葉の老化過程における光環境と光合成能力の関係
°日出間純，牧野周，前忠彦，小島邦彦（東北大・農・農化）

座　長　表

日	時	講演番号	座長
3月28日(水)	午前	1Aa 01～04	南川　隆雄
		05～08	坂野　勝啓
		09～12	小柴　共一
		1Ba 01～04	上田　英二
		05～08	吉田　靜夫
		09～12	茅野　充男
		1Ca 01～04	加藤　明
		05～08	平井　篤志
		09～12	小保方潤一
		1Da 01～04	谷本　靜史
		05～08	竹葉　剛
		09～12	岡崎　光雄
		1Ea 01～04	神阪　盛一郎
		05～08	飯野　盛利
		09～12	上田　純一
		1Fa 01～04	和田　敬四郎
		05～08	高橋　正昭
		09～12	井上　弘
	午後	1Ap 01～04	中村　保典
		05～08	猪川　倫好
		09～12	桑原　朋彦
		13～16	伊賀上郁夫
		1Bp 01～05	松本　英明
		06～10	笠毛　邦弘
		11～14	三村　徹郎
		1Cp 01～05	新名　惇彦
		06～09	内宮　博文
		10～13	内藤　哲
		14～17	大橋　祐子
		1Dp 01～04	安田　武司
		05～08	今泉　和光
		09～12	江坂　宗春
		13～16	竹田　淳子
		1Ep 01～05	神谷　勇治
		06～10	桜井　直樹
		11～14	井上　康則
		1Fp 01～04	伊藤　繁
		05～08	池内　昌彦
		09～12	小池　裕幸
		13～16	佐藤　和彦
3月29日(木)	午前	2Aa 01～04	新　勝光
		05～08	佐藤　公行
		09～12	高浜　有明夫
		2Ba 01～04	西村　幹夫
		05～08	渡辺　昭

日	時	講演番号	座長
3月29日(木)	午前	09～12	田中　歩
		2Ca 01～04	町田　泰則
		05～08	米田　好文
		09～11	福沢　秀哉
		2Da 01～04	白岩　善博
		05～08	鮫島　宗明
		09～12	都築　幹夫
		2Ea 01～04	大森　正之
		05～08	近藤　矩朗
		09～11	川崎　信二
		2Fa 01～04	桜井　英博
		05～08	星名　哲
		09～12	榎並　勲
	午後	2Ap 01～04	佐藤　直樹
		05～08	西田　生郎
		09～11	榊　剛
		2Bp 01～04	落合　英夫
		05～08	諸橋　征雄
		09～12	神谷　明男
		2Cp 01～04	佐々木幸子
		05～08	松岡　信
		09～12	中村　研三
		2Dp 01～04	和田　正三
		05～08	手塚　修文
		09～12	門田　明雄
		2Ep 01～04	水野　孝一
		05～08	峰雪　芳宣
		09～12	福田　裕穂
		2Fp 01～04	檜山　哲夫
		05～08	池上　勇
		09～11	高倍　昭洋
3月30日(金)	午前	3Aa 01～04	武田　宏
		05～07	谷本　英一
		08～10	山本　良一
		3Ca 01～05	飯田　滋
		06～09	武田　穣
		10～13	小俣　達男
		3Da 01～05	小山　泰
		06～09	塩井　祐三
		10～13	松浦　克美
		3Ea 01～04	岩崎　尚彦
		05～07	千田　貢
		3Fa 01～04	三室　守
		05～09	高宮　健一郎
		10～13	山本　泰

日	時	講演番号	座　　長
3月29日(木)	午後	公開シンポジウム 1 2 3 4	 岩槻邦男 川口昭彦 浅田浩二 古谷雅樹
3月28日(水)	午後	シンポジウム 1Sp-1 1Sp-2 1Sp-3	 駒嶺穆 山本幸男 小川晃男
3月29日(木)	午前	シンポジウム 2Sa-1 2Sa-2 2Sa-3 2Sa-4	 勝見允行 増田芳雄 藤田善彦 村田紀夫

日本植物生理学会1990年度年会の開催にあたり，多くの研究所，企業等からご協賛，広告掲載，展示出展によりご協力を頂きました。ここにお名前を掲載させていただきます。

協　　賛

旭化成工業株式会社　生物科学研究所
アサヒビール株式会社　中央研究所
味の素株式会社　中央研究所
エーザイ株式会社
鐘紡株式会社　生化学研究所
株式会社　アドバンス（ODS 研究センター）
株式会社　オリンパス
株式会社　秀潤社
株式会社　資生堂研究所
株式会社　植物工学研究所
株式会社　東レリサーチセンター
株式会社　日立製作所基礎研究所
株式会社　ファインテック
株式会社　藤本理化
株式会社　森永生科学研究所
株式会社　ヤクルト本社　中央研究所
キッコーマン株式会社　研究本部
キリンビール株式会社　植物開発研究所
サッポロビール株式会社　研究開発本部
三共株式会社
財団法人　サントリー生物有機科学研究所
塩野義製薬株式会社　油日ラボラトリーズ
新日本製鐵株式会社　バイオ事業開発部
盛進製薬株式会社
大成建設株式会社　生物工学研究所
武田薬品工業株式会社　応用技術研究所
東洋醸造株式会社　医薬開発センター
徳丸理研
日清食品株式会社　中央研究所
日本化薬株式会社（農薬事業部技術部）
日本鉱業株式会社
日本曹達株式会社
日本たばこ産業株式会社　生命科学研究所
日本特殊農薬製造株式会社　有機中央研究所
日本ロシュ研究所　微生物・化学部
ハウス食品工業株式会社　研究所
ぺんてる株式会社　中央研究所
三井東圧化学株式会社
三菱化成工業株式会社
三菱化成工業株式会社　総合研究所
三菱化成工業株式会社　応用生物研究所
三菱瓦斯化学株式会社　新潟研究所
ヤクルト薬品工業株式会社
山本海苔研究所
有限会社　村田理化学製作所

広告掲載

アプライド バイオシステムズ ジャパン株式会社
栄研化学株式会社
NHK エンタープライズ
オリンパス光学工業株式会社
カゴメ株式会社
学会出版センター
株式会社　インターメディカル
株式会社　オリンパス
株式会社　佐久間製作所
株式会社　三光オリンパス
株式会社　島津製作所
株式会社　裳華房
株式会社　秀潤社
株式会社　東西ブックセンター
株式会社　ニコン
株式会社　日京製作所
株式会社　日本医化器械製作所
株式会社　平山製作所
株式会社　フィジオテック
株式会社　藤本理化
株式会社　ヤクルト本社
協和発酵工業株式会社
旭光通商株式会社
小糸工業株式会社
住友化学工業株式会社
盛進製薬株式会社
宝酒造株式会社
田辺製薬株式会社
東海漬物製造株式会社
東京大学出版会
東ソー株式会社　科学計測事業部
中西印刷株式会社
日新 EM 株式会社
日製産業株式会社
日本エイドー株式会社
日本たばこ産業株式会社　生命科学研究所
日本電子株式会社
日本バイオ・ラッド　ラボラトリーズ株式会社
パーガモン プレス 東京事務所
浜松ホトニクス株式会社
日立工機株式会社
フナコシ薬品株式会社
名糖産業株式会社　化成品営業部
盟和商事株式会社
ヤクルト薬品工業株式会社
有限会社　共進理工
有限会社　村田理化学製作所
レノバサイエンス株式会社
和光純薬工業株式会社

展示出展

エルセビア日本支社
株式会社　佐久間製作所
株式会社　ニュートリノ
カールツァイス株式会社
旭光通商株式会社
日本バイオ・ラッド　ラボラトリーズ株式会社
ビューロー　ホソヤ

公開シンポジウム

我が国におけるプラントサイエンスの展望

主催　日本学術会議植物科学研究連絡委員会
共催　日本植物生理学会
　　日本植物学会

日時　3月29日（木）午後1：00–4：00
場所　東京大学教養学部　13号館S会場

開会の辞
竹内　郁夫（基生研）

1．生物学における機能的見方と進化的見方
広瀬　忠樹（東北大・理）
座長　岩槻　邦男（東大・理）

2．植物分子生物学の明日に若者たちは何を見ているか
南川　隆雄（東京都立大・理）
座長　川口　昭彦（東大・教養）

3．植物科学と科学技術の連続性を求めて
今関　英雅（名大・農）
座長　浅田　浩二（京大・食研）

4．パネルディスカッション
司会　古谷　雅樹（理研）

S-1 生物学における機能的見方と進化的見方

広　瀬　忠　樹　（東北大・理・生物）

進化生物学者の Ernst Mayr (1961; Science 134:1501-6) は生物学における causality について議論し、現代の生物学に２つの潮流があると述べている。ひとつは機能的 (functional) 生物学で、他は進化的 (evolutionary) 生物学である。地球上の生物はすべて進化の産物なので、生物の特性を機能的に理解することもできるし、適応進化の結果として理解することもできる。機能的生物学者は、究極的にはＤＮＡに含まれる遺伝情報の発現 (proximate cause) の結果として生物のもつ多様な特性を理解しようとする。進化生物学者は生物の歴史、その変化の原因 (ultimate cause) に興味をもつ。このように、両者は同じ事象にたいして、互いに異なったアプローチをとる。ところで、最近の分子生物学の発展によって、生物の進化をＤＮＡレベルで議論できるようになり、塩基配列から系統進化がたどれるようになってきている。この意味では、３０年近く前に議論された二分法は過去のものになったかに見える。しかし、形質の変化を引き起こすＤＮＡの塩基配列の変化がなぜ進化のある時点でおこったのかは明らかにできない。

生態学は生物と環境の相互作用を研究する。さらに踏み込んで言えば、多様な生物的自然を環境の多様性を介した自然選択の結果として理解しようとする。いま、ある生物がある環境においてある反応を示すとする。このとき、その生理的機構を明らかにしようとする機能的アプローチと、その環境下でなぜそのような反応を進化させたのかを問うアプローチが可能である。前者は生物を制御環境下におき、実験的にその反応がどのようなメカニズムをとおして発現したのかを明らかにしようとする。後者は、比較あるいはモデリングによってそのような反応がその生物の適応価(fitness) を高めることを証明しようとするであろう。私は、機能的アプローチと進化的アプローチをいったん区別した上で、その方法論の相互浸透をはかることが、これからの生態学の発展にとって重要であると考えている。これをいくつかの例をあげることで示したい。

S-2 植物分子生物学の明日に若者たちは何を見ているか

南川隆雄（都立大・理・生物）

昨日から今日を見るのではなく、明日の眼で今日を捉えよ、という言葉がある。この十年来、加速的な進展をとげた植物分子生物学、そしてその手法を導入して変容しつつある我が国の植物科学の未来に思いを馳せるとき、私自身は分子生物学者ではないが、できれば長生きして、その行く方を確かめてみたいという思いに駆られる。現状改革には無力であるにしても、次世代の植物科学者のために道ならしをすることはできるだろう。そのような気持で、折にふれて私はまわりのごく若い研究者やその卵たちと、植物分子生物学とその成果を取り込んできた植物科学の他領域の現在と明日について話し合ってみた。それをまとめながら私見を述べてみたい。

1）植物分子生物学の行方：タンパク質→ cDNA → 遺伝子→ 制御タンパク質→ cDNA という見かけ上の繰り返しに倦んだかのように、分子生物学はすでに峠を越えた、という声を聞くことがある。これは研究の対象と手段を混同した見方ではないだろうか。植物分子生物学を待ち受ける植物科学の未開拓地は日々広がりつつある。すでに相当の力を蓄えた植物分子生物学はその時々の活性化を繰り返し、新局面を開いていくであろうと思う。私たち隣接領域の研究者はその成果を有効に活用しながら、植物分子生物学を盛り立てて行きたいものである。他方では、現在の植物分子生物学の有力な方法がかつてはむしろ地味な領域での研究成果をもとに開発された事実を思い起こし、一見脚光を浴びることの少ない分野の研究にも常に期待の目を向けて行きたい。

2）植物科学における分子生物学的手法：植物科学の中でも生理学、とくに代謝生理学のような、従来からタンパク質（酵素）をよりどころにしてきた領域では、組換え DNA 実験法をはじめとする分子生物的手法の導入は比較的容易であった。それによって従来法では困難であった新知見が得られ、局面が打開され視野が広がった。そして夢中で数年を過ごした今、恩恵に浴しつつも産みの苦しみを忘れかけている自分に気づき始めている。自分の本当に興味を持った生理現象は何であったか、そしてそれを明らかにするには組換え DNA 技術に加えてどのような手段が可能か、を省みる時期に差しかかっている。 他方、植物生理学を除く領域では、分子生物学の手法の導入は容易ではなかった。しかし、これらの領域にも分子生物学の成果を直接に、あるいは植物生理学を介して間接に、活用しない手はない。もし、それを阻んでいるものがあるとすれば、その原因はなんだろう。

3）人材の確保と育成：上述のように、あれもこれもと多くを望むならば、すぐれた人材を確保し育成する長期的な見通しが不可避である。関連の研究機関を創増設して職場を拡大する努力が必要なことはもちろんであるが、同時に、基礎と応用を区分したがる我が国の体質を改め、研究室と圃場・工場・日常生活を一連のものとする研究環境が、これからの若者を植物科学に引きつける要件になりそうである。

S-3 植物科学と科学技術の連続性を求めて

今関英雅、 名大・農

日本における自然科学の流れの中に、基礎科学と応用科学とを対比する感覚、習慣があることは否めない。植物科学の領域においても同じである。このような対比感覚が生じた背景には日本の高等教育、研究を支える大学の制度があり、しかも全く同じ制度が１００年もの長い間頑固に守られていることもある。しかし、日本の植物科学の発展にとって、この対比させる感覚、習慣はもはや決してプラスにはならないものであろう。一方では、制度上の問題を改変する努力をすることが大切だが、その前に植物科学者自身の中にある、長い間の制度から生まれ、育ってしまった対比感覚（自己領域の確保意識、同窓意識などを含めた）から抜け出すことが必要であろう。

基礎科学としての植物科学と技術開発を指向する応用科学としての植物科学は、人が植物の示すさまざまなプロセスを植物の立場にたって見るか、人間生活の立場にたって見るかの違いであって、見つめる対象は同じであり、そこから得られる知的産物の価値に違いはないはずである。基礎科学は自然現象の中にある共通法則を見いだして学理体系を確立することであると言う。私もこれに異存は全く無い。応用植物科学は植物の力を人が利用することを前提としているので、利用目的の違いにより対象とする植物種が違い「自然現象の中の共通法則を見いだす」方向性をもたない。いわば、基礎植物科学は総論であり、応用植物科学は各論であると見ることが出来よう。

応用科学は科学技術の開発を指向すると述べたが、技術の開発研究とは異質のもので、科学技術の素材を提供することを意識した科学である。その中には、基礎科学の成果を技術開発へと導くための研究もあるし、経験から確立されている技術の学理の研究もある。しかし近年の生物科学の進歩は、基礎植物科学の成果が場合によっては応用植物科学の洗礼を受けずに、かなり直接的に技術開発へとつながることを可能にしつつある。題材の捉え方とその処理の仕方に自由な発想を前提とするならば基礎科学と応用科学の研究が対比されるものでなくなり、科学技術の開発とも連続的なものである時代に我々はいるのではなかろうか。

シンポジウム　第1日　3月28日（水）S会場

「植物生理学と分子生物学の接点をめぐって」

13：00　**1Sp-1**　分化と脱分化における分子生物学的アプローチ

「分化」　小関　良宏（東大・教養）

「脱分化」　高橋　陽介（名大・理）長田　敏行（基生研）

14：10　**1Sp-2**　種子代謝における分子機構解明の試み

「登熟種子」　田中　国介，光川　典宏（京都府大・農）

「発芽種子」　山内　大輔，南川　隆雄（都立大・理）

15：20　**1Sp-3**　植物の CO_2 濃縮機構の分子生物学的展開

「微細藻類」　都築　幹夫，福沢　秀哉，宮地　重遠（東大・応微研）

「高等植物」　松岡　　信，鮫島　宗明（生物資源研）

1Sp-1　分化 ― ニンジン培養細胞における分化をモデル系として

小関良宏（東大・教養・生物）

植物細胞は分化全能性を有し、一個の植物細胞から元の植物体を再生できる。歴史的に見た場合、ニンジン培養細胞における不定胚形成の誘導と個体再生は、最初にこの分化全能性を示したものであり、以来四半世紀にわたりこれをモデル系として分化全能性の機構についての研究がなされてきた。これまでは主に生理学的、生化学的手法が用いられてきたが、近年、この機構の解明に分子生物学的手法が導入されるようになってきた。しかし、分子生物学的手法によるその機構の解明は未だに進んでいない。この大きな理由として、第一に不定胚形成という形態的分化の場合には、一個の細胞が分裂を開始した時に既に細胞の極性が生じてしまうこと、すなわち細胞が分化のための分裂を開始した段階においてヘテロな細胞集団となってしまい、これらヘテロな細胞集団をすべてまとめて処理する手法を用いている限り、分化特異的変化を見出すことが困難になることがあげられる。これを解決する方法の一例として、in situ hybridization による分化特異的遺伝子発現の検出が考えられる。これは GUS 遺伝子をレポーターとして用いたキメラ遺伝子による手法よりも、生理学的に見て、より intact に近い情報を与えるものと考えられる。第二に植物細胞の分化は、植物生長調節物質条件を変化させて分化条件に移行してから分化に至るまで少なくとも数日の時間を要することがあげられる。演者が代謝的分化のモデル系として用いているアントシアニン合成系の誘導においても、オーキシンを含まない培地に移植してアントシアニン合成が誘導されるまでに約 5 日を要する。これに対し、誘導されたアントシアニン合成は、オーキシン添加により数時間以内にアントシアニン合成誘導の抑制が開始し、脱分化が開始する。特に分化が開始するまでに非常に長い時間を要するということは、細胞内においてその間に長い道のりの様々な事象が起こっていることが考えられる。これらを解明することが分化機構の解明に必須であると言えよう。この点から考えると、現在行われている遺伝子発現に係わる遺伝子領域の決定およびそれに対する発現調節因子の同定という手法を用いる場合、その分化発現までに係わる事象が多く、発現に至るまでの経過が長いために困難を伴うと思われる。これをいかに解決するかが今後の問題点であると考えられる。

1Sp-1　脱分化初期過程のオーキシンによる遺伝子発現制御

高橋陽介（名大理）、長田敏行（基生研）

典型的な分化細胞であるタバコ葉肉細胞プロトプラストは適当な培地にオーキシンとサイトカイニンを加えて培養するとほぼ同調的に DNA 合成を開始し、分裂し、分化形質を失ってコロニーを形成する。　この脱分化の過程において最も興味深いステップは Go から S 期への移行であり、この時期におけるオーキシンの効果を主に遺伝子発現の面から解析を行なった。

タバコ葉肉細胞プロトプラストの Go/S の転換期にオーキシンの存在下で発現する遺伝子の cDNA をディファレンシャルスクリーニングにより独立に 4 つクローン化した。解析の結果これらはすべて同一の配列を持つことが判明し、これを *par* 遺伝子（protoplast auxin regulated gene)と命名した。　ほぼ完全長の cDNA の全一次構造を決定して解析したところ *par* 遺伝子の産物は 220 個のアミノ酸からなる比較的親水性のタンパク質であることが解った。

par 遺伝子の発現は葉肉細胞がその分化形質を失っていく過程で、しかも DNA 合成が始まる前、すなわちオーキシンを加えてから 1 時間以内に始まり、プロトプラストが S 期を経て M 期に入ると *par* 遺伝子の mRNA は消失することが示された。　このことは *par* 遺伝子の産物が Go から S 期への移行に何らかの役割を果たしていることを示唆すると考えられる。　*par* 遺伝子の発現は 2,4-D 以外のオーキシン NAA, IAA でも誘導されることが解った。

オーキシンによる *par* 遺伝子の発現制御機構を解明するためタバコのゲノムライブラリーから *par* 遺伝子をクローン化し、プロモーター領域周辺の一次構造を決定した。*par* 遺伝子の プロモーター及びその 5' 上流領域とレポーター遺伝子 GUS との fusion gene を作製しこれを葉肉プロトプラストにエレクトロポレーションで導入してトランジェントアッセイを行なった。　その結果オーキシンによる *par* 遺伝子の発現誘導は大部分が転写レベルで制御さていること、またオーキシンによる遺伝子活性化を制御するいわゆる *cis* elementが *par* 遺伝子の転写開始部位より上流 -730b から -300b の間に存在することが明らかになった。

1Sp-2　登熟種子

田中國介、光川典宏（京都府大・農化）

登熟とは被子植物、特に作物の受精後種子形成時に進行する貯蔵物質の集積を伴う、いわゆる”みのり”を対象とした言葉である。しかし、この言葉の中には生物としての種子形成、即ち”分化”の大問題も包含しており、遺伝子の組織特異的、時期特異的発現の制御機構に関する問題も含んでいることは云うまでもない。

演者は、これまでに行ってきた登熟生理、特にイネ種子（＝コメ）について貯蔵物質の集積機構に関する研究を背景にした話題を提供したい。即ち、先ず、イネ種子登熟時の胚乳の組織化とそれに伴う貯蔵物質の集積の様子を組織化学的手法を用いて示し、その後最近集積し始めたイネ貯蔵タンパク質の生合成、輸送、集積に関する分子生物学的知見を紹介し討論の材料としたい。

1）胚乳の組織化と貯蔵物質集積：イネ種子は開花後、胚形成と共に急速に胚乳組織を発達させ、開花後５日目にほぼ組織的な完成をみる。その後、細胞内の各オルガネラが成長し、それに伴い貯蔵物質が集積し開花後２０日目に種実としてほぼ完成する。このプロセスについて主に電子顕微鏡を用いて紹介し、今後の分子生物学的研究の対象として重要と思われる事項を紹介する。

2）貯蔵タンパク質の遺伝子構造の解析：近年、イネ貯蔵タンパク質、特にグルテリンとプロラミンに関する知見が急速に集積した。ここでは、それらのcDNA構造、核遺伝子構造の特徴等を紹介し組織特異的、時期特異的発現の機構についても考察する。

3）貯蔵タンパク質の局在化の分子機構：イネ貯蔵タンパク質の集積機構の特徴の一つは、デンプン性内胚乳において、プロラミンとグルテリンが同一細胞中で同時期に生合成されるにも拘らず、両タンパク質は全く異なるプロテインボディタイプⅠとプロテインボディタイプⅡにそれぞれ別々に分配される。この両プロテインボディへの特異的分配には、恐らく、新生ポリペプチドがＮ末端に持つ、シグナル配列が重要な役割を果たすと考えられる。その実験的根拠と機構、さらに、その応用的展開についても考察したい。

1Sp-2　種子代謝における分子機構解明の試み　－発芽種子－

山内大輔、　南川隆雄　（都立大・理・生物）

種子発芽の過程はふつう３相に分けることができる。物理的吸水の過程（第Ｉ相）を経て種子が十分に吸水すると細胞の原形質の再活性化が始まり、ついで各種の加水分解酵素の活性が著しく上昇してくる（第Ⅱ相）。そして子葉などの貯蔵器官での物質分解と転流が盛んになり、生長部位でのタンパク質合成が活性化し、成長へと向かう（第Ⅲ相）。このような発芽の生化学的過程のうちタンパク質合成についていえば、第２相の初期には乾燥種子中に温存されていた mRNA （保存型 mRNA ）がタンパク質合成に関わるが、やがてその役割は新合成されたmRNA （新生 mRNA ）にとって変わって行くと考えられる。ここではマメ科種子発芽期のタンパク質合成について我々の研究室でおこなってきた、生理学的研究及びそれに続く最近の分子生物学的手段による研究を紹介する。

ササゲ種子の保存型 mRNA：種子吸水後きわめて短時間のうちに標識アミノ酸がタンパク質に取り込まれることや、α-アマニチンで転写を阻害してもタンパク質合成がおきることから、ササゲ種子中での保存型 mRNA の存在が予測された。そこで登熟期及び発芽期の種子からの mRNA の in vitro 翻訳産物を経時的に比較した結果をもとに、ディファレンシャル・ハイブリド法により、保存型 mRNA のものとみられる数種の cDNA クローンを単離した。そのうちの１つ、pSAS10-cDNA の塩基配列を決定したが、これはシグナルペプチドを含む約 10 KDa のタンパク質をコードしているとみられる。pSAS10-mRNA は登熟Ⅲ期（完熟の 4-5 日前)から急速に合成され、発芽期の吸水 24-48 時間目まで検出される。また、登熟前期（Ⅰ、Ⅱ期）の未成熟種子を強制発芽させた場合もその合成が誘導されることから、発芽に何らかの役割を果たしていると推定された。

ケツルアズキ種子の SH-エンドペプチダーゼ：この種子では吸水開始後 3-4 日目をピークにSH-エンドペプチダーゼ活性が上昇するが、この酵素は新生 mRNA により合成される典型的な発芽特異的タンパク質とみられる。この酵素は他に例をみない翻訳後の多段階プロセッシングを経て成熟型となる。単離した cDNA クローン λEP36 のインサート部は約 1.3 Kb で、約40 KDa のポリペプチドをコードしていた。ウエスタンブロット法、RNA ブロット法により測定した発芽過程での酵素タンパク質量とその mRNA 量は酵素活性の消長によく一致していた。同酵素の遺伝子についても、5'上流域を含む領域の構造解析を行った。

1Sp-3

植物のCO_2濃縮機構の分子生物学的展開

「微細藻類」

°都筑幹夫・福澤秀哉・宮地重遠（東大応微研）

微細藻類は、大気条件で生育すると、その光合成特性は、C_3型を示すにもかかわらず、まるでC_4植物のように、CO_2に対し高い親和性を示す。この特性は、２-５％の高CO_2濃度条件で生育した細胞には見られないため、低CO_2濃度に対する適応と考えられている。この光合成特性の原因として、１．無機炭素(Ci;CO_2+HCO_3^-+CO_3^{2-}の総称）を細胞内に濃縮蓄積すること、２．カーボニック・アンヒドラーゼ(CA)が、CO_2とHCO_3^-間の反応を触媒し、リブロース1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ(RuBPCase）によるCO_2固定の効率を高めることが明かとなっている。しかし、そのメカニズムは、種による差異もあり、まだ不明な点が多い。藍藻では、HCO_3^-の能動輸送体とCAまたはその類似体との協同により、Ciが細胞内に濃縮され、その蓄積されたCiがRuBPCaseによって固定されるまでの間に、その固定を促進する因子が存在すると考えられている。しかし、これまで多くの研究者が試みたにもかかわらず、Ciの能動輸送体の実体はつかめていない。一方、緑藻では、藍藻に比べ、一般にCiの濃縮率は低く、CA活性は高い。しかし、種により、細胞内にのみ局在するものと細胞表層にも存在するものとがある。細胞外のCAが、HCO_3^-からCO_2への反応を触媒して、その細胞内への取り込みを促進する一方、細胞内のCAは、取り込まれたCO_2がRuBPCaseによって固定されるのを促進すると考えられている。こうしたCiの濃縮・輸送機構をより明確に分子レベルで明らかにして行くため、分子生物学的手法が取り入れられるようになってきた。

本シンポジウムでは、タンパク質としても解析が進んでいるクラミドモナス細胞表層CAと、タンパク質レベルではその実体すら分かっていない、藍藻におけるCiの濃縮・輸送因子についてその研究の動向を紹介する。現在までのところ、１．クラミドモナス細胞表層ＣＡは、大小２つのサブユニットが、各々２個ずつからなる。２.そのcDNAの解析から大小サブユニットはシグナルペプチドをもった１本の前駆体として合成される。３．cDNAに対応する遺伝子CAH1は、低CO_2条件でのみ発現し、CAH1の下流には構造のよく似た第２のCA遺伝子CAH2が存在していた。４.CAの発現には、低CO_2条件のほか、光合成及びそれとは別に青色光が関与していることが、明かとなってきた。また、５.シネココッカスの高CO_2濃度要求変異株を形質転換し、表現形を相補するゲノム領域を同定した。

1Sp-3

植物のCO_2濃縮機構の分子生物学的展開
高等植物－C_4光合成回路について

松岡信、鮫島宗明　（農水省・生物研）

C_4光合成回路は、植物が大気中の低CO_2高O_2条件に適応進化する過程で、カルビン回路（C_3回路）に付随的に加わったCO_2濃縮機能を司る回路である。このC_4光合成回路の特徴は、葉肉細胞（MS）と維管束鞘細胞（BSC）の２種類の細胞に又がっていることで、本回路を構成する酵素活性もこの２種類のいずれかに局在することが知られている。このような局在性はいくつかの酵素については転写レベルでの調節であることが知られており、高等植物の組織特異的な遺伝子発現を研究する上で格好の対象と考えられる。またC_4光合成回路を構成する酵素遺伝子のいくつかは、C_3植物にも類似な構造を持つ遺伝子が存在することが確認されているが、そのC_3植物内での発現は極めて微量であり組織特異性も見られないことから、遺伝子発現の進化の研究にも適していると考えられる。

我々はこの様な興味でC_4光合成回路の重要な酵素であるホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ（PEPC）とピルビン酸Piジキナーゼ（PPDK）について研究を行ってきた。これらの酵素はMCに特異的に存在しその発現は転写レベルで調節されている。これらの遺伝子をトウモロコシより単離しその構造解析を行った結果、PEPCは10個のエキソンから成る約７Kbの遺伝子であり、PPDK遺伝子は12Kbにまたがる19個のエキソンから構成されることが解った。両遺伝子の５′上流域にはTATAbox、GCbox等の転写因子以外に、それぞれの遺伝子に特徴的なダイレクトリピートが観察された。これらの配列の転写調節との関連を検討する目的で、トウモロコシ核タンパク質と５′上流域DNA断片との結合をゲルシフトアッセイで調べてみた。その結果、両遺伝子が発現している緑葉の核タンパク質では、この断片をシフトさせる活性が観察される一方、発現していない黄化葉や根の核タンパク質ではシフトは見られなかった。さらにこれらの断片のタンパク質結合サイトを同定した所、PEPC、PPDK遺伝子ともダイレクトリピート部分、もしくはそれに極めて近接した部分にタンパク質が結合することが判った。またこの両遺伝子及びBSCに特異的に発現するRuBisCO小サブユニット遺伝子の５′上流域とGUS遺伝子の融合遺伝子を作り、タバコに形質転換した結果、いずれの遺伝子もタバコ内で発現することが解った。タバコはC_3植物でありそれ自身のPEPCやPPDK遺伝子の発現は極くわずかなことを考えるとこの事実は興味深い。

今後、Ｃ３植物からＣ４植物が進化した際に遺伝子レベルでどの様な変化が起こったのかを分子レベルで検討したいと考えている。

シンポジウム　第2日　3月29日（木）S会場

「植物生理学の古い問題の新しい展開」

「成長調節物質」

9：00　**2Sa-1**　花芽誘導物質の探索

平井　伸博（京大・農）

9：45　**2Sa-2**　光屈性における Cholodny-Went 説の是非

長谷川宏司，J. Bruinsma（鹿児島大・教養，Agricultural Univ. The Netherlands）

「オルガネラの機能」

10：30　**2Sa-3**　Hill 反応

加藤　　栄（東大・理）

11：15　**2Sa-4**　脂質代謝とオルガネラ

山田　晃弘（東大・教養）

2Sa-1　花成誘導物質の探索

○平井伸博、小清水弘一、篠崎眞輝[1]、貝原純子[1]、瀧本　敦[1]
（京大・農・食工、[1]応植）

Chailakhyanがフロリゲンの概念を提唱してから半世紀が過ぎた。しかし、その活性が双子葉植物の生物検定系で確認できないため、現象は明快であるにもかかわらず、フロリゲンの単離は成功していない。我々はその解明に一歩でも近づくためにアサガオとアオウキクサを用いて2通りのアプローチを試みている。何れも間接的な方法であり直接フロリゲンに迫るものではないが、何らかの示唆を与えてくれるものと期待している。

生物検定法によらない花成誘導物質の探索法として、誘導期に葉で出現あるいは増加する物質を比較分析によって検出する方法がある。篠崎らはこの方法をアサガオに適用している。アサガオ（ムラサキ品種）の芽生えの花成は短日処理だけでなく、連続光下で貧栄養や強光、低温あるいは後2者の連続処理によっても誘導できる。短日処理と同様これらの条件下でも花成誘導物質が子葉でつくられることが示唆されている。各条件下で増加する成分をHPLCで調べた結果、短日処理では何の変化も認められなかったのに対し、貧栄養および強光条件ではクロロゲン酸とピノレジノールグルコシド、p-クマロイルキナ酸が、低温条件ではフェルロイルキナ酸が、強光/低温条件ではデヒドロジコニフェリルアルコールグルコシドなどが増加することが判明した。これらのフェニルプロパノイドは一種のストレス物質と考えられる。しかし、それらの内生レベルの増加が花成誘導過程と高い相関を示すので誘導過程に何らかの役割を担っている可能性もある。短日処理では何れのフェニルプロパノイドも増加しないので、これらはフロリゲンとは無関係であろう。

花成誘導活性を検出できる検定植物としてアオウキクサが広く使用されている。この検定系は双子葉植物の花成誘導過程を忠実に反映しているとはいえないが、この系で活性を示す物質の中にフロリゲンへの手がかりを与えるものがあるかもしれない。最近、瀧本らは各種植物の水抽出液が活性を示すことを発見した。この活性成分は分子量が一定せず、プロナーゼやペクチナーゼ処理でも失活しない。加熱しても活性は失われず、低分子の挙動を示すようになる。この低分子様活性成分のクロマト上の挙動を調べたところ安息香酸などの既知活性物質とは異なっていた。現在アオウキクサ抽出液よりその単離を進めている。ただし活性でみる限り、本成分が光周誘導と相関するという証拠は得られていない。

2Sa-2 光屈性におけるCholodny-Went説の是非

°長谷川宏司 ・ J.Bruinsma[1] (鹿児島大・教養・生物, [1]Agricultural Univ., The Netherlands)

今日でも殆どの専門書・教科書で、光屈性は影側におけるオ-キシンの蓄積によって引き起こされると記載されている。このオ-キシンの偏差分布によって光屈性が起こるというCholodny-Went説の基盤になっているWentの実験(1928年)では、光屈性刺激を与えたアベナ幼葉鞘の先端から寒天に拡散してきたものを精製せずに直接、アベナ屈曲テストに供し、引き起こされた屈曲角からオ-キシン量を算出し影側に多量のオ-キシンを検出したことから、光刺激によってオ-キシンが影側に蓄積し、その結果、影側の生長が促進され屈曲すると考えた。しかし、もし拡散物の中にオ-キシン活性を抑える物質が混在し、光・影側に不均等に含まれていたとしたら、解釈は異なり、機器分析によるオ-キシンの定量が待たれるところであった。

筆者らはヒマワリ、ダイコン下胚軸(1)及びアベナ幼葉鞘の光屈性における抽出性あるいは拡散性オ-キシン(IAA)の分布を機器分析で測定し、IAAが光側と影側で均等に分布していることを明らかにしてきた。特に Wentの古典的な実験の追試(2)では、拡散物をWentと同様に直接、アベナ屈曲テストにかけた場合、確かに彼の結果と一致したが、この拡散物を精製してIAAだけを取り出し、機器分析で測定したところ、IAAは光側と影側で均等に分布していることが明らかとなった。更に同じ拡散物をクロマトで分離し、アベナ屈曲テストにかけたところ、生長抑制物質が検出され、この量が光側で多いことも分かった。つまり、Wentは生長抑制物質の混在を見落としていたことになり、オ-キシンの影側における蓄積で屈曲が起こるという解釈は間違っていたと言えよう。ヒマワリ下胚軸においてもその光屈性が生長抑制物質(主な因子は未同定)の光側での増量によって引き起こされることが報告されているが、光屈性と生長抑制物質の関係が詳細に研究されてきたのはダイコン下胚軸である。この光屈性は光側の生長抑制によって引き起こされるが、その生長抑制に関与する物質としてラファヌサニンとラファヌソ-ルがあげられる(3,4)。これらの物質は光屈性刺激によって短時間に光側で生成されるが、光側における含量と、一次及び二次屈曲における光側の生長抑制との間に密接な平行性があった。また、内生レベルでこれらを下胚軸の片側に投与すると投与側に屈曲することも分かった。

以上のことから、Cholodny-Went説は少なくとも光屈性には適用されず、光屈性はオ-キシンではなくラファヌサニンなどの生長抑制物質の偏差分布によって引き起こされると考えられる。

(1) M.Sakoda and K.Hasegawa: Physiol. Plant. 76, 240 (1989)
(2) K.Hasegawa, M.Sakoda and J.Bruinsma: Planta 178, 540 (1989)
(3) K.Hasegawa, H.Noguchi, T.Iwagawa and T.Hase: Plant Physiol. 81, 976 (1986)
(4) K.Hasegawa and S.Togo: J. Plant Physiol. 135, 110 (1989)

2Sa-3 Hill反応

加藤　栄（東大、理、植物）

ケンブリッジ大学のRobert Hillが、ハコベとオドリコソウの葉から葉緑体を抽出し、シュウ酸第二鉄を加えて光を照射すると酸素が発生することを報告したのは1939年のことである。CO_2を加えても酸素発生は見られなかったので、Hillはこの反応の仕組みについて、葉緑体に結合している物質Aが水分子から水素を奪い、ついでそれを外から加えた酸化剤B（シュウ酸第二鉄など）に与えると考えた。

$$2A + 2H_2O \rightarrow 2AH_2 + O_2$$

$$AH_2 + B \rightarrow BH_2 + A$$

以来半世紀の間に、このHill反応と呼ばれる反応の仕組みは詳しく研究され、Hillが当初考えたよりもはるかに複雑で精妙なものであることが分かってきた。まず鉄塩の代わりにNADP$^+$が酸素発生に伴って還元されること、さらにこの反応に共役してATPが合成されることが見出され、この反応がCO_2還元に必要なNADPHとATPを供給する反応系であることが示された。反応の仕組みについては、エマーソン効果の発見から、系Iと系IIの2つの光化学系が関与していることが確かめられた。これとHill自身の、葉緑体にチトクロームが存在しているとの発見が結びついて、いわゆるZ図式の骨組みが提唱された。そしてこの反応系に関与している電子伝達成分が次々に見つかり、その挙動の分光学的測定、EPR測定などによる詳細な解析が行なわれ、Hill反応系の全容が次第に明らかとなってきた。

戦後まで残されてきた酸素発生系の機構についても最近の10年間で急速な生化学的、生物物理学的、さらには分子生物学的な研究の進展がみられた。反応が行なわれる場はおそらく生物界で最も複雑な組成を持つ巨大な蛋白質複合体であるが、その中に含まれる反応成分や蛋白質についての情報も蓄積し、水分子を分解する反応機構も解明が進んできている。最後にこの酸素発生複合体（H_2O：プラストキノン酸化還元酵素）の組成や構造、さらに反応のCofactorの1つであるCaの役割について述べる。

2Sa–4　植物の脂質代謝とオルガネラ

東大・教養・生物　山田晃弘

一昔前の生化学の教科書をみると、脂質代謝の細胞内局在に関して、脂肪酸合成はサイトゾルで、脂質合成は小胞体で、脂肪酸分解はミトコンドリアで行われるとある。　本講演では、このような認識がどれだけ古くなったか、特に、植物の脂質代謝は動物、細菌のそれとは違った特有な面があり、現在、どのようなところまでわかってきたかについてお話し、その間に、この分野に貢献したわれわれの成果も挿入したい。

現在わかっている植物における脂質代謝とその局在オルガネラは次の通りであるが、本講演では植物における経路とオルガネラの特徴を強調しつつ、その問題点にも触れたい。

代　謝　系	局　在　オ　ル　ガ　ネ　ラ
アセチルＣｏＡ供給経路	プラスチド（葉緑体、白色体、雑色体）礎質 （サイトゾル、ミトコンドリア礎質）
マロニルＣｏＡ合成	プラスチド礎質、細胞質（ラン色細菌）
脂肪酸合成系	プラスチド礎質、（ミトコンドリア礎質） 細胞質（ラン色細菌）
糖グリセロ脂質合成系	葉緑体包膜、細胞膜とチラコイド膜（ラン色細菌）
リン・グリセロ脂質合成系	小胞体膜、ミトコンドリア膜、葉緑体膜、 細胞膜（ラン色細菌）
トリグリセリド合成系	小胞体膜、葉緑体膜
脂肪酸モノ不飽和化系	葉緑体礎質、細胞膜とチラコイド膜（ラン色細菌）
脂肪酸多不飽和化系	小胞体膜、葉緑体包膜、 細胞膜とチラコイド膜（ラン色細菌）
脂肪酸分解系	グリオキシソーム礎質、ペルオキシソーム礎質 （ミトコンドリア礎質）、細胞質（ラン色細菌）

一　般　講　演

第１日　３月28日（水）

一 般 講 演

第１日　３月28日(水)　午前の部

A会場　タンパク質・酵素
B会場　栄養・水分
C会場　分子生物学Ⅰ
D会場　形態形成
E会場　成長制御
F会場　光化学系Ⅱ

1Aa01 水稲葉の老化に伴う窒素の転流とグルタミン合成酵素

蒲地一成、山谷知行、前忠彦、小島邦彦（東北大・農・農化）

イネは生長するに従い、順次下位葉から枯れ、老化葉の窒素を生長中の葉や穂に転流する。　特に葉中に最も多量に存在する Rubiscoは、重要な転流窒素源となっている。イネの場合、葉における主要な遊離アミノ酸は全アミノ酸の約３０％を占めるグルタミン酸(Glu) である。また茎においては、グルタミン(Gln) とアスパラギンが約４０％を占める主要なアミノ酸であり、Glu はごくわずかしか検出できない。従って、これらRubisco をはじめとするタンパク質が生長している組織へ転流されるためには、アミノ酸へ分解された後、主な転流形態であるGln やアスパラギンといったアミドに変形されることが必要となる。そこで我々は、イネ葉の老化過程においてGln 合成に関与する２種のグルタミン合成酵素アイソザイム（ＧＳ１と２）に着目し、葉の一生における各々のＧＳアイソザイムの役割について明らかにすることを目的とした。

イネをガラス室内で水耕栽培し、止葉第13葉が完全展開した時を基準に、第12葉を経時的に枯死するまでサンプリングした。可溶性タンパク質・ Rubiscoタンパク質・全ｸﾛﾛﾌｨﾙ・ＧＳ活性を測定した結果、いずれも第12葉が老化するに従いその量・活性は減少した。しかし、抗イネＧＳ２抗体を用いてイムノブロッテイングを行ったところ、新鮮重当たりで比較すると、老化につれて葉緑体に局在するＧＳ２は Rubiscoと同様に徐々に減少していた。一方、細胞質に局在するＧＳ１タンパク質は、可溶性タンパク質含量や Rubisco含量の低下が認められる時期に増加することが示された。また、コムギやLoliumの切離葉で、老化過程に活性が増加すると報告されている NADH-グルタミン酸脱水素酵素（GDH） タンパク質の増減を抗トウモロコシGDH 抗体を用いて調べたところ、イネ葉では GDHタンパク質は報告とは異なり減少していることが判明した。HPLC法（PTC-アミノ酸誘導体）により、ＧＳの基質である Gluと生成物である Glnの測定を行った結果、老化に従い Gluは徐々に減少し、逆に Glnは増加していた。ＧＳ２や Rubisco、NADH-GDHの挙動とは異なり、ＧＳ１が老化過程において新鮮重当たりで増加した結果から、ＧＳ１が葉タンパク質由来の窒素の転流に深く関わっていることを示唆しており、現在ＧＳmRNAの解析を進めている。以上の結果をふまえ、イネ葉の老化に伴う窒素の転流とＧＳの関係について論議する。

1Aa02

イネ培養細胞における窒素同化系酵素の窒素給源に対する応答 -ｸﾞﾙﾀﾐﾝ合成酵素ｱｲｿｻﾞｲﾑとNADH-及びFd-ｸﾞﾙﾀﾐﾝ酸合成酵素活性

早川俊彦、山谷知行、蒲地一成、前忠彦、小島邦彦　（東北大・農・農化）

光呼吸によるNH_4^+の生成系と、他の器官への転流を無視できるイネ培養細胞（ササニシキ種子胚由来）を用いて、窒素給源に対するグルタミン合成酵素（GS）とグルタミン酸合成酵素（GOGAT）のアイソザイムの応答を、活性とイミュノブロット法で調べた。

1)イネ培養細胞の生育過程におけるＧＳ・ＧＯＧＡＴ

40mMのNO_3^-と5 mMのNH_4^+を含むR2基本培地で生育するイネ細胞のGSアイソザイム型を調べるため、葉緑体に局在する水稲葉GS2 抗血清を用いて、SDS-PAGE後イミュノブロッティングを行った。対照の水稲葉では44kDのGS2 とサイトゾルに局在する41kDのGS1 、水稲根では41kDのGSr それぞれのサブユニットが検出された。イネ細胞では、生育時期によって存在比は異なるが全ての時期において、41kDの濃いバンドと44kDの薄いバンド二本が認められた。デンシトメーターによるバンドの相対変化を測定した所、可溶性タンパク質当りでみるとNH_4^+が吸収されつくす移植後２日目と、庶糖が培地から消失する対数増殖後期（移植後８日目頃）に、41kD並びに44kDサブユニットいずれもピークを示した。トランスフェラーゼで測定したGS活性の挙動も、サブユニットの相対変化パターンとほぼ一致していた。一方、GOGAT は、この培養系ではNADH-GOGAT活性の方がFd-GOGAT活性よりも高いことが明かとなった。両GOGAT 活性は、培養初期においてGSピークにやや遅れて鋭い活性のピークを示し、その後徐々に低下したが、NADH-GOGAT活性は生育の末期に再び増加した。

2)異なる窒素源に対する移植後７２時間におけるＧＳ・ＧＯＧＡＴの応答

GS41kDサブユニットは、－N・10mM NO_3^-・10mM NH_4^+ すべての処理区で検出できたが、バンドの強度は経時的に薄くなるのが認められ、GS活性も同様に減少した。GS44kDサブユニットは、移植後48時間目からNO_3^-区で顕著に発現してくることがわかった。他の区での44kDサブユニットの発現量は、きわめて少なかった。一方、NH_4^+区ではNADH-GOGAT活性がFd-GOGAT活性より高く、72時間目まで推移した。逆にNO_3^-区では、Fd-GOGAT活性の方がNADH-GOGAT活性に比較して高かった。以上のように、NH_4^+に対して41kDのGSとNADH-GOGATが、またNO_3^-には44kdのGSとFd-GOGATが応答している結果が得れた。これらのアイソザイムの役割を、細胞内での局在性から論議する。

1Aa03 ヤエナリ芽生えの生長における Sink 酵素の誘導について

°新井雅雄[1,2]，森　仁志[2]，今関英雅[1,2]（[1]名大・農・生化学制御、[2]基生研・情報制御）

ヤエナリ（Vigna radiata）の種子が発芽を開始すると、Source 器官である子葉は、生長に必要な物質を各 Sink 器官に供給する。ショ糖は、子葉が Sink 器官に供給する主要な炭素源であり、単糖に分解されて解糖系や細胞壁合成の基質となる。したがって、ショ糖を分解する酵素は、Sink 器官の生長を支える重要な酵素で、その発芽後の誘導形成の制御機構は Sink 器官の生長開始と密接な関係があると考えられる。本研究では、Sink 器官の生長におけるショ糖の分解酵素の誘導について解析した。

ショ糖分解に関与すると考えられる Sucrose Synthase(SS), Acid Invertase(AI), Neutral Invertase(NI) について、黄化ヤエナリ芽生え各 Sink 器官での活性変化と器官の生長量とを比較した。暗所では、SS と AI の活性は各器官の生長と正の相関関係があった。しかし、光照射によって、各 Sink 器官の生長を変化させた場合、AI 活性はその変化に対応したが、SS 活性は低下した。

次に、この二つの Sink 酵素の誘導機構を解析するため両酵素の精製を行なった。SS は、発芽四日目の黄化芽生え下胚軸の粗抽出液から Q-Sepharose, Sephacryl S-300, Hydroxyapatite カラムクロマトグラフィーにより、電気泳動的に単一な精製標品を得た。その相対質量は、ゲルろ過法で約 340kDa、SDS-PAGE で 85kDa であった。よって、本酵素は四量体であると思われる。この精製標品を用いて、本酵素の酵素学的な性質を決定した。さらに特異抗体を調製して、抗体染色により、発芽生長に伴なって SS タンパク質が蓄積することを確認した。AI は、同様の粗抽出液から Q-Sepharose, ConA-Sepharose, Hydroxyapatite, MonoS カラムクロマトグラフィーにより、約 1300 倍に精製した。この精製標品は、SDS-PAGEで 38kDa の主成分と 30kDa 付近の成分を示した。38kDa 成分は単一であったので、N 末端アミノ酸の部分配列を決定するとともに抗体を調製中である。

以上の結果から、SS と AI が、ヤエナリ種子の発芽の際に誘導されてくるショ糖の Sink 酵素としての役割が推定される。異なった生育条件下での活性変動から、両酵素は、誘導の機構が異なることが推定されるので、これを解明するために cDNA のクローニングを行っている。それらの結果をあわせて報告する。

1Aa04

イネの再分化時におけるカルシウム結合タンパク質パルブアルブミンの発現

梶原英之、平野久、福田実、川田元滋、大野清春（農水省農業生物資源研究所）

イネにおいて存在することが明らかになったパルブアルブミン類似カルシウム結合タンパク質の再分化時における発現をしらべた。

発芽後３週間を経たイネ（日本晴）緑葉を２次元ポリアクリルアミド電気泳動を用いて分離し、エレクトロブロッティングした後、それぞれのスポットのＮ末端アミノ酸配列の決定を行なった。その結果、プラストシアニン、リブロース－１、５－二リン酸カルボキシラーゼ、スーパーオキシドジスムターゼなどよく知られたタンパク質の他に、動物の筋肉中に存在が報告されているパルブアルブミンとホモロジーの高いタンパク質が同定された。このタンパク質は、陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて精製することができ、電気泳動により分子量２７ｋＤａ、等電点ｐＩ５．０であることがわかった。またマイクロフィルトレーション法によりカルシウム結合能を持つことが認められた。イネ・パルブアルブミンのＮ末端アミノ酸配列に基づき３０アミノ酸よりなるオリゴペプチドを合成し、これをウサギに注射することにより抗体を作製した。この抗体を用いたのイムノブロッティング法により、（１）非還元状態で電気泳動すると５５ｋＤａであり、ホモダイマーではないかと考えられること、（２）根、葉、カルスのいずれにも存在するが、葉に最も多く発現していること、（３）葉において、酢酸尿素ポリアクリルアミド電気泳動で分けられる３つのアイソマーが存在すること、などがわかった。このパルブアルブミン類似タンパク質の発現を調べたところ、ヒートショック、光条件（明暗）、塩ストレス、発芽過程ではまったく発現量の変化は認められなっかた。しかし、カルスをカルス増殖培地よりイネ再分化培地に移植すると３日目にこのタンパク質が誘導されることが見い出された。再分化能の低い系統のカルスは高いものに比べて誘導が遅れるかなく、誘導されても量が少ないことが観察された。

イネで発見されたカルシウム結合パルブアルブミン類似タンパク質の機能は不明であるが、再分化過程において発現し、何らかの重要な機能を担っているのではないかと推測された。

1Aa05　ササゲ発芽種子におけるポリ（A）ポリメラーゼの発現

樽井　裕・南川隆雄　（都立大・理・生物）

1）ササゲ発芽種子のポリ（A）ポリメラーゼには、疎水クロマトグラフィーにより分離される2型（PAPase I 及び II）が存在するが、そのうち I は SDS-PAGE により 63K の単一バンドを与える均一なタンパク質として精製された。この標品を用いて以下の酵素学的性質を明らかにした。① ATP-Mn 錯体が事実上の基質となると考えられる。他の NTP は阻害的に働き、特に UTP-Mn 錯体は不競合的に酵素反応を阻害した。② Mn^{2+}以外の二価金属イオンは酵素活性に関与しなかった。Mg^{2+}、Fe^{2+}はむしろ阻害的であった。③ジヌクレオチド以上の長さの RNA（3'-OH）をプライマーとして要求した。④ササゲ発芽種子胚軸からのポリソームより調製したポリ（A）結合タンパク質が ATP-Mn に対する Km 値を下げた。

2）また、酵素 I の精製標品中にポリ（A）に特異的な 3'-エキソヌクレアーゼ活性が見いだされた。この RNase 活性は、一本鎖ポリ（A）に特異的であり、ポリ（U）は強く活性を阻害した。ヌクレオチド類は RNase 活性を弱く阻害するが、ATP、ADP は阻害しない。合成活性と異なり、Mg^{2+}も Mn^{2+}と同様に RNase 活性を上げる。この RNase 活性は、精製 PAPase I 標品中に検出されることから、PAPase 分子はポリ（A）合成／分解の両活性を有することが考えられる。これらを明かにするために、PAPase I に対する抗体を用いた以下の実験を行った。

3）酵素 I の精製標品を SDS-PAGE で分離後、63K のバンドを切り出し、直接アジュバントに懸濁して抗原とし、常法によりウサギ抗血清を得た。ウエスタンブロット法では、この抗血清は PAPase I のみに反応し、PAPase II 画分には反応しなかった。また、精製した抗体は、PAPase I 標品中のポリ（A）合成／分解両活性を免疫沈澱させることから、PAPase I はその両活性を持つことが強く示唆された。

4）次に、上の抗血清を用いて発芽期の PAPase I の量的変動について調べた。抗血清と反応するポリペプチドは子葉中にのみ検出され、発芽 0 - 5 日目までは胚軸中には検出されなかった。子葉の 63K ポリペプチドは 0 日目から存在し、1.5 日目まで増加、以後急速に減少した。また、1.5 日目から 3 日目にかけて、約 100K の位置に抗血清と反応する顕著なバンドが現れた。

1Aa06 細胞性粘菌のＤＮＡトポイソメラーゼⅡの精製と性質

光原一朗、黒江謙治[1]、田仲可昌、柳沢嘉一郎（筑波大学・生物科学系、[1] 応用生物化学系）

ＤＮＡトポイソメラーゼⅡは、ＤＮＡ鎖の切断、再結合を介して、ＤＮＡの立体構造を変換する酵素であり、ＤＮＡの複製、ＲＮＡの転写、クロマチンの凝集等に必要だと言われている。一方、細胞性粘菌は単純な発生分化を示す下等真核生物であり、発生分化を研究する上でよいモデル系となっている。この酵素の、発生分化における役割を調べるために、細胞性粘菌（*Dictyostelium discoideum*）においてＤＮＡトポイソメラーゼⅡの精製を試みた。

細胞性粘菌の細胞から調製した核抽出液を、ホスホセルロースカラム及び、ハイドロキシアパタイトカラムクロマトグラフィーにより分離してＤＮＡトポイソメラーゼⅡを精製した。この活性分画の一部を保存し、ＤＮＡトポイソメラーゼⅡの性質を調べるために使用した。残りを、ＤＮＡトポイソメラーゼⅡの特異的阻害剤であるノボビオシンをSepharose 6Bに結合させたアフィニティーカラムによりさらに精製した。この標品を、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離したところ、170KDa付近に主要なバンドが検出された。以上の実験結果及び他の生物のＤＮＡトポイソメラーゼⅡとの比較から、この170KDaのバンドが細胞性粘菌のＤＮＡトポイソメラーゼⅡのサブユニット成分であると考えられる。

ハイドロキシアパタイトカラムクロマトグラフィー後の酵素標品を用いて調べた、細胞性粘菌のＤＮＡトポイソメラーゼⅡの性質は、他の生物の酵素で知られているそれとほぼ一致していたが、pH，イオン濃度に関して、やや広い範囲で活性を有していることが分かった。また、ノボビオシン、ｍＡＭＳＡ等のＤＮＡトポイソメラーゼⅡの阻害剤が活性を阻害する濃度も、他の生物の酵素で知られているものとほぼ同程度であった。しかし、これらの阻害剤による細胞性粘菌の増殖阻害を調べたところ、高等動物の培養細胞に比べ、細胞性粘菌はこれらの薬剤に対し極めて抵抗性である事が分かった。この抵抗性の違いは、おそらくこれらの薬剤に対する細胞膜の物質透過性の違いあるいは、薬剤排除機構の違いによるものだと考えられる。

1Aa07

大腸菌における嫌気的スーパーオキシドジスムターゼ合成に対する金属イオンの影響

三宅浩一郎（広島大・理・植物）

スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）は活性酸素であるスーパーオキシドを不均化する酵素である。大腸菌はSODとして、鉄を含むSOD（Fe SOD）、マンガンを含むSOD（Mn SOD）及び蛋白部分が両者のハイブリッドであるSOD（hybrid SOD）の3種のSODを含み、これらは電気泳動により区別することができる。好気的に生育した大腸菌は3種のSODすべてを含むが、嫌気的に発酵により生育した大腸菌ではFe SODのみを含む。しかし嫌気条件においても硝酸呼吸により生育するとFe SODの他にMn SOD及びhybrid SODの合成が生じる。大腸菌におけるMn SOD合成は鉄イオン及びマンガンイオンにより調節されることが知られている。しかし鉄イオン及びマンガンイオン以外の金属イオンについて大腸菌のSOD合成に対する影響を調査した研究は少ない。そこで今回、種々の金属イオンの大腸菌におけるSOD合成に対する影響を調査した。しかし好気条件下では酸素と金属イオンから生成する活性酸素のSOD合成に対する影響が考えられる。そこで本実験では、嫌気条件下においてMn SOD合成の生じない発酵による生育時とMn SOD合成が生じる硝酸呼吸による生育時について種々の金属イオンのSOD合成に対する影響を電気泳動を用いることにより比較調査した。

硝酸呼吸による生育時にCr^{3+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Ga^{3+}を添加した時Cu^{2+}を添加した時にのみMn SODの増大が生じた。一方発酵による生育時においてもCu^{2+}添加によりごく弱いMn SOD活性が検出された。また両条件ともにCu^{2+}添加により3種のSOD以外に第4の新らしいSODが出現した。生育を制限した条件下でCu^{2+}を添加した時には硝酸呼吸が生じる時にのみMn SODの増大が生じた。またこのMn SOD増大はクロラムフェニコールにより阻害された。一方第4の新らしいSODは硝酸呼吸とは無関係にCu^{2+}添加により出現した。Cu^{2+}添加により出現する新らしいSODの活性はCN^-, H_2O_2及びデイエチルデイチイオカルバメートに抵抗性であり、分子サイズはMn SODと同一であったが電荷がMn SODとは異なっていた。以上の結果から嫌気条件下においてCu^{2+}により大腸菌のMn SODの合成が生じること、またこのMn SOD合成が硝酸呼吸によって促進されることが明らかとなった。

1Aa08

リン酸飢餓処理したニチニチソウ培養細胞の分泌するホスファターゼの精製と性質

°新井康仁・降旗　敬・桜井英博　（早大・教育・生物）

高等植物においてリンは無機リン酸（Pi）の形で根細胞によって積極的に吸収され各組織に移動する。土壌中のリン利用の第一段階では、土壌中の有機リン酸をPiに水解する細胞外ホスファターゼが重要である。そしてPiは根細胞膜上に存在する特異的リン酸輸送体によって取り込まれると思われる。そこで本研究では液体培養細胞（ニチニチソウ：Catharanthus roseus）を用い、細胞外酸性ホスファターゼ（APase）活性に及ぼす培地リン環境の影響を調べるとともに酵素の精製を行った。

【細胞外APase活性】　MS培地で培養したニチニチソウ細胞（Normal処理）を終濃度1.25mM KH_2PO_4になるように一日おきに加えて培養した（+Pi処理）。さらにこの細胞をPiフリーのMS培地に移して培養した（-Pi処理）。-Pi処理すると培地に放出される酸性ホスファターゼの全活性の上昇が顕著に早まる。なお細胞内部のAPase活性も-Pi処理細胞ではNormal細胞より先に徐々に上昇してゆく。培地の90%飽和硫安沈澱画分をnative-PAGEしAPaseの活性染色を行うと、幅の広いバンドがすくなくとも三本存在した（移動度の低いものからA,B,C）。　Normal処理ではCの出現が一番遅く、+Pi処理ではCはほとんど見られなかった。このバンドの濃さから見て、-Pi処理6日目では活性はA≫B≒Cであった。

【APaseの精製】　細胞外APaseは、50～80%飽和の硫安沈澱、ゲルろ過（Toyopearl HW55）、陰イオン交換（Mono Q HPLC）、アフィニティークロマト（ConA-Sepharose 4B）、ゲルろ過（Superose HPLC）により精製した。 Toyopearl HW55,Mono Qにより２つのAPase画分（PI,PII）が得られるが、PI,PIIとも可視部に目だった吸収はなく、活性に2価カチオンを必要とせず、PAS陽性、至適pHは4.5であった。精製したPIはバンドAに対応し、PNPP,XTP(ATP、CTP、UTP、ITP),PPiには高い活性を示すが、ADP,糖リン酸(FBP、G6P、G1P、PGA),とくにフィチン酸には低い活性しか示さなかった。SDS-PAGE,ゲルろ過により、PIは65kDサブユニット２量体の糖タンパクと推定される。native-PAGE,活性染色の結果、PIIはバンドCとほぼ同じだがやや移動度の高い位置に活性が検出された。

1Aa09　イネアスパラギン酸キナーゼの多様性

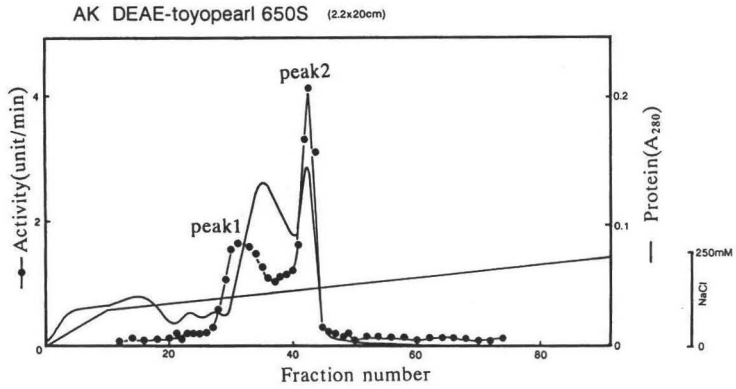
○清田誠一郎・坂野勝啓（農水省・生物研）

アスパラギン酸キナーゼ（AK)は、リジン・スレオニン・メチオニン等のアミノ酸合成経路の初発段階に位置する酵素である。そのため、合成経路中の種々のアミノ酸によって活性が調節されている。植物では、大まかに分けて、リジン阻害タイプ(Lys-AK)・スレオニン阻害タイプ(Thr-AK)の２種類が知られている。種々の植物でその性質が調べられているが、均一にまで精製された酵素は得られていない。そのため、酵素のサブユニット構造やアイソザイム間の関連については、不明のままである。今回、イネ幼植物葉のAKの精製の過程で、イネAKにおいてもアイソザイムの存在が示唆されたので報告する。

精製方法：イネ（コシヒカリ）幼植物の葉をN_2中で破砕後、10mM EDTA, 1% Sodium iso-ascorbate, 28mM mercaptoethanol, 0.1mM lysine, 15% glycerolを含む50mM potassium phosphate buffer pH7.5で抽出した。この抽出液を、Sephadex G-25, Butyl Toyopearl 650M, Sephacryl S-300, DEAE Toyopearl 650S, HA-1000, Mono Q等の各種クロマトグラフィーを用いて精製した。活性測定はヒドロキサム酸法を用い、反応は、30℃、2時間行った。

結果：AKは、Butyl Toyopearl, Sephacryl S-300でほぼ均一なピークを示した。S-300後の部分精製酵素を用いてアミノ酸による活性阻害を調べたところ、5mM Lysで85%の阻害を受けたほかは、Thr, Ileu, Leu, Val, Ala, Met（各5mM）で活性に影響を受けなかった。Lysによる50%阻害濃度（I_{50}）は、0.25mMであった。S-Adenosylmethionine(SAM)の添加は、Lysに対する感受性を促進した。

このS-300の画分を、DEAE Toyopearlにかけたところ、図のように２つのピークに分離した。peak1とpeak2共に、Lysによって同様の阻害を受けたが、Thrでは影響を受けなかった。両ピークとも、DEAE Toyopearlでの再クロマトで、溶出位置に変化は見られなかった。オオムギでは、陰イオンクロマトグラフィーでLys-AKが２つの画分に分かれることが報告されている(S.E.Rognes et. al., 1983)。現在、イネの２つのピークの関連を明らかにするために、各々の画分の精製を進めている。



1Aa10

トウモロコシ・ミトコンドリア外膜のCa^{2+}・カルモジュリン依存性ＮＡＤkinaseについて

⁰早間睦、中嶋啓恵、長谷俊治（名大・農・農化）

トウモロコシ幼植物には、ミトコンドリアに局在化するCa^{2+}・カルモジュリン依存性ＮＡＤkinaseが存在する。本研究ではこの酵素の特性や生理的役割の検討を行なった。

トウモロコシ黄化実生から分別遠心とPercoll密度勾配遠心によりオルガネラを分離した。ＮＡＤkinaseの活性はCa^{2+}・カルモジュリン依存性のものと非依存性ものが検出されたが、依存性ＮＡＤkinaseはミトコンドリア画分に、非依存性ＮＡＤkinaseは他の画分に分布していた。両酵素は活性のｐＨ依存性や安定性でも異なる性質を持っていた。依存性酵素のミトコンドリア内局在性を調べてみると、カルモジュリンとの作用部位は外膜サイトソル側にあることや、トリプシンにより速やかに失活することが判明し、ミトコンドリア外部からの活性調節をうけ得る膜配向性を持っていると考えられた。このような存在様態から推察して、カルシウム・カルモジュリンＮＡＤキナーゼが細胞内のピリジンヌクレオチドの調節になんらかの役割を果たしているのではないかと考え、本酵素の植物体における存在量を詳細に調べた。発芽後２－３日目の若い黄化子葉鞘で活性が最も高く、成長とともに活性は急速に減少した。黄化植物に白色光を照射しても葉に含まれる本活性の変動はなかったが、中はい軸において活性の緩やかな増加が観察された。これらの活性消長のパターンと各組織でのNAD^+／$NADP^+$比とには明確な相関関係は認められず、現時点ではin vitroでの活性測定結果が必ずしも細胞内$NAD(P)^+$の量変動を説明し得るものではなかった。

従来のアンチマイシン非感受性チトクロムｃ還元酵素活性に加えて、Ca^{2+}・カルモジュリン依存性ＮＡＤkinaseを新たな指標酵素として、精製ミトコンドリアから外膜を調製した。外膜の主要なポリペプチド鎖は３２kD、５６kD、７６kDの分子サイズを持つものでであった。２９kD、４５kD、７０kDポリペプチド鎖を主要成分とする酵母のミトコンドリア外膜の構成と類似したものだったが、酵母タンパク質で調製した抗２９kDや抗４５kDウサギ抗体との免疫交叉反応は見られなかった。現在、カルモジュリン・アフィニテイーカラムを用いて外膜可溶化蛋白質の中から、Ca^{2+}・カルモジュリン依存性ＮＡＤkinaseの探索を進めている。

1Aa11　ニセアカシア樹皮におけるレクチンの生合成について

吉田和正・田崎　清　（森林総合研究所）

植物レクチンは従来、種子由来のものが主に研究されてきたが、最近、他の器官、例えば樹木の樹皮から新しい型のレクチンが発見されている。前回、演者らはニセアカシア樹皮由来のレクチンを精製し、季節変化等について報告した。今回は、さらに樹皮におけるレクチンの合成を明らかにするために①苗木の低温処理によるレクチン合成の誘導、②ニセアカシア樹皮からのｍＲＮＡの抽出、③レクチンに対する抗体の作製について検討した。

《方法》発芽後７及び11週目のニセアカシア苗木を15℃で２週間、次いで10℃で２週間処理した場合の樹皮におけるレクチンの変動を調べた。　春及び秋に採集したニセアカシアの樹皮から二つの方法によりＲＮＡの抽出を行った。一つはチオシアン酸グアニジンで抽出した後、塩化セシウム上で超遠心分離してＲＮＡの沈澱を得る方法、もう一つはＳＤＳ-フェノール法により抽出したＲＮＡを塩化セシウム上で超遠心分離してＲＮＡの沈澱を得る方法で行った。ここで得られた粗ＲＮＡ分画からアフィニティクロマトによりポリ（Ａ）⁺ＲＮＡを分離した。ポリ（Ａ）⁺ＲＮＡの翻訳活性はコムギ胚芽由来の無細胞蛋白質合成系で調べた。　抗体は精製した樹皮レクチンをウサギに対して免疫注射し抗血清を得た。次に、精製したレクチンをリガンドにしたアフィニティクロマトにより抗体の精製を行った。

《結果》①発芽後11週目のニセアカシア苗木を低温処理すると樹皮にレクチンが蓄積することがすでに明らかにされているが、今回、７週目の苗木で低温処理しても同様にレクチンの蓄積が見られた。また、低温処理のとき葉を半分にするとレクチンの蓄積量が抑えられた。　②春に採取したニセアカシア樹皮からはチオシアン酸グアニジン法でＲＮＡが得られたが、秋の樹皮からはこの抽出法で得られずＳＤＳ-フェノール法で抽出された。さらにこのＲＮＡから得たポリ（Ａ）⁺ＲＮＡは無細胞蛋白質合成系で翻訳活性を示した。また翻訳産物には比較的高分子から低分子までのペプチドが含まれていた。　③アフィニティクロマトで精製した抗体はオクタロニー法でレクチンとの間に一本の沈降線を示した。さらに、ウエスタンブロット法により抗体と反応するペプチドを調べた。

1Aa12

イネ種子胚に見出された日本型、インド型イネに特異的なタンパク質

°猿山晴夫、 新橋 登 （北海道グリーンバイオ研究所）

栽培イネ（Oryza sativa L.）は、日本型（Japonica）イネ、インド型（Indica）イネおよびジャワ型（Javanica）イネの３つの ecospecies に分けられている。 その分類基準は、主に形態、生理的特性、地理的適応性、および交雑稔性などである。しかし分子レベルにおけるそれら ecospecies の違いは、ほとんど明らかになっていない。 我々は本研究においてイネ種子胚タンパク質を２次元電気泳動を用いて分析し、日本型イネ、インド型イネに特異的なタンパク質を見いだし、それらを用いて、イネ ecospecies の分類を試みたので、その結果を報告する。

イネ種子３０粒より胚を取り出し、緩衝液（５０ mM リン酸 buffer, pH ７.０, １% Triton X-１００）５００μlを加え、マイクロホモジネートで ５分間破砕した後、遠心し、その抽出液を得る。 この抽出液を O'Farrell の２次元電気泳動にかけ、カラー銀染色でタンパク質を染色した。 日本型イネ、インド型イネおよびジャワ型イネと分類されている種子、および未分類の種子、合計５０品種のタンパク質を比較したところ、それぞれの胚抽出液から３００種以上のタンパク質のスポットが検出された。 その中で日本型イネに特異的なタンパク質を２種（タンパク質Ａ、Ｆ）、インド型に特異的なタンパク質を１種（タンパク質Ｅ）および、品種によって存在または非存在を示す７種のタンパク質（タンパク質Ｂ－Ｄ、Ｇ－Ｊ）を見いだした。 典型的な日本型イネ（日本晴、ゆきひかり等）のタンパク質を基準（変化値＝０）として、それら１０種のタンパク質の存在、非存在の変化を比較したところ、インド型イネは日本型イネに対して５－８種類のタンパク質のスポットの変化を示し（変化値＝５－８）、またジャワ型イネでは、その中間の変化 （変化値＝２.５－４）を示した。

以上の結果より、これらタンパク質の存在、非存在の変化の度合は、日本型イネ、インド型イネおよびジャワ型イネに特異的であり、この変化値と、日本型イネとインド型イネにそれぞれ特異的なタンパク質（タンパク質Ａ、Ｅ、Ｆ）を基準に、イネの ecospecies の同定をタンパク質レベルで行う事が可能と思われる。

1Ba01

根粒菌の初期感染過程の解析（セルラーゼの根毛変形への影響）

手呂内伸之、庄野邦彦　（東大・教養・基礎科学）

根粒菌(Rhizobium) はマメ科植物の根に共生窒素固定の行なわれる場である根粒（root nodule)を形成することが知られている。根粒形成に至る過程は根粒菌とマメ科植物の複雑な相互作用から成り立っている。根粒菌はまず宿主マメ科植物から分泌されるフラボノイドに反応し走化性を示し、次いで宿主植物の根毛の表面に接着をする。感染の次の過程は根毛の変形又はcurling という現象である。この変形にはblanching,waving,swelling などが報告されているがその生理的意味は全く知られていない。またcurling,特にtight な curling は次の段階である感染糸(infection thread)形成と密接に関係するすることが考えられている。この感染糸の形成が感染試験を行なう培地に添加されたオーキシンによって増大したとの報告がある。また、そのオーキシン効果が感染糸形成に必要なtight なcurling を誘導する事によるかもしれないと論議されている。私達はこのcurling に対するオーキシンの効果が根毛に対する影響か根粒菌に対する影響を通して表れるのかを明らかにするためにまずオーキシン（2,4-D)で前処理した根粒菌をオートムギに感染させ根毛のcurling への影響を調べた。その結果、2,4-D 濃度が増大するに従ってcurling する割合が多くなっていくことが観察された。一方、2,4-D だけを根に与えても大きな変化は認められなかった。以上のことから根毛のcurling に関係する根粒菌の生産物が2,4-D の付加によって誘導されて来る事が示唆された。また、2,4-D 濃度の増加に伴って根粒菌の培地中のセルラーゼ活性が増大し、他方、根粒菌内の酵素活性が減少していくことが見出された。さらに市販の精製された数種の細胞壁分解酵素で根毛を処理したところ、どの酵素によってもcurling が認められた。中では、特にセルラーゼが低濃度でcurling を誘導することが認められた。このことによりセルラーゼ様物質がcurling factorの１つであり、2,4-Dがこの物質（酵素）の根粒菌からの培地への放出を促進することが推測された。

1Ba02

ダイズの根粒非着生系統（rj$_1$ rj$_1$）における根粒形成の抑制機構

菅沼教生、川手文男、田中宏明、柳本直輝、佐藤貞子　（愛教大・生物）

マメ科植物と根粒菌の共生窒素固定は、宿主植物と根粒菌との複雑な相互作用によって成立する。窒素固定能の発現に至るまでの個々のステージで遺伝的欠陥を示す突然変異体を材料に用い、その遺伝的欠陥を解明することは、共生窒素固定系の成立機構を解明する有力な解析手法だと考えられる。本研究は、一遺伝子欠損によってほとんどのダイズ根粒菌に対して根粒形成能を示さないダイズのrj$_1$ 突然変異体の根粒形成の抑制機構を解明し、根粒形成に関わる宿主植物の生理的、遺伝的要因明らかにすることを目的に行った。

材料には、ダイズ根粒着生系統T202（Rj$_1$ Rj$_1$）とその突然変異体の根粒非着生系統T201（rj$_1$ rj$_1$）を用いた。ダイズ根粒菌は系統009 を用いた。種子は滅菌したバーミキュライトに播種し、30℃、6,000lux（14h 明期）に設定したチャンバー中で育成した。

最初にT201が根粒形成過程のどのステップで止まっているかを明らかにするため、根粒菌の植物根への付着を調べた。根粒菌を接種した後、植物根を摩砕し、摩砕した液を根粒菌培養用の寒天培地に塗布したところ、T201の根を摩砕した液からはT202とほとんど同数の根粒菌のコロニーが計測された。また、接種する根粒菌の濃度と計測された根粒菌の生菌数との関係は、T201、T202ともにほとんど同じであった。さらに、根粒菌を接種した植物根を蛍光色素で染色した後、蛍光顕微鏡で観察したところ、T201もT202と同様に根粒菌が根毛に付着している様子が観察された。そこで、次に根粒菌を接種した後に見られる根毛のカーリングを観察した。その結果、T201ではT202に比べカールした根毛数が明らかに少なく、T201では根粒菌はT202と同様に根粒菌は付着しているにもかかわらず、根毛のカーリングが起っていないことが明らかになった。

次に、根粒菌に存在する根毛のカーリングに関与した遺伝子を活性化するダイズ植物体のイソフレイボン（DaidzeinとGenistein）を、高速液体クロマトグラフィーを用いて定量した。しかしながら、T201とT202の間には違いは見られなかった。また、根粒菌を接種する際にイソフレイボンを添加したが、T201に根毛のカーリングは誘導されなかった。

そこで、T202の根の全タンパク質の抗体を作製した後、T201の根の全タンパク質で滴定し、酵素免疫学的手法を用いて、T201とT202の根のタンパク質に違いがあるか調べた。

1Ba03

ダイズ根粒形成変異株における硝酸耐性機構
－$^{15}N_2$、$^{15}NO_3^-$の代謝と移行－

大山卓爾、J.E.Harper[1]（新潟大・農、[1] Univ. Illinois）

ダイズ品種Williamsから誘導した根粒形成変異株、NOD1-3、NOD2-4、NOD3-7は、親株に比べ著しく多数の根粒を着生し、かつ培地に高濃度の硝酸が存在しても根粒形成阻害を受けにくい。本報告では、これら変異株の硝酸耐性機構を調べる目的で、親株と変異株の$^{15}N_2$と$^{15}NO_3^-$の代謝と移行について比較した。ここでは、5mM 硝酸（硝酸区）、もしくは1mM尿素（対照区）を含む培地で水耕栽培した播種後25日目の植物を実験に供した。

$^{15}N_2$を24時間固定させたところ、NOD1-3、NOD2-4、NOD3-7およびWilliamsの株あたりの窒素固定速度は対照区で、2.17、1.60、1.33、1.75 μmole N_2/時間であり、硝酸区では、0.39、0.31、0.23、0.06 μmole N_2/時間であった。この結果は、親株のWilliamsでは根粒形成が強く抑制される 5mM硝酸区においても、変異株では根粒形成および窒素固定能を保持している事を示す。ただし、変異株においても、根粒形成、根粒重あたりの窒素固定能ともに硝酸の存在により抑制を受け、耐性は部分的なものである事が確認された。

次に、$^{15}NO_3^-$を投与し、変異株と親株の硝酸の吸収と移行を比較したところ、対照区硝酸区によらず、根粒形成変異株の方が親株のWilliamsより、硝酸の吸収・利用速度が遅かった。このことは、変異株の根系が親株より小さい事、および根や葉での硝酸同化が相対的に劣っている事によると考えられた。同時に、根の硝酸濃度は、変異株のほうが親株より低く保たれていた。変異株においては、根内硝酸濃度、硝酸吸収速度、硝酸同化能などが親株より低いことが根粒形成に対する硝酸耐性と関連しているかもしれない。

根粒形成変異株では、根粒菌の感染によって茎葉部で合成され、その後の根粒の着生を抑制するautoregulation signal(s)を欠くか、そのレベルが低いことにより多数の根粒が形成されると考えられている。硝酸による根粒形成阻害機構は不明であるが、ダイズ根内における高濃度の硝酸の存在が、autoregulation signal の阻害効果を増幅している可能性もある。変異株では、signalおよび硝酸含有量が低いため、根粒の発達阻害を受けにくいのかもしれない。根や根粒の可溶性炭水化物含有量は、変異株と親株で同様であり、培地硝酸の有無による影響も認められなかった。したがって、硝酸施用による根粒への光合成産物の供給変動が変異株と親株の硝酸耐性の強弱に関連する可能性は低い。

1Ba04 イネ篩管液中のRNAの検索

大嶋利幸、林　浩昭、内藤　哲[1]、米田好文[1]、茅野充男
（東京大学・農・農芸化学、[1]東京大学・遺伝子実験施設）

農業上重要であるイネ、コムギ、トウモロコシの篩管液は、インセクトレーザー法を用いてintactの植物体より採取されており、その無機イオン、糖、アミノ酸、ヌクレオチド、有機酸、タンパク質等の分析が行なわれている。一方、篩管液中の核酸に関する報告は現在にいたるまで、アミノ酸等の低分子化合物やタンパク質にくらべ少ない。そこで、本研究ではインセクトレーザー法により採取したイネ篩管液中の核酸の検出を試み、検出された核酸についていくつかの実験を行なった。

（イネ篩管液中の核酸の検出）篩管液20μlを 8%アクリルアミドゲル電気泳動しエチジウムブロマイド染色することで低分子領域に核酸と思われる単一のバンドを検出し、また、このバンドが数μl の篩管液を銀染色することでも検出できることを確認した。次に、篩管液に対しDNase処理、RNase処理をそれぞれ行い、この核酸が RNAであることを確認した。変性ゲルでの電気泳動によりその塩基数は85前後と推定された。

（篩管液RNAがtRNAである可能性について）塩基数の推定結果などから、篩管液RNAがtRNAである可能性が考えられた。始めにコムギ胚tRNAより合成したプローブとこの RNAがハイブリダイズすることと、検出される２本のバンドの電気泳動位置がほぼコムギ胚tRNAと同じであることを確認した。次に、このRNA がイネ由来であるか確認するためにイネのtRNAより合成したプローブとハイブリダイゼーションを行ない同様の結果を得た。検出される２本のバンドのうち１本は篩管液採取に用いるトビイロウンカのtRNAより合成したプローブともハイブリダイズすることが確認された。そこで、採取段階の異なる篩管液に対してイネ、ウンカtRNAより合成したプローブでそれぞれハイブリダイゼーションを行ない、採取段階が後期の篩管液ほどウンカtRNAより合成したプローブとのハイブリダイズの程度が減少することを確認した。さらに、解剖バサミで切断したウンカの口針を集めその切断面からtRNAなどの核酸が実際に浸出する可能性があることも確認した。

本研究で検出された RNAが、実際に篩管中を流れているか、また、なんらかの機能を持っているかは今後の研究課題である。加えて、これ以外の核酸が存在しているかをさらに詳しく調べる必要があると思われる。

1Ba05　イネ篩管液中に存在するリン酸化を受けるタンパク質

林　浩昭、中村進一、茅野充男　（東京大学・農・農化）

篩管は、植物における物質輸送をつかさどる管であり、特に、ソースからシンクへ光合成産物を送る役目を担っている。篩管を流れる液（篩管液）の主な成分は、ショ糖、アミノ酸、K^+であり、それぞれ数100mMの濃度で流れている。

一方、篩管は、葉において感知した様々な刺激を成長点をはじめ植物体各所へ伝える管としても機能していると考えられる。花芽形成の刺激は、何らかの物質が篩管を流れて成長点へ伝えられるということが、様々な実験により示唆されている。光条件をはじめ植物の置かれた環境条件の変動は、篩管液の組成（ショ糖、アミノ酸等）に大きな影響を与えることが示されているが、さらに微量成分についてもその量的、質的な変化を引き起こしていると考えられる。

中村らは、イネ篩管液中に約200ng/μlの濃度でタンパク質が存在することをしめしたが、これらタンパク質がどのような機能を持つかは、明らかにされていない。本研究は、篩管液タンパク質が環境条件により何らかの質的変化（リン酸化）を起こすかどうかを明らかにし、そのことが、篩管による刺激伝達に関与しているかどうかを明らかにすることである。

＜方法＞　播種後、30-40日目のイネ（品種、観稲）を、48時間、〔γ^{32}P〕ＡＴＰで標識した。トビイロウンカの口針を利用するインセクトレーザー法により葉鞘より篩管液を採取した。得られた篩管液を、SDS-PAGEで分離後、オートラジオグラムをとった。

＜結果＞　〔γ^{32}P〕ＡＴＰによる in vivo 標識で、篩管液タンパク質のうち、分子量17kD(PPP17),20kD(PPP20),24kD(PPP24)のタンパク質が強くラベルされた。また、僅かではあるが、分子量100kD付近のタンパク質もリン酸化された。暗条件下では、PPP17,PPP24が、明条件下では、PPP17,PPP20が、それぞれリン酸化された。PPP24は、暗→明の変化で直ちに脱リン酸化が起こり、PPP20は、暗→明の変化で緩やかにリン酸化が進行した。

篩管液中に存在する上記タンパク質は、そのリン酸化の状態が光により制御されることより、刺激伝達、代謝調節に関与することが考えられた。

1Ba06 イネ篩管液中に存在するタンパク質の諸性質

中村進一、林　浩昭、福沢まさき、茅野充男
（東京大学・農・農芸化学）

イネの篩管内にはアミノ酸、糖、カリウムイオンなど様々な物質が転流していることがこれまでに明らかにされている。また１００種以上のタンパク質が篩管内を転流することが二次元電気泳動によって確認されている。これらタンパク質の存在量は篩管液中に含まれるアミノ酸に比べて微量であり、タンパク質はSinkにおけるＮ－源であるとは考えられない。西洋カボチャから得られる篩管液中にはイネに比べて、１００倍以上の量のタンパク質が存在することが報告されている。そしてそれらのタンパク質の中にはレクチン活性を持つものが含まれ、植物体における防御機能を持つのではないかと考えられている。篩管はSourseとSinkを結び付ける重要な通導組織であり、その中に存在するタンパク質にはSinkに対するSignalを伝達するタンパク質、植物体外部からの侵入に対する防御機能を持つといった何らかの生理活性を持つものが存在すると考えられる。ここで我々は上記のタンパク質の中でも特異的に糖鎖を認識するタンパク質、コンカナバリンＡによって検出することができるmannose側鎖を含む糖タンパク質が篩管液中に存在するかどうかを調べた。

（方法）水耕栽培で育てた、イネ（観稲）を用いて、篩管液の採取を行った。篩管液はイネの葉鞘に取り付けたトビイロウンカの口針をＹＡＧレーザー光線によって切断し、切断箇所より滲出してくる液を採取する方法によった。採取した篩管液をＳＤＳ－ＰＡＧＥ、二次元電気泳動にかけ、タンパク質を分離後、ニトロセルロース膜へ転写し、糖タンパク質の検出、糖側鎖を認識するタンパク質の検出を行った。

（結果）イネ篩管液中には、特異的に糖鎖と結合する分子量約３０ｋＤのタンパク質が存在することが明らかになった。またコンカナバリンＡと結合するmannose残基を含む糖タンパク質が分子量約４０ｋＤから６０ｋＤに至るまでに数個存在することがわかった。レクチン活性の有無及び糖タンパク質の生理活性やその挙動などを調べることが今後の課題である。

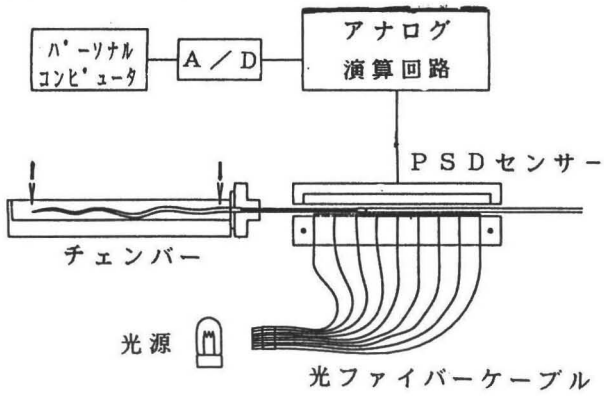
1Ba07

根液溢泌連続測定装置の開発
－浸透ストレスと根液溢泌－

田浦武英、加藤　潔　（名古屋大・理・生物）

植物体を根の上部で切断すると根の断面から根液が分泌される。この現象は根液溢泌と呼ばれ呼吸に依存する。先に我々は、二重カナル模型によって根における半径方向の水と溶質の輸送機構を理論的に明らかにした(1)(2)。今回このモデルを実験的に検証する目的で根液溢泌を連続して計測する装置を作製した（図）。根の断面から分泌された溢泌液を内径 0.7mmのガラスのキャピラリに集め、溢泌液の先端に長さ約 5mmの空気の泡を置いた。溢泌液と気泡の境界面の位置を半導体位置検出素子(PSD)で検出し、その出力をA/Dコンバータを通してパーソナルコンピュータで処理することによって、溢泌液のメニスカス位置を測定した。測定の精度は、メニスカスの位置にして 0.3 mm、溢泌液の量にして 0.1μl であった。

根液溢泌は、根外液に浸透ストレスをかけることにより変化することが知られている。上記の装置を用い発芽後５日目のトウモロコシの種子根に 80mM sorbitol または、40 mM KCl により浸透ストレスをかけた時に起こる根液溢泌の変化を測定した。その結果、根液溢泌は浸透ストレスをかけた直後に逆転するが、しばらくすると回復することがわかった。回復までにかかる時間は、sorbitol でストレスをかけた場合 33分であるが、KCl でストレスをかけた場合には、19分と短かった。吸収可能な溶質がある場合とない場合とで今回観測されたストレスに対する反応の違いは二重カナル模型が予測する根における溶質と水の共輸送の可能性を支持する。



(1)Katou et. al. 1987 Protoplasma 140: 123-132
(2)Taura et. al. 1988 Protoplasma 144: 170-179

1Ba08

Ion and Metabolite Distribution in Salt Stressed Barley Plants.

Jean-Marie Stassart * and Toshio Kawasaki
Research Institute for Bioresources, Okayama University.

After preliminary selection (1), two groups of barley varieties, one representing rather salt tolerant plants (five varieties) and the other more salt sensitive plants (four varieties), were tested for their general behavior under a 150 mM NaCl salt stress, in hydroponic conditions. Out of this ten weeks lasting test, the two extremes were selected for a more detailed study of their ion distribution among their leaves as a function of their age and development. It is clear from a leaf by leaf analysis that the salt tolerant variety (UO E574 Gondar 1) has a much more efficient way of partitioning the cations than does its salt sensitive counter part (UO K116 Jeonju Native), where large amounts of sodium invaded the young leaves at an early stage. This fundamental difference has to be related to the plants ability to segregate sodium, mainly in vacuoles of its older leaves (2). To attain this successful way of keeping the K/Na ratio relatively high, in the young developing shoot parts, it probably requires the involvement of several compatible osmotica. These could be sugars (3), but also proline (4) and glycinebetaine (5). The occurrence of these substances and the kinetics of their appearance are presently under investigation. More detailed results are to be discussed as to their importance in differentiating a salt tolerant from a salt sensitive glycophite, barley in this case.

(1) D.Sopandie: doctoral thesis, Okayama University. 1990.
(2) H.Greenway: Aust.J.Biol.Sci.,18 763-779. 1965.
(3) J.M.Stassart: Plant Membrane Transport, 679-680. Elsevier Sci.Publishers, ed. J.Dainty. 1989.
(4) P.Pesci: Plant Physiol. 89, 1226-1230. 1989.
(5) R.Storey and R.G.Wyn Jones: Phytochemistry Vol. 16, 447-453. 1977.

Acknowledgements: The authors wish to thank Dr. M.Moritsugu for his constant and valuable assistance.

* The European Communities Scientific Training Programme in Japan.

1Ba09

麦における元素分布 - Na, Mg, P, Cl, K, Ca及びMnの葉内分布について

中西友子、松本聰（東大農学部）

I. 目的

植物各組織における元素分布の経時変化は、植物栄養及び植物生理作用等を解明する上で、重要な情報を供すると予想されているが、報告例は極めて少ない。植物体内での元素の蓄積、再分配等の挙動を解明するため、本研究では、大麦の発芽後約2ヶ月にわたり、各発育段階における大麦葉内の元素分布を、非破壊放射化分析法により測定することを試みた。また、これらの元素量が同一葉内においても著しく異なることから、各葉内部分の光合成能との比較を行なうため、RuBisCOのmRNA量の測定も、合わせて行なった。

II. 供試料及び方法

植物試料としてミノリムギを用いた。水耕法により約2ヶ月間育成を行ない、その間、12、19、23、31、46、56日目の試料を3～5本採取し、放射化分析用試料とした。各葉の先端、下端及び中間部の2～5cmを切りとり、70℃で乾燥させた後ビニル袋に封入し、立教原子炉で3分間中性子照射を行なった。(flux : 1.4×10^{12} n/sec.cm^2) 照射後、生成した核種のγ線を、Ge(Li)カウンターを用いて測定した。なお、Pの定量は$^{31}P(n,\alpha)^{28}Al$反応を利用するため、同一試料をCd容器に収納し、再放射化することにより求めた。
RuBisCOのmRNA量の定量は、稲のLサブユニットのcDNA（rbcL，名古屋大農学部平井篤志教授より分けていただいた）を用い、ドット法で行なった。

III. 要約

1. Na, Mg, P, Cl, K, Ca及びMnの7元素が測定されたが、各元素共、葉の先端又は下端に分布の最大値が存在し、中間部には最大値は示されなかった。この、葉の片端に元素が集積する傾向は19日目頃から顕著に見られ、56日目までその傾向は不変であった。
2. 7元素共、各発育段階において、葉の部位にかかわらず、最も若い葉よりも、中間、又は古い葉に、より多量に存在する傾向が認められた。
3. 46日目の試料では、RuBisCOのmRNA量は、葉の下端より上端の方が、また、古い葉より若い葉の方が多かった。

1Ba10　ドナリエラの成長に対するＭｇとＣａの拮抗作用

°藤井修平・高田英夫（帝塚山短大・食品）

これまで、我々はいろいろな塩環境における D. tertiolecta の成長を調べてきた。その結果、この藻類のナトリウム塩環境での成長は陰イオンの種類に関係しないが、マグネシウム塩環境での成長は陰イオンの種類に関係する事が分かった。すなわち、この藻類は硫酸マグネシウム塩環境で成長したが、塩化マグネシウム塩や硝酸マグネシウム塩環境では全く成長しなかった。マグネシウムイオンとカルシウムイオンは拮抗的に作用しあう可能性がある。今回、ドナリエラの成長にたいするマグネシウム塩の影響を明らかにするために、成長・細胞内カチオン濃度に対するカルシウムイオンの影響を検討した。

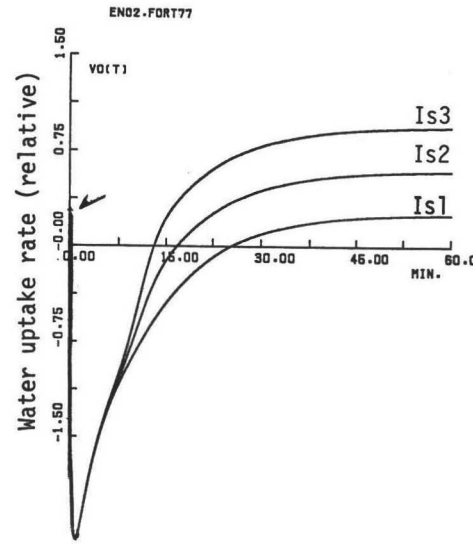
ドナリエラは無機培地・光照射下で培養し、成長は細胞数の増加で測定した。基本的培地にカルシウムイオンは約１ｍＭ含まれており、塩化カルシウム塩を添加する事で培地中カルシウムイオン濃度を変化させた。細胞内カチオンの測定は次のように行なった。光照射下４時間培養した細胞を等張のソルビトール液で洗浄後、１％TCAを加え細胞を破砕し遠心分離により得た上清を分析試料として、カチオンを原子吸光分光光度計を用いて測定した。細胞内濃度を計算するための細胞体積は、細胞を顕微鏡撮影し回転楕円体と近似して求めた。

培地中のカルシウムイオン濃度の増加にともない、硫酸マグネシウム塩環境でのドナリエラの成長は回復した。この時、カルシウムイオンの取り込みの拮抗的阻害剤のLa^{3+}やカルシウムイオンのキレート剤のＥＧＴＡを同時に加えると、カルシウムイオン濃度の増加による成長の回復は抑制された。また、培地中のマグネシウムイオン濃度を変えて成長させた場合の細胞数と培地中カルシウム濃度との逆数プロットから、カルシウムイオンとマグネシウムイオンが成長に対して拮抗的に作用すると考えられる結果を得た。さらに、細胞内カチオン濃度の変化を調べると、培地中カルシウム量の増加に従って細胞内カルシウム濃度が増加することが分かった。従って、マグネシウム塩環境ではカルシウムイオンの取り込みがマグネシウムイオンにより拮抗的に阻害されるため、成長が抑えられているものと考えられる。

1Ba11　高等植物の水ストレス適応と吸水ポンプ（カナルシステム）

加藤　潔，榎本美久[1]（名古屋大・理・生物，[1]物理）

植物の茎や根の伸長生長は水ストレスによって阻害されるが，しばらくすれば回復する．この生長の適応回復は呼吸に依存する．例えば植物幼茎切片に導管灌流によって浸透ストレスを加えると，吸収可能な溶質やオーキシンが共存すれば伸長の適応回復は早まる（Lui et al. 1989）．生長の回復時に細胞内圧は低下したままの一定値を保つ．しかし，呼吸を阻害すると細胞内圧はさらに低下し同時に生長は停止する（Nakahori et al. 1989）．こらの事実は幼茎伸長の水ストレス適応にも，オーキシンによる伸長促進と同様に，能動的水吸収すなわち吸水ポンプが関与をことを示唆する．著者らは1986年（Katou & Furumoto），幼茎に於ける吸水ポンプの実体は単一の蛋白分子ではなく，セミマクロな構造体（カナルシステム）であることを理論的に明らかにし，その働きを非線形の常微分方程式（カナル方程式）で表現した．オーキシンの吸水促進の働きはこの方程式によって記述できた．しかし，水ストレス適応のような時間依存性の高い現象は時間変化も表現できるより一般化したカナル方程式，$(1/D)(\partial C/\partial t) = \mathrm{div\ grad}\ C - (1/D)\mathrm{div}(Cv) - (2I_s/qD)$と $\mathrm{div}\ v = -(2I_v/q)$との連立偏微分方程式によってしか記述できない（Katou & Furumoto 1988）．今回この方程式の数値解を求める計算機アルゴリズムの開発に成功し，図の様にミトリササゲ幼茎切片の伸長生長の水ストレスに対する適応回復現象を計算機解析によって表現できた．理論解析の結果は，水ストレスによって活性化される溶質の能動吸収が能動的吸水を促進し，伸長生長の適応回復を早めることを予測している．



1Ba12

チャ種子ならびに取り出し胚の乾燥前処理による液体窒素中の凍結保存

倉貫幸一、吉田静夫[1]（静岡茶試、[1]北大低温研）

種子の凍結保存は、遺伝資源保存上重要であるが、一般に、高含水量種子（recalcitrant seed）の凍結保存は難しく、チャについても同様である。そこで、胚を取り出し、あらかじめ乾燥することにより、LN_2での凍結保存が可能になったので報告する。

方法

①チャ種子の耐凍性：種子（やぶきた自然交雑実生）、取り出し胚（以下 胚）と切り取った子葉（以下 子葉）を用い、24時間毎に-5～-20℃に下げ、生存調査を行なった。②種子の乾燥と生存調査：ﾌﾟﾗｽﾁｯｸの容器に乾燥ｼﾘｶｹﾞﾙ20～300gと種子50gを入れ、1週間乾燥し、示差熱分析と発芽調査を行なった。③取り出し胚の乾燥とLN_2中での凍結：ﾌﾟﾗｽﾁｯｸの容器に10gｼﾘｶｹﾞﾙと0～4gの水を添加した紙の上に胚30個を置いたｼｬｰﾚを入れ、1週間乾燥した。胚はLN_2で1時間凍結後、36℃の湯または室温で融解し、発芽調査を行なった。

結果

①種子は-7.5℃まで生存し、胚と子葉は-15℃まで生存した。②示差熱分析の結果、凍結温度は水分含量が0.5（水／乾物重）より減少すると低くなり、0.2で-23℃を示した。水分含量と発芽率は図1に示すように水分含量が0.5以下で急激に低下し、0.2では発芽しなかった。また-35℃とLN_2での凍結後の生存は見られなかった。③LN_2による凍結後の胚の水分含量と発芽率は図2に示す。発芽率は水分含量が0.15～0.30で高く、種子から胚を取り出し、乾燥することにより、LN_2中で胚の生存が可能になった。凍結後、胚は湯または室内の融解で生存率に差はなかった。

以上のことから、LN_2中での保存には胚の水分含量が0.15～0.30の範囲で適し、その場合過冷却の状態で生存しているものと考えられる。

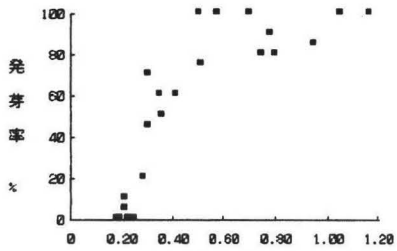


図1 種子の水分含量と発芽率(やぶきた)

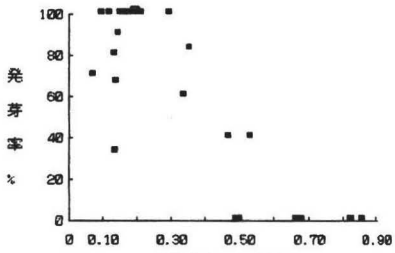


図2 取り出し胚の水分含量と発芽率(やぶきた)

1Ca01

タバコの細胞質雄性不稔性に関与するミトコンドリアDNA領域の構造解析

小鞠敏彦、森岡真二、朝日孝宏、神代　隆（日本たばこ・遺伝育種研）

細胞融合によって作出した雄性不稔植物を材料として、細胞質雄性不稔に関与するDNA断片の解析を行っている。これまで、1) Nicotiana debneyiの細胞質を導入した雄性不稔N.tabacumは、両種のミトコンドリア(mt)DNAの分子間組換えにより生じたmtDNAを有すること、2) mtDNAの制限パターンについて雄性不稔系統間に大きな差異が認められるが、調査した26系統すべてにN.debneyi由来の3.4 kb BamHI断片が存在すること、3) N.tabacumに雄性不稔を起こすN.suaveolensとN.megalosiphonのmtDNAにこの断片と相同性のある3.4 kb BamHI断片が存在すること、4) この2種の細胞質を導入した雄性不稔N.tabacumにもこれらの断片が検出されることが明らかになり、3.4 kb BamHI断片と細胞質雄性不稔性とが密接に関連していることが判明した。

N.debneyiのmtゲノムについて、この断片と周辺のDNAの構造を調査するため以下の実験を行った。まず、N.debneyiのmtDNAをEcoRIで不完全分解して得られる断片をクローニングし、コスミドクローンライブラリーを構築した。EcoRIを用いたのは、最大のEcoRI断片が比較的小さい(約11 kb)からである。数個のクローンについてDNAを調製しEcoRIで切断したところ、各クローンには合計17～23 kbの挿入断片が含まれていた。制限分析によってN.debneyiのmtDNAは約350 kbと推定されたので、このライブラリーにおいてはランダムに選抜した約80個のクローンによりmtDNAの99%以上が含まれる計算になる。隣接するクローンとの重複部分を順次比較することによって、mtDNA全体の物理的構造について知見が得られると期待し、詳細に挿入断片長の解析を行った。しかし、272個のクローンを供試したにもかかわらず、環状の制限地図を作成することはできなかった。N.debneyiのmtDNAは、他の植物のmtDNAと同様に、分子内組換えを起こしやすい部位が多数存在する複雑な構造をしていると考えられる。

上述の3.4 kb BamHI断片の近傍に絞って調査を行うため、この断片を有するクローンを選抜したところ、272クローンのうち17個が該当した。これらのクローンの制限パターンの比較によって隣接する断片を推定し、さらにこれらの断片をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行った。この結果、3.4 kb BamHI断片を中心とする約10 kbの領域については、EcoRI、HindIII、BamHIによる制限地図を作成することができた。しかし、この外側の領域については、クローン間に構造の差異が認められ、制限地図を確定することができなかった。これは、3.5 kb BamHI断片の近傍にも分子内組換えを起こしやすい部位が存在することを示している。このような部位が細胞融合後の分子間組換えに関与した可能性もあるので、さらに調査を行う予定である。

1Ca02

タバコの細胞質雄性不稔性に関与するミトコンドリアDNA断片の塩基配列とその転写

森岡真二、朝日孝宏、小鞠敏彦、神代　隆（日本たばこ・遺伝育種研）

細胞融合によってNicotiana debneyiの細胞質を導入した雄性不稔N.tabacumのミトコンドリア(mt)DNAについて解析を行ったところ、N.debneyi由来の3.4 kb BamHI mtDNA断片と細胞質雄性不稔性が深く関連していることが明らかになった。本研究では、この断片がどのような遺伝情報を持っているかについて調査した。

この3.4 kb BamHI断片をM13ベクターを用いてサブクローニングし、ダイデオキシ法により塩基配列を決定した。この断片の大きさは3413 bpであった。オープンリーディングフレームの検索を行ったところ、あまり長いものはなく、最長411 bpであった。この塩基配列をもとにデータベースとのホモロジー検索を行った。その結果、既知の塩基配列およびアミノ酸配列データの中にはこの断片と高い相同性を示すものは検出されなかった。

この3.4 kb BamHI断片の転写物を調査するためにノーザンハイブリダイゼーションを行った。N.debneyi、N.tabacumおよび上記の雄性不稔N.tabacumの培養細胞のミトコンドリアから抽出したRNAを用い、標識した3.4 kb BamHI断片をプローブとした。その結果、この断片は約1.4 kbのRNAとハイブリダイズし、この断片が転写されていることが確認された。この転写物はN.debneyiで特に強く発現し、雄性不稔N.tabacumにおいてもやや低いレベルで発現していた。N.tabacumでは、同サイズの非常に弱いバンドが認められた。サザン分析において、N.tabacumにはこの断片と強くハイブリダイズするmt.DNA断片は検出されていないので、このバンドの由来は不明である。なお、coxIIおよびatpA遺伝子をプローブとして同様の実験を行った場合には顕著な発現量の差は認められず、上記の転写量の差は3.4 kb BamHI断片に特異的と考えられる。

さらに3.4 kb BamHI断片のどの部分が転写されているのかを調査した。この断片を制限酵素で4断片に分解したものをプローブとして、上述のRNAを用いてノーザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、3.4 kb BamHI断片の一端521 bpのプローブのみが上記と同様な転写物を検出した。また、ラベルした一本鎖DNAをプローブとして用いて転写方向の決定を行ったところ、3.4 kb BamHI断片はこの転写物の5'側の一部を含むことが推測された。

サザン分析により、この領域の3'側には4.5 kbのHindIII断片が存在することが確認された。今後は、転写領域全体の塩基配列の決定を行うとともに、その転写様式について解析を進めていく予定である。また、この転写量と雄性不稔性との関係について知見を得るため、雄性不稔系統間の転写量の比較も行う予定である。

1Ca03　イネミトコンドリアＤＮＡの構造

杉野公基、岩橋素子、菅野明、平井篤志（名古屋大学農学部生化学制御）

高等植物のミトコンドリアＤＮＡは、動物や菌類のミトコンドリアＤＮＡに比べてはるかに大きく、また一つのミトコンドリア内にはさまざまなＤＮＡ分子種が存在していて、大小の線状、環状のＤＮＡが観察でき、非常に多様性に富んでいると報告されている。

そこで、イネのミトコンドリアＤＮＡの構造を調べるため、緑葉からミトコンドリアＤＮＡを抽出し、断片をλＤＮＡにクローニングした。他の植物のミトコンドリア遺伝子をプローブにしてイネミトコンドリアＤＮＡ断片を含むクローンを選抜し、”genome walking”により遺伝子地図および制限酵素地図を決定した。その結果、イネミトコンドリアＤＮＡは、４個の基本となる環状ＤＮＡからなりお互いに相補的な塩基配列を共有しそこで組み替えを起こすことにより複雑な分子種をつくり得る構造になっていた。またこのＤＮＡが複製しており、マスターコピーがあるとすると全長が５２８ｋｂであり、５種類の反復配列を含んでいた。

植物のミトコンドリアＤＮＡには、葉緑体ＤＮＡと相補的な配列が多く含まれているという報告がいくつかの植物でされていて、オルガネラ間でのＤＮＡの移動が起こっていると思われている。このことから、動物や菌類にはない葉緑体ＤＮＡがミトコンドリアに入り込んでミトコンドリアＤＮＡに組み込まれたために、高等植物のミトコンドリアＤＮＡが動物や菌類のミトコンドリアＤＮＡに比べて大きいということが予想される。
そこで揃ったクローンバンクを用いて、葉緑体ＤＮＡ断片とのハイブリダイゼーション実験を行い、ミトコンドリアＤＮＡ内の葉緑体ＤＮＡと相補的な領域を調べてみた。その結果、葉緑体ＤＮＡのほとんどのプローブがミトコンドリアＤＮＡの様々な領域にハイブリダイズし、イネのミトコンドリアＤＮＡには葉緑体ＤＮＡの断片が多く含まれていることがわかった。

1Ca04 タバコ培養細胞におけるプロプラスチドDNAの複製

武田穣、廣川秀夫[1]、長田敏行[2]（名古屋大・農・生化学制御、[1] 上智大・生命科学研、[2] 国立基礎生物学研究所）

タバコ培養細胞BY2を定常期の培養から、新鮮な培地に移すと、核DNAの複製が始まるのに先行してプロプラスチドDNAの複製がはじまることが、DAPIを用いた光学顕微鏡観察により示されている。（Yasuda et. al 1986）

演者らは、定常期の細胞より作成したプロトプラストを用いても同様の現象が起きることを、^{3}H－チミジン、^{32}P－リン酸を使用したin vivoラベル実験で確かめた。ここで用いた条件下で、プロプラスチドDNAへのとりこみは、新鮮培地への移植後、約20分後に始まった。（核DNAへのとりこみは、少なくとも12時間以上経ってから始まる。）ラベルされたDNAを使用し、一本鎖部分を含むDNAを吸着するBND－セルロースカラムで分析した結果、移植後60～70分まではとりこまれたラベルの90%以上が一本鎖部分を含むDNA分画に回収された。Klenow Fragment（PolI）を用いて、新生鎖延長反応を行なわせた結果からも、複製中間体がこの分画に濃縮されていることが示唆された。

次に、in vivoにおいて^{32}P－リン酸でラベルしたDNA,及びカラムを用いて複製中間体を濃縮した分画をKlenow Fragmentと^{32}P－dCTPでラベルしたDNAをそれぞれプローブとして、タバコ葉クロロプラストDNAに対してサザンハイブリダイゼーションを行なった。プローブの比活性が低く、バックグラウンドが高いが、Inverted Repeatを含むDNA断片にやや高いハイブリダイゼーションが観察された。

更に詳しいマッピングを行なうため、複製中間体の電子顕微鏡観察を行なった。現在まで約30のEye（D-loop）を含むDNA分子を測定した結果、Inverted Repeat部分（100～110Kb：Shinozaki et al. 1986に従う。）一ヶ所とLarge Single Copy Region（35～45Kb）一ヶ所にEyeを含むDNAが集まる傾向が観察された。複数の制限酵素を用いて、より詳細なマッピングの結果についても報告する予定である。

1Ca05 Zinc finger motif をもつエンドウ葉緑体遺伝子の発現

佐々木幸子、永野幸生、須天由貴子、松野隆一
（京大農・食品工学）

目的　葉緑体の分化は光により進行し、この時葉緑体ゲノムの遺伝子も光に応答して発現する。この光応答発現の仕組みは、ほとんど明らかにされていないし、これに関与する調節遺伝子もまだ同定されていない。本研究では葉緑体分化時に働き、遺伝子発現に関与する調節遺伝子を葉緑体ゲノムから探し、その発現を調べることを目的とした。

方法と結果　エンドウ葉緑体ゲノムの遺伝子は、光に応答し、分化時に大量に発現するので、エンドウを実験材料に選んだ。暗所7日生育エンドウ実生に1日白色光を照射し、全ＲＮＡを抽出した。タバコ葉緑体ゲノムより20数種のＤＮＡ断片を調製し、これをプローブにして、ノーザンハイブリダィゼーションで全ＲＮＡ中の各転写物を検出した。de novo蛋白質合成なしでも光誘導されるＤＮＡを探すため、クロラムフェニコール投与下でも光照射した。光の有無と、阻害剤有無の計４区の全ＲＮＡを抽出し、４区の転写物の変動を各遺伝子について比較した。

その結果、大部分の遺伝子は光により転写物が増加し、阻害剤投与下では増加しなかった。この結果は光による転写促進には葉緑体内のde novo 蛋白質合成が必要なことを示している。光により葉緑体内に新たに蛋白質が合成されてから、転写促進が起ることを示唆している。しかし阻害剤投与下でも光照射により転写物が増加する遺伝子が２つ見つかった。pet A とrpl 2 である。エンドウのpet A オペロンの配列を決定し、調節遺伝子候補を探した。エンドウのpet A オペロンには３種類の未知遺伝子があり、その中の１つにzinc finger motif ($CX_2CX_{13}CX_2C$)構造があった。一般にこのモチーフ構造をもつ蛋白質はＤＮＡに結合し、転写制御因子として機能しているものが多いので、本遺伝子をzfp A と命名し、調節遺伝子の候補とした。

zfp A の転写物はrbc L などのように大量には増加しなかったが、rbc L よりも早期に増加し、予測通り阻害剤存在下でも増加した。zfp A をE.coliで発現させ、蛋白質を精製し、ポリクロナル抗体を得て、本抗体と反応する蛋白質が葉緑体抽出液にあることを確認した。今後はこの蛋白質の機能を調べる予定である。

1Ca06　シダ葉緑体ＤＮＡの構造解析

°山田恭司、高柳頼人、菅井道三（富山大・理・生物）

シダ類は下等な維管束植物として高等植物とコケ類の中間に位置づけられているが、その葉緑体ＤＮＡの変異については、まだほとんど研究されていない。これまでに、ヤマドリゼンマイ属の３種（Palmer & Stein 1986)とホウライシダ（長谷部、岩槻　1989　日本植物学会大会）においてのみ、ゲノム構造と遺伝子配列が報告されているにすぎない。われわれはシダ葉緑体ＤＮＡの詳細な研究を進めるために、カニクサ、モエジマシダ、ワラビの３種を材料として解析を行なっている（1989　日本植物学会大会）。ここでは、ワラビ（イノモトソウ科）の葉緑体ＤＮＡの解析結果を中心に報告する。

野外より採集した胞子体の葉組織あるいは試験管内で培養した前葉体の組織を出発材料として、低速のショ糖密度勾配遠心法で葉緑体を分画し、ＣＴＡＢ（Cetyltrimethyl-ammonium bromide）／クロロホルム法（Milligan 1989）によってＤＮＡを抽出した。ＣＴＡＢの適用により、超遠心機を使用せずに、制限酵素での切断・分析にたえうるシダ葉緑体ＤＮＡ標品を得ることができた。

ワラビ葉緑体ＤＮＡを Kpn I, Pst I, Sal Iで　完全に消化すると、それぞれ１２、１３、１４本の断片にわかれたが、それらの断片長の合計は、いずれの場合も、１４５－１５０ kbpであった。それぞれ重複して存在する断片の大きさから、Inverted repeat（ＩＲ）は一組で約２５kbp と推定した。これらの値は、ヤマドリゼンマイでの値よりホウライシダでの値に近い。制限酵素切断パターンをモエジマシダ（イノモトソウ科）、カニクサ（フサシダ科）のパターンと比較したところ、葉緑体ゲノムＤＮＡは互いに大きく変異していることが示された。

タバコ葉緑体のクローン化ＤＮＡとのハイブリダイゼーションを行ない、ＲｕＢｉｓＣＯのＬＳ遺伝子、光化学系IIの３２ｋＤペプチド遺伝子、１６ＳおよびＲＮＡ　２３Ｓ遺伝子などがどの制限酵素断片上にあるか決定した。また、タバコ葉緑体ＤＮＡのＩＲ内にあるＯＲＦの５８１と１７０８はゼニゴケでは欠失しているので、両ＯＲＦに相同な部分の存在も調べた。

1Ca07　イネＬＨＣＰ遺伝子の構造

松岡　信、坂本正弘[1]（農水省・生物研、[1]三井東圧化学）

集光性クロロフィルａ／ｂ結合タンパク質（ＬＨＣＰⅡ）は高等植物葉緑体のチラコイド膜に普遍的に存在するタンパク質で、光化学系Ⅱの集光性クロロフィルを結合している。前年度の本大会において、われわれはイネ緑葉より２つのタイプのＬＨＣＰⅡｃＤＮＡを単離し、それぞれについてイネ緑化葉中での転写産物量の変化を観察しその結果を報告した。今回はこの２つのタイプのうちで、より強い転写活性を持つと考えられたタイプの核遺伝子を単離し、その構造の決定をおこなったのでその結果を報告する。

イネ黄化葉より核ＤＮＡを単離しＭｂｏＩにより部分分解後、ＥＭＢＬ３ベクターに結合しイネゲノムライブラリーを作成した。前回単離したｃＤＮＡのうち転写量の多いｃＤＮＡの5’側約２５０ｂｐをこのタイプに対する特異的なプローブとして用いてゲノムライブラリーからスクリーニングをおこなったところ、４個のポジティブクローンが得られた。このクローンについて制限酵素地図を作成したところ、これらは同じＬＨＣＰⅡ遺伝子を含むことがわかったので、そのうちの１つについてその全構造を決定した。その結果、今回解析した遺伝子は転写活性の高いタイプに分類されたｃＤＮＡの構造と同一の配列を有し、翻訳・非翻訳領域ともにイントロンを含んでいなかった。

プライマーイクステンション法により転写開始点を決定したところ、開始点はＡＴＧより上流５８ｂｐに存在した。転写開始点より上流２９ｂｐにはＴＡＴＡｂｏｘが、９１ｂｐにはＣＡＴｂｏｘと思われる配列が存在した。またＴＡＴＡｂｏｘとＣＡＴｂｏｘの中間に、最近GrobとStüberによって報告されたフィトクロムによって制御される光感受性ボックスが存在した。

次に、今回単離した遺伝子が実際に転写活性を持つかどうかを検討するために、本遺伝子の5’上流域をＧＵＳ遺伝子に結合しタバコへ形質転換をおこなった。その結果、本遺伝子はタバコ葉肉細胞でも発現することが明らかとなった。

1Ca08

トウモロコシ PEP カルボキシラーゼ遺伝子の窒素による発現制御

鈴木　石根（いわね）、松岡　信[1]、杉山　達夫（名古屋大・農・農化、[1]農業生物資源研）

トウモロコシ葉においてホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ（PEPC）の蓄積は NO_3^- 濃度に応答して増減し、その変動は葉の成熟中の部位で最も顕著である。本実験では、この調節が転写レベルでなされるのかあるいは翻訳レベルなされるのかを明らかにすることを目的とした。

トウモロコシを温度と光制御のもと、低窒素培養液（0.8 mM NO_3^-）で約２週間生育させ窒素欠乏植物を得た。また、この植物に高窒素培養液（16 mM NO_3^-）をあたえ欠乏回復過程の植物を得た。分析には、成熟中の部位として展開した葉（第３葉）の基部を用いた。

PEPC タンパク質の蓄積は、窒素補填後約 12 時間のラグののちほぼ直線的に増加し、72 時間後にはおよそ２倍に達した。それに対し、RuBisCO-LSu では、窒素補填にかかわらず蓄積の増加はほとんど見られなかった。ピルビン酸・リン酸ジキナーゼでは、程度は少ないが、PEPC と同様な変化を示した。また、PEPC mRNA の蓄積は、窒素に依存して起り、補填後直ちに増加しはじめ、6 時間後にはほぼ２倍に達し、その後も 48 時間まで徐々に増加し続けた。PEPC における、窒素に依存したタンパク質と mRNA の蓄積は平行して変動しており、このことはタンパク質の蓄積が一義的には mRNA の蓄積によって調節されることを示唆している。そこで mRNA の増加は、分解の低下によるものか、転写の促進によるものかを確かめるために、単離核による run-on 実験を行った。PEPC 遺伝子の転写活性は窒素補填後劇的に増加し、12 時間で最大値に達したのち徐々に低下し、48 時間後には窒素欠乏植物の値に近づいた。転写活性が低下した後も mRNA 蓄積量は増加し続けていたのでmRNA は比較的安定であると考えられ、 PEPC mRNA 発現量の増加は窒素をシグナルとしての転写の活性化または mRNA の安定性によって調節されていることを示唆している。

現在PEPC 遺伝子の窒素による転写活性化機構についてさらに詳しく解析するため、その上流領域を用いてゲルシフトアッセイを試みている。

1Ca09

C_4光合成遺伝子のC_3植物内での発現
1、PEPカルボキシラーゼについて

松岡信、●真田康治、村上高、大橋祐子（農水省・生物研）

ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ（PEPC）は大気中のCO_2をホスホエノールピルビン酸と結合しオキザロ酢酸として固定する反応を触媒する酵素であり、C_4植物やCAM植物の光合成において重要な役割をになっている。本酵素のC_4植物における発現は明下条件の葉肉細胞においてのみ特異的に観察され、この発現は転写レベルで制御されていることが知られている。我々は前年度の本大会においてトウモロコシPEPC遺伝子の全構造を報告するとともに本遺伝子上流域に転写調節に関与すると思われるいくつかの配列が存在することを示した。そこで今回はこのPEPC遺伝子の５′上流域とレポーター遺伝子GUSを結合しC_3植物であるタバコに導入し導入植物内でのGUS活性発現の有無及びその組織特異性を調べた。

まず、バイナリープラスミドpBI101のGUS遺伝子の上流部にトウモロコシのPEPC遺伝子の５′上流域約1.2Kbを融合させ、その融合遺伝子（PEPC-GUS）をAgrobacteriumに導入した。このAgrobacteriumをタバコ葉片に感染させ、この葉片をカナマイシンを含むMS茎葉分化培地に置床後、完全な植物体まで育成した。この形質転換タバコの葉より抽出した核DNAをEcoRIとHindⅢで切断し、GUS遺伝子をプローブとしたサザンハイブイダイゼーションを行った結果、期待される約3.3Kbの断片が検出された。これらの形質転換タバコにおいて各器官のGUS活性を測定した結果、緑葉、茎、花弁、根においてGUS活性が検出された。特に緑葉では他の器官と比較して強いGUS活性が検出され、対照として用いた35S-GUSよりも強いGUS活性が検出された。また、タバコ葉肉プロトプラストにエレクトロポレーションによりPEPC-GUS遺伝子を導入しトランジェントアッセイを試みた結果、35S-GUSの1／2程度のGUS活性が検出された。PEPC-GUS転換タバコにおいてＸ－グルクロニドを基質としてGUS活性を組織化学的に検出すると、緑葉中の葉肉細胞において特に強く深青色のGUS反応生成物が検出された。その他根では根端で、茎では維管束周辺でGUS反応物が検出された。

本研究により、C_4植物のPEPC遺伝子がC_3植物であるタバコで発現することが示されたので、他の光合成酵素であるピルビン酸PiジキナーゼやRuBisCO小サブユニットの遺伝子についてもタバコに導入しその発現様式の解析を進めている。

1Ca10

トウモロコシＰＥＰカルボキシラーゼ遺伝子の
５’上流域に結合するタンパク質

村上（嘉納）ゆり子、松岡信[1]、鈴木石根[2]、杉山達夫[2]
（農水省・果樹試、[1]農水省・生物研、[2]名大・農）

我々はC_4光合成の重要な酵素であるトウモロコシPEPカルボキシラーゼのゲノムクローンを単離したことをすでに前年度本大会で報告した。このクローンについて、PEPカルボキシラーゼ遺伝子の発現機構を解析する目的で、５′上流シークエンスに結合する核蛋白質をゲルシフトアッセイによって検討した。その結果、PEPカルボキシラーゼ５′上流に特異的に結合する蛋白質の存在が明らかになったので今回報告する。

トウモロコシは播種後約２週間の緑葉を用い、ホモジナイザーで粉砕しプロテアーゼインビビターを含む核抽出バッファーで抽出を行った。この抽出液をミラクロスで濾過し、遠心分離した上清をトウモロコシ核抽出液として以後の実験に用いた。一方。プローブはPEPカルボキシラーゼ遺伝子の５′上流-570～-273 、-272～＋7のそれぞれ約300bpの物を用い、KlenowによるFill in labelをしたものを用いた。ゲルシフトアッセイは、20℃で核とプローブをpoly(dIdC)-poly(dIdC)存在下で15分インキュベートしたのち５％ポリアクリルアミドゲル電気泳動で結合したプローブと非結合型プローブとを分離することにより行った。その結果核抽出液中にこれらのプローブと結合するタンパク質が複数認められ、いずれもM13RF-DNAでは結合が阻害されず特異的な結合であることがわかった。この蛋白因子の組織特異性及び明暗変化をみるために根、緑葉、黄化葉から同様に核抽出液を調整し、ゲルシフトアッセイを行ったところ緑葉以外では、これらの蛋白の結合は認められずこの因子には組織特異及び明暗依存性があることが明らかになった。我々はさらにこの蛋白因子の結合する領域を限定するためにPEPカルボキシラーゼ遺伝子の５′上流をHinfI、Sau3Aなどの制限酵素で切断し、それぞれの断片をプローブにしてゲルシフトアッセイを行った。これらのDNA断片には特徴的な21bpの塩基配列の繰り返し構造が数カ所みられ、それらの存在するDNA断片は結合能力を持ち、類似のしかし違う配列を含むDNA断片での結合能力は極めて低い事がわかった。これらの結果から、問題の21bpの繰り返し配列がこれらの蛋白因子の結合に重要であると考えてメチレーションインターフェアレンスを行ったところ、この配列のほぼ中央に位置する２つのシトシン残基が結合型では保護されていた。現在、さらに蛋白因子が結合する領域を明らかにするためにフットプリンティングによるアッセイを行っている。今後は、これらの蛋白因子の生理的機能を明らかにする目的でそれらの遺伝子をクローニングする事を検討して行きたい。

1Ca11 トウモロコシPPDK遺伝子の５′上流域に結合するタンパク質

松岡信、[1]村上（嘉納）ゆり子、（農水省・生物研、[1]果樹試）

ピルビン酸Piジキナーゼ（PPDK）は、C_4光合成系において大気中のCO_2を結合するホスホエノールピルビン酸の合成を触媒する酵素であり、C_4光合成回路の律速酵素の一つと考えられている。本酵素のC_4植物における発現は明下条件の葉肉細胞にのみ特異的に観察され、その他の細胞ではほとんど観察されない。本酵素のこのような光誘導的、組織特異的発現は転写レベルで制御されていることが知られており、高等植物の組織特異的発現を研究する上で格好な対象と考えられる。我々はこれまでにC_4植物であるトウモロコシよりPPDK遺伝子を単離しその構造解析を行ってきた。この結果より本遺伝子は18個のイントロンと19個のエキソンを含む全長約12Kbの複雑な構造をしており、その５′上流域には転写調節に関与すると思われるいくつかの配列が存在することが解った。そこで今回は、この５′上流域と転写活性との関連を検討する目的でトウモロコシ核より抽出したタンパク質と５′上流域の結合能について検討した。

まずPPDK遺伝子の５′上流域をゲルシフトアッセイに便利なように約300bpの断片に分け、核タンパク質との結合能力の有無を調べた。その結果、SV40のエンハンサーコア類似配列を有するダイレクトリピートを含んだ断片をプローブとしてゲルシフトアッセイを行うと、複数の強いシフトが観察された。また特徴的な配列を含まない断片においてもシフトしたバンドは観察されたが、その強度は強くなくバンドもブロードであった。これらのシフトしたバンドは、PPDK遺伝子の発現がない黄化葉や根の核より抽出したタンパク質では観察されないことから、本遺伝子の転写調節に関与しているものと考えられた。そこでダイレクトリピートを含む断片について、タンパク質結合部位の同定を試みた結果、この約300bpの断片に少なくとも３カ所のタンパク質の結合部位が存在し、その内もっとも強くシフトを起こす結合部位は、エンハンサーコア類似配列に重なるか、もしくは極めて近接していることが解った。

以上の結果より、トウモロコシPPDK遺伝子の転写調節においてSV40エンハンサーコア類似配列が関与している可能性が考えられた。

1Ca12

エンドウマメrbcS-3A遺伝子5'上流に結合するタンパク質(3AF-1)

村上(嘉納)ゆり子、 E.Lam[1]、 N.-H.Chua[1]
(農水省・果樹試 [1]ロックフェラー大学)

C_3光合成回路の重要な酵素であるRuBisCOの小サブユニットの遺伝子rbcS-3Aは、最も良く解析された遺伝子の一つである。rbcS-3Aの5'上流域には、発現調節に関与するシークエンスとしてGT-boxが知られているが、GT-boxの下流にもタンパク質の結合領域があり、遺伝子発現のエンハンサーとして働いている事がわかった。今回は、このタンパク質のクローニングとそのクローンの解析結果について報告する。

rbcS-3A遺伝子5'上流シークエンスと緑葉からのタバコ核抽出液を用いたフットプリンティングアッセイによって、新たにGT-boxより下流のATに富んだシークエンスが保護されることが明らかになった。この領域２１bpを４つタンデムにつないだ合成ＤＮＡ及び、３bpずつ置換した合成ミュータントシークエンスでゲルシフトアッセイによりＤＮＡ結合を解析すると、もとのシークエンスでは結合が認められたが、ミュータントのシークエンスでは結合が著しく低かった。また、この結合は、無関係なＤＮＡシークエンスでは阻害されず、このシークエンス特異的な結合である。一方、根、黄化葉からの核抽出液で同様の実験を行ったところいずれでも、特異的な結合が認められた。また、このシークエンスをカリフラワーモザイクウイルスの35Sプロモーター及びGUS遺伝子につなぎ形質転換タバコを作りGUS遺伝子の発現を検討すると、このシークエンスが発現を増大させる事が明らかになった。これらの事からこのタンパク質は、明暗条件に関係なく存在し、組織特異性も低く非特異的なエンハンサーである事が考えられる。そこで、このタンパク質の解析を進める目的で、クローニングを行った。クローニングは、８４bpの合成シークエンスをプローブにして、タバコcDNAライブラリーからDNA結合を指標にしてスクリーニングを行った。その結果、ＤＮＡ結合活性を有する700bpのインサートを含むクローンが一つ単離され、シークエンシングを行ったところ、他のＤＮＡ結合タンパク質に見られるような特徴的な構造は認められなかったが、不完全なZinc-Finger様の構造は見られた。また、全体が、高度に類似したアミノ酸配列からなる２つのドメインに分けられる、非常に特徴的な構造を取る事が明らかになった。

1Da01 植物体内に存在する水溶性の花成誘導物質について

田中修、竹葉剛[1]、目良具子、松本浩一（甲南大　理　生物、[1]京府大　生科）

昨年の本大会において、アオウキクサ6746系統を含む多くのアオウキクサ類の水抽出物が、アオウキクサ151系統の花芽分化を顕著に誘導し、151系統以外のいくつかのウキクサ類の花芽分化をも促進することが、Takimoto らによって報告された。また、この抽出物中の花芽分化誘導物質は、花芽分化誘導処理を受けているか否かにかかわらず、ウキクサ体内に多量に存在していることが示唆された。さらに、Kaihara らにより、この花成誘導物質はウキクサ類のみならず、多くの植物種の葉に普遍的に存在している可能性が示された。

演者らは、アオウキクサ6746系統の水抽出物をアオウキクサ151系統でbio-assayする系を用いて、ウキクサの水抽出中に含まれる花芽分化誘導物質の本体を調べてきた。その結果、水抽出物から分離した、chlorophyll を含むエーテル分画中に花芽分化誘導効果のある物質が存在することがわかった。そこで、chlorophyll に花芽分化誘導活性がないかを確認するため、ホウレンソウから抽出単離した chlorophyll a, b の花成誘導効果を調べると、chlorophyll a, b ともにアオウキクサ151系統の花成を誘導することが明らかになった。

chlorophyll a, b がポルフィリン化合物であるため、ポルフィリンを含むタンパク質である、catalase, cytochrome c, peroxidase, hemoglobin の花芽分化誘導活性を調べた。その結果、cytochrome c と peroxidase の花成誘導効果は確認できなかったが、catalase と hemoglobin は強い花成誘導活性を示した。

一方、ウキクサの水抽出物から chlorophyll を含む分画を分離した後に残る抽出物中にも、まだ強い花成誘導活性があることが認められた。この抽出物中には、植物に含まれる水溶性タンパク質である catalase が存在している可能性がある。そこで、水抽出物中のcatalase 活性を測定し、抽出物の花成誘導効果との関係を比較すると、両者の間には、非常に密接な関係があることが示唆された。

以上の結果、ウキクサの水抽出物中に含まれるアオウキクサ151系統の花成を誘導する物質の少なくとも一部は、chlorophyll a, b と catalase であろうと考えられる。

1Da02 高分子性花成誘導物質による花成誘導機構

竹葉　剛[1]、田中　修[2]（[1] 京府大・生科、[2] 甲南大・理）

（１）アオウキクサ（Lemna paucicostata 151）を検定植物として用いて、アサガオおよびアオウキクサのリン酸 buffer 抽出液をゲルろ過し、それぞれの分画ごとの花成誘導活性を調べると、分子量約　100K, 20～30K,および 5～10K 付近に顕著な活性が存在した。

（２）この高分子性花成誘導物質の化学的正体を知るために行なった予備的観察によると 5 ～10K 成分は、酸・アルカリに対して比較的安定であり、熱処理（100 ℃、15min）では失活しないこと、10%TCA で沈殿すること、20～30K 成分は proteinase K 処理により、活性・紫外吸収とも 5～10K 成分へと低分子化（ゲルろ過で見る限り）すること、100K 成分は熱処理（100 ℃、15min）により変性し沈殿すること、等が明らかになった。これらの性質は、通常、タンパク質（ポリペプチド）に見られる性質である。

（３）高分子性花成誘導物質の化学的正体を知るために、アオウキクサ抽出物を硫安分別し、さらにゲルろ過（BioGel A1.5m）・イオン交換クロマト(Pharmacia MonoQ)・逆相クロマト(Pharmacia ProRPC)　等を組み合わせ、活性と一致する single peak　を得た。この画分を Native PAGE　で分離すると、銀染色で一本のバンドが 120K 付近に検出された。同画分を SDS-PAGE で分離すると、60K 付近に２本のバンドが検出され、活性はその部分から回収された。この SDS-PAGE からの回収画分を endopeptidase　で処理し、逆相クロマト(Pharmacia PepRPC)　で分離すると、約 10 本のピークが検出された。活性と一致するピークのアミノ酸配列を部分的に決定したが、その配列は既知タンパク質のいずれの部分ともホモロジーを示さなかった。現在、どのような構造が花成誘導活性をもつのか検討中である。

（４）この高分子性花成誘導物質は、アサガオ・アオウキクサが花芽を形成しない長日条件下で検出されるが、自然条件下で花芽を形成する短日条件やＮ欠条件下におくと、すみやかに減少していくことが明らかになった。そこで、アサガオ・アオウキクサの葉抽出液をいろいろの時間インキュベート（37℃）した後熱処理し、遠心後の上清中に現れる花成誘導活性（断片化したもの？）を測定することにより、高分子成分の分解活性を調べると短日処理によりその分解活性が著しく高くなっていることが判明した。

1Da03 Lemna から抽出される水溶性花成誘導物質の諸性質

瀧本　敦、　貝原純子　（京大、農、応用植物）

すでに報告したとおり、数多くの植物、とくにアオウキクサ及びアサガオ、からの水抽出物をそのまま培養液に加えると、非常に低濃度でアオウキクサ（Lemna paucicostata）151 の花芽形成が誘導される。有効物質の単離同定は非常に困難でまだ成功していないが、今回はこの有効物質の諸性質について報告する。抽出材料はすべて L. paucicostata 441（短日植物）で、検定には上記培養液に培養した L. paucicostata 151 を用いた。

水抽出物の遠沈上清は強い活性を示し、120°C で 10 分間の熱処理（オートクレーブ）を行っても活性を失わない。しかしながら、植物体を熱処理（70°C, 5 分間以上）した後に得られる抽出物にはほとんど活性が認められない。このことは大部分の活性物質が抽出後につくられるものであることを示唆する。

植物体を液体窒素で粉砕した後、0 - 5°C の水ですりつぶし、直ちに熱処理（90 C, 20 分）を行うと、弱い活性しか認められないが、すりつぶした植物体を種々の時間 0 - 5°C または 25°C に置いた後に熱処理を行うと、熱処理の時間が遅れるにつれて高い活性が認められる。おそらく植物体をすりつぶした後に活性物質がつくられるのであろう。この際、初期における活性物質の生成はきわめて急速であり、たとえ 0 - 5°C に置いて 10 分後に熱処理を行っても高い活性が認めれる。水抽出物を遠心分離（6000 x g, 20 分）して得られる上清だけを放置しても活性はほとんど上昇しないので、沈澱物から活性物質がつくられる（あるいは遊離する）ものと考えられ、事実、沈澱物だけを水に懸濁してインキュベートしても、ある程度の活性物質が得られる。

上述のように大部分の活性物質は抽出後につくられるものであり、低温抽出を行っても、短時間内に多量の活性物質がつくられるため、低温抽出物の活性が生体内での活性物質の量を反映するものとは思えない。一方、熱処理した植物の水抽出物にもごくわずかの活性が認められるので、これが植物体内に存在する活性物質の量を示すものではないかと考え、熱処理後の抽出液に認められる活性と日長との関係を調べたが、有意な相関は認められなかった。ただし、日長によって、活性物質のコンパートメントが変わり、それによって花成が誘導される可能性は残されている。

1Da04 市販セルラーゼ処理による Lemna の花成誘導物質の生成

貝原　純子、　瀧本　敦　（京大、農、応用植物）

アオウキクサ 441 の水抽出物を遠心分離して得られる沈澱物を水に懸濁させてこれに市販のセルラーゼを加えて（0.5%）25°C で 12 時間、または 45°C で 2 時間程度インキュベートすると、高い花成誘導活性の得られることが判明したので、今回はセルラーゼの作用についてこれまでに得られた知見を報告する。花成誘導活性の検定法は前報のとおりである。

まず、酵素の働きで活性物質がつくられることを確認したいと考え、熱処理（120°C, 10 分）を行ったセルラーゼを沈澱物に作用させてみたところ、熱処理を行わないものと同じような活性を示したので、セルラーゼそのものが働いているのではなく、市販セルラーゼに含まれる混入物が働いて活性物質をつくるものと考えられる。ただし、熱処理した植物から得られる抽出物の遠沈による沈澱、または熱処理した沈澱にセルラーゼ処理を行っても活性物質は得られない。遠沈後の沈澱を十分に水洗したり、冷アセトン（-20°C）で処理するとセルラーゼを作用させてもあまり活性物質が得られなくなる。しかし、アセトン可溶物をアセトン処理後の沈澱物に加えてセルラーゼを作用させると高い活性が現われるので、アセトン可溶物の中には活性物質の生成に必要な因子が含まれているものと考えられる。上記アセトン可溶物とセルラーゼ（熱処理を行っても可）を混ぜて与えるだけでもかなりの活性物質が得られる。

生きた植物体に市販セルラーゼ溶液を浸透させ、そのまま 12 時間 25 C に放置した後、遠心分離して得られる外液も非常に高い活性を示す。そしてこの場合には熱処理を行ったセルラーゼはあまり有効でない。なお、これらの処理を行った後の植物体を光学顕微鏡で観察したところ、細胞壁は全く崩壊しておらず、葉緑体その他細胞内容物もそのままの形を保っていた。市販のセルラーゼ処理によって細胞を破壊することなしに高い活性をもつ物質が得られる点は注目に値する。

なお、これまで水抽出物中に一度も花成誘導活性を認めることのできなかったムシトリナデシコからも、市販セルラーゼを細胞間隙に浸透させる方法で活性物質を得ることができた。

1Da05　アサガオ子葉師管液の茎頂培養における花成誘導効果

●石岡奈穂子，谷本靜史，原田　宏[1]
（佐賀大・農・生物工学，　[1]筑波大・生物科学系）

短日植物であるアサガオ（Pharbitis nil）の実生に一定時間以上の暗期を与えることにより，子葉で未同定の物質が合成され，この物質は師管を通って茎頂に運ばれて花成を誘導することが知られている．この物質はフロリゲンと命名されているにもかかわらず未だにその実態が不明である．そこで演者らは花成誘導条件下で育成したアサガオの子葉から師管液を抽出し，茎頂培養を検定法として師管液の花成誘導効果を調べた．

長日条件下で７日間育成したアサガオ・ムラサキの実生に１回の短日処理を行い，暗期終了後に子葉を切除した．この子葉の葉柄基部を２０mMＥＤＴＡ溶液に１時間浸漬し，水洗後，蒸留水（１㎖／子葉）に６時間浸漬した．この浸漬液を師管液として用いた．師管液の花成誘導効果はアサガオの茎頂培養により検定した．花成非誘導条件下で無菌的に育成した実生，あるいは育成中に１回１２時間あるいは１６時間の暗期を与えた実生などから茎頂を摘出し，培養して得られた小植物体の頂芽における花芽形成率，頂花までに形成された葉数などを調べた．培養は，ＭＳ基本培地にショ糖５％，ゲルライト０．２５％を添加した固形培地を用い，温度２５±２℃，長日条件下で行った．

師管液の添加によって，花成非誘導条件下で育成した実生の茎頂において花芽を誘導することができ，また１２時間あるいは１６時間暗期を１回与えた実生の茎頂においても花芽形成は促進された．

さらに，短日処理を行わなかった実生から採取した師管液の効果について調べた．すなわち，連続照明下で実生を育成し，その子葉から上述の方法で師管液を採取した．検定には１回１６時間暗期を与えた実生の茎頂を用いた．その結果，この師管液には花芽形成抑制効果があることが判明した．

以上の結果から，花芽形成促進あるいは抑制物質が光周処理により子葉で合成され，師管を経由して移動することが明らかとなった．今後これらの物質を同定し，さらに詳細に花成誘導機構を解明していく予定である．

1Da06 アサガオ子葉mRNAの短日処理期間中の変化

○小野道之、山田幸一郎、提公代、岡崎光雄、原田宏[1]
（信州大・繊維・応生、[1] 筑波大・生物）

（目的）アサガオ（紫）芽生えは1回の短日処理により花芽を誘導できる。明暗の感受と”花成ホルモン”の合成は子葉で行われると考えられることから、花芽誘導に密接に関係する子葉のmRNAの検出とその光周期処理期間中における発現時刻の特定化を目的として、子葉のmRNAの解析を光周期処理開始（暗期開始）から24時間にわたり経時的に行った。

（方法）連続光下で育てた播種後6日目の芽生え(Pharbitis nil Chois., st. Violet)を短日処理（SD short-day；16時間暗期－8時間明期)、光中断処理(NB night-break；16時間暗期の8時間目に10分間の光照射－8時間明期)または長日処理(LD long-day；24時間明期)し、2時間間隔で子葉のサンプリングを行った。全RNAはグアニジウムチオシアネート／CsCl密度勾配超遠心分離法を用いて抽出・精製し、mRNA画分はウサギ網状赤血球ライセート試験管内翻訳系を用いて^{35}Sメチオニン標識のポリペプチドとして、2次元電気泳動法で分離の後フルオログラフィーを用いて検出した。

（結果）約300の検出されたmRNA種の内、215種が実験期間を通して全ての光周期処理に共通に安定して存在した。一方、比較的多数のスポットが増減したが、そのうち再現性のある変化を示したスポットは10種類であった。これらは変化のパターンにより7種類に分類できた。これらの多くは長日処理に対して短日処理と光中断処理に共通の変化を示したが、光中断処理で特異的に増加および減少するスポット（各1種）が検出された。この2種のmRNAは、短日処理と同等の花芽誘導が行われかつ光中断と同様の光の効果（暗期中の光照射）を調べることができる処理(SN short-day, night-break；短日処理の達成された暗期の16時間目に10分間の光照射－8時間暗期）では変化しなかった。この結果よりこの2種のmRNAは単に暗期中の光照射に反応するのではなく、花芽誘導の阻害等に関係したものと考えられた。この2種のmRNAが光周期処理後半に変化を示すことは、この時期に花芽誘導に関係した遺伝子発現が活発であることを示すものと推測される。一方、花芽を誘導する短日処理に特異的かつ再現性のある変化を示すmRNAは本実験範囲内では検出されなかった。

1Da07　アサガオ芽生えの頂芽除去と花芽誘導

○小野道之、提公代、山田幸一郎、岡崎光雄
（信州大・繊維・応生）

（目的）アサガオ（紫）芽生えは１回の短日処理により花芽誘導できる。子葉は日長条件を感受して花芽分化を引き起こす物質”花成ホルモン”を合成し、それが頂芽に移動して花芽を分化させると考えられている。本実験はアサガオ芽生えの頂芽を除去することにより”花成ホルモン”の生産と移動等に関する生理的観察を目的として行った。

（方法）播種後７日目のアサガオ芽生え（Pharbitis nil Chois., st. Violet）の頂芽を除去すると子葉柄の基部にある側芽が成長を開始する。一方アサガオ芽生えは１６時間の暗期を１回与えることにより花芽誘導できる。１６時間暗期の前後いろいろな時間で頂芽を除去し、側芽に対する花芽誘導を観察した（１６時間暗期の前後は連続光下）。側芽の花芽誘導は約３週間後、伸長した側芽に形成された花芽の数を調べることにより観察した。

（結果及び考察）図に示すように、形成された花芽の数は暗期の開始２０時間前を頂点として暗期の開始まで減少し、暗期終了後の頂芽除去では花芽は形成されなかった。また暗期開始から２０時間前までは側芽の第１節から花芽が形成されたが、２０時間より前では葉芽も形成された。これらの観察結果より演者らは２つの仮説を得た。１）”花成ホルモン”の子葉における生成と子葉からの移動は、暗期終了後比較的短時間のうちに終了する。２）”花成ホルモン”に対して側芽が反応するためには、頂芽除去後ある程度の期間が必要である。この実験系には頂芽優勢（頂芽による側芽の成長抑制）および切断傷害（頂芽の除去）の影響が考えられ、これらとの関係を植物ホルモンの添加等による実験も合わせ検討した。

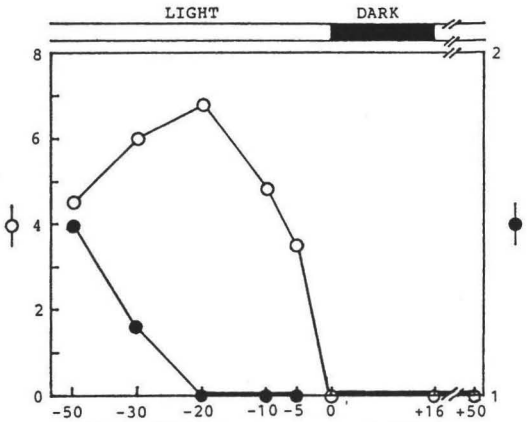
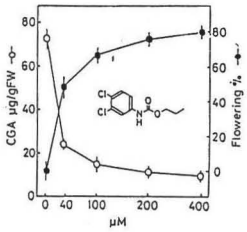


FIG.
EFFECT OF APICAL BUD REMOVAL ON FLOWER BUD FORMATION
○; NUMBER OF FLOWER BUDS PER PLANT
●; AVERAGE SITE OF FIRST NODE FORMED TO FLOWER BUD

1Da08

カーバメート誘導体によるアスパラガス実生の花成誘導とクロロゲン酸合成阻害

篠崎浜輝、吉田和市、矢野坂恵子[1]、岩村敏[1]（京大・農・応植[1]京大・農・農化）



アスパラガスは通常開花するまで2～3年を必要とする。近年,阿部らは光合成阻害除草剤のアトラジン,DCMUやトリアジン型抗サイトカイニン類縁体で,また矢野坂らはカーバメイト誘導体によるアスパラガス*seedling*の花成誘導を報告している。しかし花成誘導のメカニズムは明らかでない。本研究はこれらの化合物による花成のメカニズムを明らかにする目的で,カーバメート誘導体の代謝（特に二次代謝）に対する影響をHPLCを用いて調べた。その結果クロロゲン酸（CGA）含量の減少と花芽形成が密接に関連していることが判明したので報告する。　材料と方法: 実験材料として*Asparagus officinalis* L. cv. Mary Washington 500Wを用いた。化合物は花芽誘導能のある*n*-propyl *N*-(3,4-dichlorophenyl)carbamate（化合物I）と誘導能のない cyclohexylmethiyl *N*-(3,4-dichlorophenyl) carbamate（化合物II）を用いた。シャーレ（90×15mm）に3枚のろ紙を敷き,20mlの試験液を入れ,種子を50個ずつ植えた。25℃,12時間明期でそれぞれの日数育て,一部は水洗後バーミキュライトに移植し,播種後25日目に花芽を調べ,他は分析用の試料とした。生物試料（約50mg）と1mlの2%酢酸で10分間加熱抽出しHPLCで分析した。カラムはM&S C$_{18}$（15cm×4.6mm）を用い,溶離液はメタノール:ブタノール:酢酸:水=5:1:2:93で,280nmで測定した。CGA同定は他にTSK80 TMを用い,数種類の溶離液による*co-chromatograph*と吸収スペクトルで確認した。PAL活性は常法に従い粗酵素液と調整し*t*-cinnamic acidをHPLCで定量した。　結果:　①化合物Iを2日間与えた場合400μMの濃度で約80%の植物が花芽を形成したが,化合物IIでは全く形成しなかった。②化合物を与えた植物の2%酢酸抽出物をHPLC分析したところ,特異的に阻害されるピークがあり,同定の結果CGAであることが判明した。③図に示したようにCGA含量の減少と花成率の間には密接な関係がある。また化合物IIではCGA含量も減少しない。④CGA含量は分化期の葉に多く（1mg/g f.w.）根は少ない（20μg/g f.w.）⑤化合物はPALには影響を与えない。⑥BAはCGA含量を増加させ,低濃度で化合物Iの阻害を打消す。これらの結果からカーバメート誘導体の作用様式と花成について論ずる。

1Da09

シロイヌナズナ Columbia株の花成遅延変異体の解析 III. GI 遺伝子座近傍の遺伝解析.

荒木 崇・米田好文（東大・遺伝子実験施設）

シロイヌナズナ（Arabidopsis thaliana）Columbia 株では、これまでに３つの遺伝子座 GI,LD,CO で花芽形成が遅延する花成遅延変異体が得られている。われわれはこれらのうち GI 座位の変異である gi^2 変異体について、その表現型の発現に対する生育温度の効果を調べるとともに、温度シフト実験によりこの遺伝子の正常機能が必要とされる時期が発芽後まもない時期（本葉数枚の時期）にあると考えられることを報告した。また、gi^2 変異は完全暗黒下での花成に影響を与えないことから、この遺伝子の機能は光が関与する花成過程に関わると考えられることを報告した（日本植物生理学会１９８９年年会）。

われわれは、GI 遺伝子の染色体ウォーキング法による遺伝子クローニングを目標として GI 遺伝子座近傍の遺伝解析をおこなった。まず、遺伝地図上の正確な位置が確定していなかった gi^2 変異について相補性試験によりそれが Landsberg 株で単離、マッピングされていた fb と allelic であることを確認した。これにより GI 座位の遺伝地図上での位置を確定した後、遺伝地図と２種のＲＦＬＰ（制限酵素切断断片長多型）地図との比較からいくつかの適当なＲＦＬＰ座位を選び、それらと gi^2 との組換え率を求めた。交配の親株としては、gi^2 変異体（gi^2/gi^2, Columbia 系統）とＭＳＵ２３株（GI^+/GI^+, Landsberg 系統）を用い、個別に生育させたF_2植物からそれぞれ自殖によりF_3種子のプールを得て、F_3世代における分離からF_2植物の GI 座位と各ＲＦＬＰ座位についてその遺伝子型を決定し、各座位間の組換え率を算出した。そして、これに基づいて GI 遺伝子座近傍のより詳細な遺伝地図を作製した。

これと並行して、各ＲＦＬＰクローンをプローブとして酵母人工染色体（ＹＡＣ）ベクターに構築されたゲノム・ライブラリーをスクリーニングして、それぞれに対応するＹＡＣクローンを得た。

現在、こうして得たＹＡＣクローンの解析を進めるとともに、それらのクローンと、GI 遺伝子座近傍について作製したより詳細な遺伝地図、GI 遺伝子座と隣接するＲＦＬＰ座位の間に染色体の組換え点を持つ組換え体F_2植物とを用いて、最も近接するＲＦＬＰ座位から GI 遺伝子座に向けて染色体ウォーキングを計画している。

1Da10　皮組織糖タンパク質ＧＰ57の機能解明の試み

°佐藤　忍、葭田寛美　（筑波大・生物）

我々はニンジンの細胞培養系において、培地に添加するオーキシンの有無にかかわらず、細胞がunorganized なカルス状態の時のみに培地中に放出され、不定胚には全く見出だされない弱塩基性（pI 8.8, 9.5)の分泌性糖タンパク質(ＧＰ57）を見出だした。単クローン抗体を用いた免疫学的解析の結果、ＧＰ57が植物体においては、成熟種子中の胚と胚乳の間隙（特に幼根の周り）と、根の皮組織（表皮、内皮、周皮）に局在することが判明した。そこで本研究では、ＧＰ57の生理機能解明を目的として、発生上または環境上の機能を想定したアッセイ及びcDNAのクローニングを行った。

1)カルスの成長に対する影響　ニンジンのembryogenic またはnon-embryogenic callusからプロトプラストを調整し、2,4-D存在下において[methyl-^{3} H]Thymidine の酸不溶画分への取り込みに対するＧＰ57の影響を調べた。精製したＧＰ57は効果を示さなかったが、糖鎖に対する抗体を含む抗ＧＰ57血清を添加すると取り込みが強く阻害された。しかし、ＧＰ57のポリペプチドに対する単クローン抗体は効果をしめさなかった。
2)不定根の形成と伸長に対する影響　根を切除したニンジンの芽生えを抗ＧＰ57単クローン抗体を含む検液に挿し、形成されてくる不定根の数と長さを調べたところ、影響は見出だされなかった。　3)レクチン活性、精製したＧＰ57にはヒト(A, B, AB, O）、ウサギ、ヒツジの赤血球を凝集する活性は見出だされなかった。　4)抗菌作用　土壌グラム陰性菌(Klebsiella aerogenes)及びカビ(Cladosporium fulvum）の培地にＧＰ57を添加したが、生長に影響は見出だせなかった。　5）酵素活性　スベリン代謝に関係すると考えられるperoxidaseとesteraseに関し、各々aminoethyl carbazol 及びNAA を基質とした等電点ゲルの活性染色を行ったが、活性は見出だされなかった。またＧＰ57にはヘムの吸収(400nm）が存在しなかった。　6)cDNA のクローニング　ニンジン芽生え根のmRNAより作製したcDNAライブラリー(λgt11）を、抗ＧＰ57血清と、ＧＰ57のアミノ酸配列より合成した２種のオリゴヌクレオチドをプローブとしてスクリーニングし、部分長cDNA(1.5kbp)を有するクローンを得た。得られたシークエンスをホモロジーサーチしたところ、既知のタンパク質に相同性は見出だされなかった。

1Da11

ポプラ培養細胞の器官形成過程で蓄積するタンパク質
－器官形成の分子指標となり得るか？－

浅田隆之[1]、酒井松山[2]、福西伸一[1]、小川雅広[3]、角谷和男[1]
([1]京大・木研、[2]近大・農、[3]京大・食研)

組織培養技術を植物育種に応用するためには、培養細胞（カルス）から植物体再生を効率良く進めることが大きな課題であり、培養細胞の分化（器官形成）の進行度を検定する技法の開発は、この問題の解決に寄与する。植物体再生は、多段階的な細胞分化過程（器官形成）が積み重なって達成される複雑な現象であるが、その各過程で特異的なタンパク質の消長がある。本研究では、分化の進行した、器官形成能をもつ培養細胞が特異的に産生あるいは蓄積するタンパク質を器官形成の分子指標とする可能性について考察した。

ポプラ（Populus nigra）カルスの可溶性タンパク質のうち、分子量 33000、等電点 6.9 のタンパク質（Al-タンパク質）は、継代培養培地で分裂、増殖している脱分化状態のカルスには少量しか存在せず、再分化処理したカルスの器官形成過程で合成され、蓄積する。そこで今回、Al-タンパク質に焦点をあて、このタンパク質に対するポリクローナル抗体（抗 Al 抗体）を作成した。 Al-タンパク質が、器官形成のどの時期に特異的に蓄積しているのかを調べるため、再分化処理したカルスにおける Al-タンパク質蓄積量の時間変化をイムノブロット法で調べた。その結果、再分化処理後３日目から７日目にかけて急激に蓄積し、以後蓄積量はほとんど変化しないことが示された。 しかし、Al-タンパク質はカルスの母植物のポプラ芽、葉柄、葉のような器官には存在しなかった。さらに、高い器官形成能をもつ雑種ポプラ（P. charkowiensis × P. saligna）苗条原基に、抗 Al 抗体と反応する Al-タンパク質と同じ分子量、等電点の可溶性タンパク質が存在することを見い出した。このタンパク質は、雑種ポプラ苗条原基をカルス化させると１ヶ月後に減少した。抗 Al 抗体と反応するタンパク質は、ユーカリやヒノキアスナロ培養細胞には存在しなかった。これらの結果から Al-タンパク質は、ポプラ培養細胞の脱分化状態から原基の状態に分化する過程で蓄積し、原基の状態から脱分化する過程で減少するという特性をもち、苗条や根に分化する以前の段階の細胞に特異的に存在することが明らかとなった。従って、Al-タンパク質は、原基の状態の細胞が産生、蓄積するタンパク質の一種であり、原基がポプラ培養細胞中に形成されているかどうかを検定する分子指標となると考えられた。

1Da12

ブロッコリーの花粉発育におけるフェニルアラニンアンモニアリアーゼの関与

岸谷幸枝、○田中喜之[1]、今野 昇、四方田淳（東北大・農、[1]農水省農環研）

雄性不稔性は多くの植物で認められる現象であるが、特に細胞質雄性不稔性はF_1種子の効率的生産にとって有益であるので育種上重視されている。しかし、そのメカニズムについては核と細胞質の相互作用（あるいは不和合現象）によると言われているが、未だ充分に解明されていない。チューリップの葯のタペータム細胞画分にフェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）が局在し、タペータム細胞のフェニルプロパノイド生合成が花粉の発育過程で必須である可能性が示唆されている[1)]。今野らは、ブロッコリーの細胞質雄性不稔（ＣＭＳ）系統を作出したが、この系統は花粉数および稔性花粉数ともにおおきく減少するために開花時に葯が裂開せず不稔を生じる。演者らは、このＣＭＳ系統と正常系統を用い葯内でのＰＡＬの発現を調べ花粉の生育過程におけるＰＡＬの関与を検討し、ＣＭＳの発現との関連について考察した。

花粉発育の初期（小胞子初期）の葯におけるＰＡＬ活性を比較したところ、ＣＭＳ系統の葯のＰＡＬ活性が正常系統の約３０％に低下していた。葯におけるＰＡＬの局在性を傷害サツマイモＰＡＬに対する抗体を用いた免疫組織化学的方法で調べたところ、一核期頃の正常系統の葯では花粉がよく発達している葯室の内側をとりまくタペータム細胞を含む細胞層に強い発色が観察され、一方ＣＭＳ系統の葯では花粉の発育のみられない葯室のまわりの細胞層における発色が僅かであることが明かとなった。また、ＣＭＳ系統の葯でも花粉が少し発育するものもあり、この葯室の細胞層には正常系統の場合に近い発色がみられた。これらの結果は、ＰＡＬの発現の低下と花粉の生育とが相関することを示唆している。更に、ＰＡＬの阻害剤であるAminooxyacetate(AOA)を開花前およそ10日以前の蕾をもつ花序に茎から5mMの濃度で吸収させ、咲いた花の花粉を調べたところ花粉数が約２０％減少するとともに不稔花粉の割合が著しく増大し、ＣＭＳの場合に匹敵する割合であった。

以上の結果から、小胞子形成後の花粉の成熟過程にはタペータム細胞でＰＡＬが発現することが不可欠であることを強く示唆しており、ＣＭＳ発現を制御する核支配の要因の一つである可能性が考えられた。

1) L.Beerhues et al.(1989)J.Plant Physiol.133,743-746

1Ea01

キクイモ塊茎組織のカルス形成過程での細胞膜タンパク質の変化

長谷　昭，吉田静夫[1]（北海道教育大・函館・生物，[1]北海道大・低温研）

キクイモ塊茎の柔組織は，植物ホルモンとしてはオーキシンのみで同調的にカルス化させることが可能である．オーキシンがどのようなメカニズムでカルス誘導するかに関しては，この材料でも古くから多くの研究が行われてきたが，オーキシン作用の第一のターゲットと考えられる細胞膜については，めだった成果がない．そこで本研究では，第一段階として培養組織から高純度の細胞膜を単離し，カルス形成初期過程での膜タンパク質組成の変化を調べた．

【材料と方法】北海道大学構内より採集したキクイモ（Helianthus tuberosus L.）塊茎の柔組織から切り出したディスクを，0.1又は1mg/l 2,4-D添加のＭＳ寒天培地上で26℃・暗所で所定時間培養し，分画遠心と水性二相分配法で細胞膜を単離した．タンパク質組成は，Laemmli法による一次元（1-D）及びAmes & Nikaido法の変法による二次元（2-D）のポリアクリルアミド電気泳動（PAGE）による展開後，改良銀染色法によって解析した．糖タンパク質組成は，泳動後ニトロセルロース膜に転写しFITC-ConAによる蛍光染色によって調べた．2,4-Dなしで同様に培養した組織より単離した細胞膜をコントロールとした．

【結果】培養組織から，塊茎組織と同様に高いvanadate-sensitive ATPase比活性を持つ高純度の細胞膜を単離することができた．タンパク質組成を調べたところ，1-D PAGEでは約70本のバンドが検出され，そのうち約20本がカルス化に伴う変化を示したが，大部分はコントロールでも同様の変化があり，カルス化に特異的と思われるのは，培養開始後一日目に急増する21kDaのバンドと３日目にかけて増加する10kDa前後のバンドのみであった．2-D PAGEでは220～230スポットとテーリングする25本前後のバンドが検出されたが，カルス化に特異的な変化を示したのは，上記21kDaポリペプチド（pI 5.8）以外では，34kDa・pI 6.4のスポットのみであり，これは21kDaポリペプチドと同様の変化を示した．糖タンパク質は，1-D PAGEで10本前後，2-D PAGEでは，スポットとして20個以上及び90kDa以上のテーリングするバンド数本が検出できたが，カルス化に特異的と思われるような変化は確認できなかった．現在，細胞膜タンパク質の合成レベルでの変化を調べているので，合わせて報告したい．

1Ea02

小胞体と原形質膜に存在するオーキシン結合タンパク質の比較

下村　正二　（阪大・産研）

トウモロコシ子葉鞘の細胞膜画分より単離精製した分子量 21kDaのオーキシン結合タンパク質（ABP）[1]は，小胞体の内腔に留まるためのシグナル配列をもつ[2]。実際，細胞膜をショ糖密度勾配遠心法で分画すると，ABP は小胞体画分に認められる[3]。一方，ABP の植物界における普遍性を検討するために，タバコ葉について調べたところ，タバコ葉では原形質膜画分に認められた。タバコ ABP は分子量 22kDaであり，トウモロコシ ABP とは免疫化学的に同一であった。またタバコ葉細胞をプロトプラストにすると，ABP 量が減少することから，タバコ葉細胞では ABP は細胞壁に面する原形質膜に局在していると考えられる。次に，トウモロコシ子葉鞘抽出液中の可溶画分を抗体法を用いて検討したところ，21kDa ABP は可溶画分にも存在することが明らかになった。この可溶画分の ABP も糖タンパク質であることから，元々細胞膜由来のものと考えられる。膜画分と可溶画分における存在比はトウモロコシ芽生えの齢に依存しており，発芽初期では膜画分に多いが，数日後その比は逆転して可溶画分が多くなる。このことから，タバコと同じくトウモロコシにおいても，ABP は原形質膜で機能するオーキシン受容体と思われる。トウモロコシでは ABP は膜に弱く結合しており，細胞破砕時に膜から遊離することにより可溶画分に認められるようになったのであろう。小胞体に見られる ABP は原形質膜 ABP の前駆体として合成され，齢の進行と供に原形質膜に移行すると思われる。タバコでは小胞体画分に ABP は見られない。このことから，タバコ ABP では小胞体局在化シグナルが欠失している可能性が考えられる。これを明らかにするために，現在，このタンパク質をコードするタバコのcDNAとシロイヌナズナの遺伝子を単離しており，一次構造上の比較を行っている。

(1) Shimomura, S., Sotobayashi, T., Futai, M. & Fukui, T. (1986) J. Biochem. 99, 1513.
(2) Inohara, N., Shimomura, S., Fukui, T. & Futai, M. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 3564.
(3) Shimomura, S., Inohara, N., Fukui, T. & Futai, M. (1988) Planta 175, 558.

1Ea03　光屈性刺激による内生オーキシン（ＩＡＡ）の横移動

飯野盛利（都立大・理・生物）

Went（1928）は、アベナ子葉鞘の光屈性がその先端で合成されている成長促進物質の横移動によって起こることを示した。この物質はオーキシンと命名され、現在、indole-3-acetic acid（ＩＡＡ）がその唯一の化学的本体であると考えられている。光屈性がオーキシンの横移動によるという考えは、以来、支持されたり、批判されたり、紆余曲折の研究史をたどってきた。Went説の最大の弱みは、オーキシンの横勾配がＩＡＡの機器分析による定量で示されていないことにあるといえる。また、ＩＡＡの勾配が屈曲反応に先だって起こることも、証明されなければならない課題である。本研究では、トウモロコシの子葉鞘を用いて、これらの問題の検証を行った。

【方法】材料として、赤色光下で３日間育てたトウモロコシの芽生えを用いた（赤色光を用いる理由に関しては、Iino & Briggs, 1984, Plant Cell Environ. 7, 97-104 を参照）。光屈性は、８秒（2.7 μmol·m^{-2}）の青色光を一側面から照射して誘導した。これによって、いわゆる一次正屈曲のピークに相当する反応が誘導される（Iino, 1987, Planta 171, 110-129）。ＩＡＡの抽出・定量は、ＩＡＡの誘導体であるindolo-α-pyrone の蛍光測定を最終的な定量法とする方法（Iino & Carr, 1982, Plant Physiol. 69, 950-956）をさらに改良して用いた。

【結果・考察】主な研究結果は、次の通りであった。（１）子葉鞘の亜先端部（先端から２－７ｍｍ）を照射側と影側で２分割した組織で、ＩＡＡ含量の勾配が測定された。この勾配は青色光照射から約１０分で出始め、３０～４０分で最大（照射側：影側≈１：２）に達した。なお、この勾配はＩＡＡの総含量の変化を伴わずに起こった。（２）同じ亜先端部における屈曲は約３０分で開始し、４０～７０分で最大の速度を示した。したがって、ＩＡＡ横勾配の誘導は屈曲反応に充分に先行して起こることが明らかである。（３）切り出した子葉鞘先端部（３ｍｍ）の下部切口の照射側と影側から得られる拡散型のＩＡＡに同様の勾配が測定された。また、両側から得られるＩＡＡの総量は、光屈性刺激を行わなかった対照とほぼ同じであった。これらの結果は、屈曲部位におけるＩＡＡの横勾配が、子葉鞘先端組織におけるＩＡＡの横移動によって起こることを物語っている。

1Ea04　葉組織におけるＩＡＡの細胞内極在について

○大宮あけみ、林　建樹、垣内典夫（農水省果樹試）

オーキシンが植物の生長、特に細胞壁の伸展や蛋白の合成等に重要な役割を果たしている事は良く知られているが、その作用機構に関しては未だ明らかにされていない。ホルモンの細胞内極在に関する知見は、その生理作用を知る上で非常に重要な情報を与えることが期待される。しかし、これまで植物ホルモンではサイトカイニンとアブシジン酸について2、3の報告があるのみで、オーキシンに関しては未だ報告がない。そこで今回は、免疫細胞化学的手法を用い、葉組織におけるインドール-3-酢酸（ＩＡＡ）の細胞内局在を解析した。

ＩＡＡのインドール環のイミノ基にマンニッヒ反応によりbovine serum albuminを結合させ、これを抗原としてポリクローナル抗体を作製した。この抗体を1次抗体に用い、金コロイド法によりＩＡＡの細胞内極在を調べた。試料はモモ（白鳳）の展葉及び未展葉を用い、葉肉細胞の核、細胞質、色素体、及び細胞壁における金コロイドの密度の差を比較した。

得られた抗体とＩＡＡの前駆体、代謝産物、及び構造類似体との交差反応を調べた結果、合成オーキシンであるナフチル酢酸のみが高い交差反応性を示し、それ以外の化合物の交差反応性は極めて低かった。また、1次抗体を除いた対称染色において金コロイドは切片上にほとんど認められなかった。したがって、免疫染色において組織内に認められた金コロイドはＩＡＡに特異的に結合しているものと考えられた。金コロイドは、未展葉の葉肉細胞では、腋胞とフリースペースを除く細胞全体、すなわち核、細胞質、色素体、細胞壁に広く分布していた。展葉においても核、細胞質、細胞壁は未展葉よりやや密度は低かったが同様にラベルされた。最も顕著だったのは展葉における色素体への金コロイドの集積で、単位面積当たりの金コロイドの数が未展葉の約2倍の値を示した。また、展葉の柵状組織及び海綿状組織の葉肉細胞における金コロイドの密度は、色素体、細胞壁ではほぼ同様の値を示したが、核、細胞質では、海綿状組織の方が有意に高かった。

以上の結果からＩＡＡは細胞の種々の部位に存在し、葉が成熟するにしたがってその分布様式が変化することが明らかになった。

1Ea05 エンドウ芽生えの成長に対する水ストレスの影響

宮本健助・上田純一・桃谷好英（大阪府大・総合科学）・
神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

高等植物の芽生えに水ストレスを与えると、茎成長速度は低下し、茎伸長部域の細胞の浸透ポテンシャルは低下する。私たちは、エンドウ芽生えを用いて、水ストレスによる浸透調節機構について研究を行ってきた。その結果、水ストレスによる浸透ポテンシャルの低下は、主として可溶性糖濃度の上昇に基づいていることを明らかにした。さらに、水ストレスは、伸長部域において細胞壁量の増加やエネルギー代謝を抑えることにより、浸透物質としての可溶性糖の蓄積を促進することを示した。しかし、水ストレスがどの様にして茎成長を抑制するのかは、まだ明かにされていない。そこで、細胞の吸水成長を主として規定していると考えられるパラメータ、すなわち細胞の実効の吸水力である細胞内外の浸透濃度差、細胞壁力学的性質、そして細胞壁合成に対する水ストレスの影響を検討した。

５日間暗所、２５°Cで生育させた黄化エンドウ芽生えの頂端鈎状部から下０－５㎜のところに墨で印を付け、これを水あるいはマニトール溶液で、暗所、２５°Cで生育させた。一定時間後、墨で印をつけた伸長部域を切り出し、長さを測定した後、凍結あるいはメタノール固定した。凍結切片から遠心分離によって細胞液を採り浸透濃度を測定した。細胞壁の力学的性質は引っ張り試験機で測定し、応力緩和法で解析した。細胞壁は、ペクチン、ヘミセルロースおよびセルロース画分にわけ、各分画中の多糖類量を定量した。

茎伸長部域の細胞浸透濃度は、水対照では成長期間中に緩やかに低下した。一方、マニトール処理によって浸透濃度は上昇し、細胞の実効の吸水力である細胞浸透濃度とマニトール濃度の差は、水対照を上回った。しかし、成長速度はマニトール処理によって低下したままであった。この事実は、水ストレスによる成長阻害が吸水力の低下によるものではないことを示している。また、細胞壁のゆるみを表すパラメータの一つ、最小緩和時間は水ストレスによって影響されなかった。ところが、成長に伴う細胞壁多糖類の増加を水ストレスは抑制した。この抑制はペクチン分画、ヘミセルロース分画に比べセルロース分画で特に顕著であった。

以上の結果から、水ストレスは細胞壁多糖類、特にセルロース多糖類の合成に影響することによって、成長を抑制することが示唆された。

1Ea06 オートムギ幼葉鞘切片の成長に対するジャスミン酸の阻害作用

上田純一、宮本健助、青木美也子、桃谷好英（大阪府大、総合科学）、神阪盛一郎（大阪市大、理）

ジャスミン酸およびその関連化合物は植物界に広く分布しており、サイトカイニンおよびジベレリンと相互作用を示しながら、比較的低濃度で緑葉の黄変、細胞増殖や肥大の阻害、芽生えの生長阻害等の多面的な生理活性を示すことが知られている。しかしながら、ジャスミン酸とオーキシンとの相互作用については一致した見解が示されていなかった。演者らはこの点について、オートムギ幼葉鞘切片の伸長成長における両化合物の相互作用を検討し、ジャスミン酸がオーキシンの誘導成長を阻害することを明らかにした。そこで、本研究では、成長の種々のパラメーターに対するジャスミン酸の影響を調べ、ジャスミン酸の成長阻害作用について検討した。

ジャスミン酸は1 μM 以上の濃度でオーキシン（インドール-3－酢酸）で誘導されたオートムギ幼葉鞘切片の成長を不競争的に阻害した。ジャスミン酸をオーキシンと同時に与えた場合、約2時間の潜在期の後にその阻害効果が現れた。しかしながら、これらの添加時間を変えた実験結果から、この潜在期はジャスミン酸の細胞内への取り込みの遅れによるものではないことが示された。細胞の伸長成長に関係する種々のパラメーター、すなわち細胞の浸透濃度、細胞壁の力学的性質、および細胞壁多糖に対するジャスミン酸の影響を調べた。細胞壁の力学的性質に対する影響は、引っ張り試験機を用い、応力緩和法によって解析した。その結果、ジャスミン酸はオーキシンによって引き起こされる浸透濃度の低下を抑制したが、全浸透物質量には影響しなかった。従って、ジャスミン酸による細胞の浸透濃度の低下の抑制は、成長抑制の結果であることが示された。オーキシンは細胞壁のゆるみ、すなわち最小緩和時間（To）の低下を引き起こしたが、ジャスミン酸はオーキシンの存在の有無に関わらず、この値には影響しなかった。セルロース、非セルロース多糖類量は成長実験期間中に増加したが、ジャスミン酸はオーキシンの有無に関わらず、これらの増加を阻害した。一方、この様なジャスミン酸によるオーキシン誘導成長の阻害はショ糖の添加により部分的に回復することが明かとなった。

以上の結果から、ジャスミン酸は少なくともオートムギ幼葉鞘切片の細胞壁の合成と分解にかかわる糖の代謝系に影響を及ぼし、オーキシン誘導成長を阻害することが示唆された。現在、この点を明らかにするために、細胞壁多糖類の組成、細胞壁合成基質として重要なＵＤＰ－グルコース含量に対するジャスミン酸の影響を検討中である。

1Ea07

オートムギ幼葉鞘並びにアズキ上胚軸のオーキシン誘導伸長とキシログルカン分解

保尊隆享、増田芳雄、曽根良昭[1]、三崎　旭[1]（大阪市大・理・生物、[1] 大阪市大・生活科学）

オーキシンは、様々な細胞壁多糖類の分解を促して細胞壁のゆるみを引き起こし、植物の伸長成長を促進すると考えられている。単子葉イネ科植物と双子葉植物とでは、細胞壁マトリックス構造に違いがあり、オーキシンによって分解が促進される多糖類の種類も異なっている。しかし、キシログルカンは、両方の植物のマトリックス構成成分であり、オーキシンによる分解の促進も両植物で認められるので、これが両者に共通したオーキシン誘導伸長の原因となっている可能性がある。我々は、細胞壁多糖類を特異的に認識する抗体やレクチンを用いて、オーキシンによる伸長促進のしくみを調べてきた。本研究では、両植物におけるオーキシン誘導伸長とキシログルカン分解との因果関係を確かめるため、３種のキシログルカンオリゴ糖認識抗体を調製し、オートムギ幼葉鞘並びにアズキ上胚軸切片のオーキシン誘導伸長、細胞壁のゆるみ、キシログルカン分解に対する影響を調べた。

合成したキシログルカン２糖（Xyl_1Glc_1）およびタマリンド種子より抽出、精製した同７糖（Xyl_3Glc_4）、８糖（$Gal_1Xyl_3Glc_4$）をＢＳＡと結合させて抗原とし、ポリクロナール抗体を得た。間接蛍光抗体法により、３種の抗体のどれもがオートムギ幼葉鞘並びにアズキ上胚軸の細胞壁に結合することが確かめられた。３種の抗体のいずれも、オートムギ幼葉鞘切片のオーキシン誘導伸長および細胞壁のゆるみ（最小緩和時間の減少、緩和速度の低下）には影響しなかった。これに対し、７糖および８糖抗体は、アズキ上胚軸切片のオーキシン誘導伸長並びに細胞壁のゆるみを強く抑制した。また、オートムギ幼葉鞘細胞壁のヘミセルロースＡ分画に含まれるキシログルカンの平均分子量は、オーキシン処理により低下したが、３種の抗体、特に７糖抗体は、その低下を阻害した。アズキ上胚軸細胞壁ヘミセルロースＩＩ分画に含まれるキシログルカンのオーキシンによる低分子化も、７糖および８糖抗体によって阻害された。

オートムギ幼葉鞘切片では、オーキシンによるキシログルカンの低分子化がキシログルカン認識抗体によって阻害されたにもかかわらず、細胞壁のゆるみや伸長には影響がないことから、キシログルカンの分解は必ずしもオーキシン誘導伸長の原因とはなっていないと考えられる。これに対して、アズキ上胚軸では、両者の間の因果関係が支持された。

1Ea08 イネの成長と細胞壁フェルラ酸

神阪盛一郎、三並千佳、保尊隆享、増田芳雄　（大阪市立大・理・生物）

細胞壁中のマトリックス多糖にエステル結合しているフェルラ酸(FA)がペルオキシダーゼによって酸化的カップリング反応を受けてジフェルラ酸(DFA)になり、そのためにマトリックス多糖分子間に架橋が構築されて細胞壁の伸展性が低下するという、いわゆるDFA仮説が提出されている(Fry 1979)。この仮説の妥当性をオートムギ幼葉鞘を用いて検証したところ、細胞壁の力学的性質と細胞壁中のDFAとの間には高い量的な相関があることが明らかにされた(Kamisaka et al. 1990)。

イネ幼葉鞘の伸長成長は水中で速く、気中では遅い。また、水中で通気培養するとその成長は著しく抑制される。水中型イネ幼葉鞘の細胞壁の伸展性は気中型にくらべると大きい。FAとDFAがイネの細胞壁に存在していることが知られている(Shibuya 1984)。これらの事実から、水中型と気中型イネの幼葉鞘の成長能力の差は細胞壁中のDFA量の差によっている、と考えることができる。この点を検討するのが本研究の目的である。

イネ(Oryza sativa L. cv. Sasanishiki)の発芽種子を暗所で培養した。水中培養は深さ8cmの蒸留水を満たした容器内で行った。水中通気培養はこの容器にポンプで空気を通気することによって行った。気中培養は水面上にはった網の上に発芽種子を植えることによって行った。

細胞壁多糖に結合しているDFAの量は幼葉鞘が成長するにしたがって増加した。気中型にくらべると、水中型イネ幼葉鞘ではマトリックス多糖あたりのDFA量は少なかった。水中培養でも通気するとDFA含量が増加した。一方、FA量に関しては、三つの培養条件で大きな差は認められなかった。細胞壁の伸展性とDFAとの量的関係を検討したところ、二つのパラメーター間には高い負の相関があることが分かった。これらの実験結果は、水中型イネ幼葉鞘の速い成長は、水中でのDFA合成抑制によっていることを示唆している。

Fry, S.C. Planta, 146, 343 (1979).

Kamisaka, S., S. Takeda, K. Takahashi and K. Shibata, Physiol. Plant., in press (1989).

Shibuya, N. Phytochem., 23, 2233 (1984).

1Ea09 伸長生長と細胞壁における陽イオン交換

水野暁子、加藤　潔[1]（日本福祉大学・女子短大、[1]名大・理）

道管灌流法を用いて、ミトリササゲ下胚軸の道管溢出液のｐＨを測定した。ｐＨ値の異なる数種の溶液を灌流した際、溢出液のｐＨは、いずれも６付近に収斂した。この過程は無酸素条件下でも進行し、また、メタノールで前処理した軸片や電子レンジで加熱した軸片においても観察された。従って、ｐＨの収斂は呼吸に依存した過程（例えば、起電性ポンプによる道管液ｐＨの調節）ではなく、木部細胞壁における物理化学的な反応である。これは、細胞壁の多糖類が行う陽イオン交換反応による緩衝作用であると考えられる。

高濃度のカリウムイオンやカルシウムイオンは、プロトンを細胞壁から引き離すことができる。逆に、イオンクロマトグラフィーを用いた測定より、灌流液のｐＨが低くなるにつれて、道管溢出液のカリウムやカルシウムなどの陽イオンの濃度が高くなることが判った。これは、高濃度のプロトンが細胞壁と結合した陽イオンと置換するためといえる。細胞壁がプロトンを吸着するcapacityは、他の材料で測定された細胞壁での陽イオン交換のcapacityに近い。以上の実験結果は、木部細胞壁において、プロトンと他の陽イオンとの交換反応が起こっていることを実証するものである。

細胞壁におけるプロトン／陽イオン交換反応のため、細胞壁アポプラストのｐＨ緩衝能が高まり、アポプラストのｐＨは一定値が保たれることになる。その生理的意義は、一つには細胞壁アポプラストと細胞内との間に生ずるproton motive force の濃度に依存する項を安定化させることにあろう。それによって、道管から柔組織シンプラストへの溶質や水の輸送は、より細胞膜電位差によって調節され易くなる。もう一つは、酸生長説に関わる問題である。酸生長説に対する批判の主なものは、オーキシンによる伸長生長促進に組織外液の酸性化が必ずしも伴わないことを論拠としている。しかしそれは、細胞壁の緩衝作用によって、プロトンポンプの活動を細胞外液のｐＨから検知することを困難にしているためであろう。それは別の面から視れば、細胞壁の弛緩に必要なプロトンが細胞壁アポプラスト内で豊富に保持されているということであり、細胞壁の酸伸長をより促進することになる。ポンプによって放出されたプロトンが働く場としての細胞壁アポプラストに注目したい。

1Ea10

プレッシャープローブと導管圧ジャンプ法による生長解析
(1) IAA の効果 (II)

°中堀　清、加藤　潔、岡本　尚　（名大・理・生物）

植物の軸性器官の定常的な伸長生長は $\frac{1}{V}\frac{dV}{dt}=\Phi(P^i-Y)$ (1)、$\frac{1}{V}\frac{dV}{dt}=L(\Delta\pi-P^i)$ (2)（V；器官の体積、Φ；細胞壁の展性、P^i；細胞内圧、Y'；細胞壁の実効降伏圧、 L；相対的水透過性、Δπ；細胞内外の浸透圧の差） の連立方程式で記述される。伸長生長の調節機構を明らかにするためには、種々の条件下での各パラメーターの値とその変化の様子を知る必要がある。(1)式を P^iで偏微分することによりΦを求めることができるが、当研究室で開発された導管圧ジャンプ法* は様々な実験操作に伴うΦと有効膨圧（P^i-Y'）の変化を経時的に測定することを可能にした。よってプレッシャープローブと組み合わせることにより、Φ、（P^i-Y'）、P^i、Y' の値を経時的に求めることができる。

今回はIAA による伸長促進効果について解析を行った。ミトリササゲ下胚軸の伸長域切片に 10^{-4}M IAA 溶液を導管灌流により与えると10-15 分後から伸長速度が増大しはじめ、30分ほどで効果は最大に達し、灌流前と比べ６倍程になった（35μm/h/15mm segment → 240μm/h/15mm segment）。この時、従来の報告と同様、導管圧ジャンプ法でもΦが２倍程度大きくなっていた（0.09 $MPa^{-1}\cdot h^{-1}$ → 0.19 $MPa^{-1}\cdot h^{-1}$）が、これだけでは伸長速度の増加を説明できない。この時、有効膨圧（P^i-Y'）は約３倍に増大していた（30KPa → 90KPa）が、プレッシャープローブによる直接測定では、P^i はほとんど変化しないか、僅かに減少する場合がみられた。よってY'が低下していると考えられる。

以上の結果をまとめると、IAA が伸長を促進する時、細胞壁の展性を大きくする効果だけでなく、細胞壁の実効降伏圧（Y'）を、低下させる効果が重要であると考えられる。

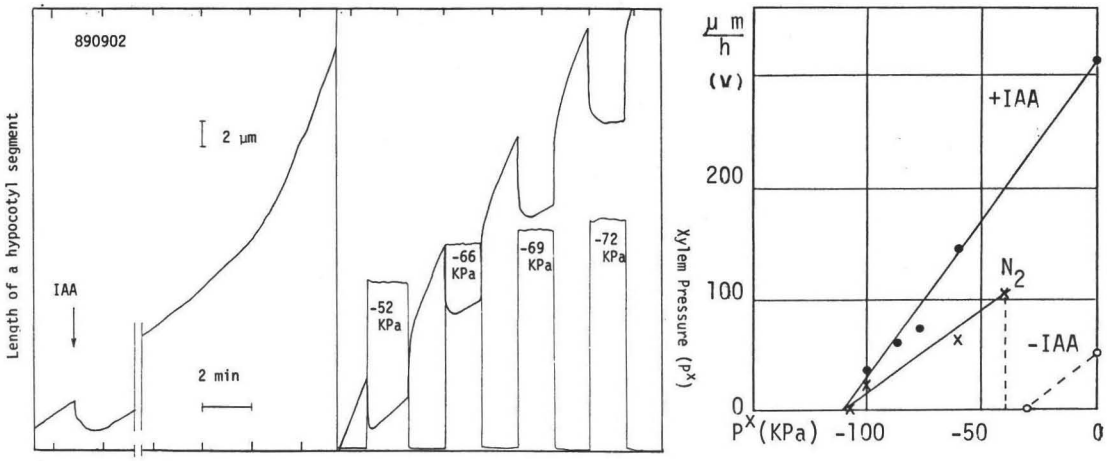
＊ Plant Cell Physiol. 30, 979-985 (1989)

1Ea11

Effects of Anoxia and IAA on the Physiological Yield Threshold of the Cell Wall Determined by a Negative Pressure Jump Method

Okamoto, H.[1], C. Miwa[1], K. Nakahori, K. Katou
[1]Biol.Inst., Instr. Dev. C., Fac. Sci, Nagoya Univ.

We developed a pressure jump method (Okamoto et al. 1989) to determine the geometric form of the mechanical growth equation: $v = \phi(P^i - Y)$, (v, relative growth rate; ϕ, physiological wall extensibility; P^i, intra-cellular pressure; Y, yield threshold of the wall) and to establish in combination with the determination of P^i by the pressure probe technique (Nakahori et al. 1989) the concrete form of Katou's growth diagram (Katou & Furumoto, 1986). **Extrapolation of the P^i - v relations thus obtained in Vigna hypocotyl segment gave a steeper gradient (ϕ) and an apparent Y value quite close to the turgor P^i.** This time, We have developed **a negative pressure jump method** directly to determine Y instead of the extrapolation of the positive jump results. In the absence of IAA, the Y value where growth rate became null by the applied tension (around 30 KPa)from the drain of the xylem perfusion system was quite close to that expected from the extrapolation. **Application of IAA by the xylem perfusion (10^{-4}M) or by the aerosol method decreased Y drastically by 50-80 KPa,** resulted in the increase in v by several times in cooperation with the increase in ϕ. Change in P^i determined by the intra-cellular pressure probe during the application of IAA was almost null in average (Nakahori et al. this meeting). **Inhibition of the respiration by anoxia did not change Y**, if we took into consideration the decrease in P^i by 40 KPa due to anoxia.



1Ea12

浸透ストレス下における胚軸の生長調節
--- absorbable solutes と IAA の効果 （２）

劉 強、 加藤 潔、 岡本 尚 （名大、理、生物）

The elongation growth of plant stem can be expressed by Lockhart's simultaneous equations*, in which the relative rate of elongation is shown to be controlled by the physiological extensibility of cell wall (Φ), cell turgor pressure (P^i), yield threshold of cell wall (Y), relative hydraulic conductance (L), and the difference in osmotic concentration between the symplast cells and the apoplast canal water source ($\Delta\pi$). L is usually thought to be large enough not to impede the entry of water into the growing tissues. The changes in the growth rate are mainly caused by the changes in one or more of four parameters (Φ, P^i, Y or $\Delta\pi$). The changes in the extensibility of cell wall (Φ) and the effective turgor (P^i-Y′) of an excised segment of Vigna hypocotyl, when subjected to osmotic stress (100 Osmol) in the absence or presence of absorbable solutes (15 mM KCl and 30 mM sucrose), were examined by means of the xylem perfusion and the pressure jump method. Then the changes in $\Delta\pi$ were theoretically estimated with Katou's diagram.

The elongation segments stopped growing and immediately shrank when subjected to osmotic stress, but the resumption of the elongation growth occurred within about 30-50 min. Under the osmotic stress in the absence of absorbable solutes, Φ of a segment was found to increase significantly after the recovery of the growth. In the presence of absorbable solutes, the recovery of the growth was promoted (i.e. early recovery and high growth rate). In this case, an increase in Φ is not so significant but that in (P^i-Y′). When the stress was applied together with IAA, the recovery of the growth occurred within 15 min and both Φ and (P^i-Y′) significantly increased, irrespective of the presence or absence of absorbable solutes. When IAA was applied at the beginning of perfusion, the retarding effect of osmotic stress for growth was decreased, and a high rate of the growth was also maintained under the osmotic stress in the presence of the absorbable solutes. Such effects of absorbable solutes and IAA on osmotic response suggest that not only the yielding of the cell wall, but also the rapid, coupled absorption of solutes and water contributes to the recovery of the elongation growth, and that the absorption of solutes was promoted under the osmotic stress and in the presence of IAA. We interpreted these results in the light of the theory of two-proton pumps and the canal theory of active water absorption.

* Lockhart's simultaneous equations:

$$1/l.dl/dt = \Phi(P^i - Y') \quad \text{for} \quad P^i > Y' \qquad (1)$$

$$1/l.dl/dt = L(\Delta\pi - P^i) \qquad (2)$$

1Fa01　イネ突然変異株の電子伝達系

寺尾富夫，加藤　栄[1]（農水省・生物研，[1] 東大・理・植物）

光合成が効率よく進行するためには、系Ⅰと系Ⅱの光化学系にバランスよく光が吸収されることが必要である。系Ⅰと系Ⅱにはそれぞれ特有の集光性クロロフィル a/b蛋白複合体(LHC-ⅠとLHC-Ⅱ)が存在しているが、そのうちLHC-Ⅱには、全クロロフィルの約50%、全クロロフィル bの90%以上が結合している。このためイネのクロロフィル b突然変異株では、LHC-Ⅱが欠損または減少しており、系Ⅰに比べて系Ⅱの集光機能が相対的に低下している。しかし正常に光合成を行ない、生長し結実することから、これらの変異株ではなんらかの仕組みで２つの光化学系に吸収される光量のバランスが保たれていると考えられる。この仕組みを調べるため、本研究では、クロロフィル b含量の異なる３種類のイネ変異株について、系Ⅰと系Ⅱの量比，および電子伝達活性を調べた。

イネ農林８号とその突然変異株chlorina 2 (Chl b 含量 0)，chlorina 11 (Chl a/b比 = 10)，chlorina 14 (Chl a/b比 = 15)について系Ⅰと系Ⅱの反応中心および電子伝達成分を定量した。1,000クロロフィル当りの系Ⅰ反応中心クロロフィル P700量は、正常株で2.25であり、chlorina 2，11，14でそれぞれ82%，23%，36%増えていた。ビタミンK_1量はいずれもP700の約２倍含まれていた。系Ⅱの反応中心量は、Q_A，Mn，フェオフィチンおよび除草剤結合量を測定して求めた。正常株では1,000クロロフィル当り約2.8で、系Ⅰの１.２５倍であった。chlorina 2と14では正常株の３倍近く増え、chlorina 11では２.５倍に増加しており、このため系Ⅱ／系Ⅰの比は2.0またはそれ以上の値を示した。これはLHC-Ⅱの減少にともなう系Ⅱの集光機能の低下を、系Ⅱ反応中心を増加させることで、少なくとも部分的に補償していることを示唆する。chlorina 2よりもchlorina 11，14の方が高い系Ⅰ／系Ⅱ比を示したが、これはchlorina 2ではLHC-Ⅰが全く欠損したのに対し、他の２つの変異株ではかなりのLHC-Ⅰが合成されており、光エネルギー吸収のアンバランスが大きいためと考えられる。プラストキノンとチトクローム f量も変異株で増加していたが、増加の割合はむしろ系Ⅰのそれに近かった。さらに光強度を変えて系Ⅰ，系Ⅱおよび系Ⅰ＋系Ⅱの電子伝達活性を測定した。その結果を上記の成分の量的変化を考慮にいれながら考察する。

1Fa02　ゼンマイ胞子の発芽時における光合成の誘導

井上　弘、田村典明（富山大・理・生物）

シダ植物の一種であるゼンマイ（Osmunda japonica）の胞子は緑色であり、その中心部に葉緑体を持っている。この緑色胞子の光合成活性は、吸水直後においては、非常に僅かであるが、培養時間の経過とともに、増大してくる。この緑色胞子における活性誘導現象は被子植物の黄化葉の緑化過程や暗所で育てたトウヒの緑色芽生えの光活性化過程とは別の情報を提供できる可能性があると思われる。今回は、この胞子発芽時の光合成活性発現の基礎的な現象論について報告する。

光合成活性の測定：20mgの乾燥胞子を、0.5 mlのbufferに懸濁し、1.5%のCO_2 を含む25mlのバイアル中に入れ、25℃、75rpm で旋回したときの、CO_2 濃度の増減をガスクロマトグラフを用いて、測定した。　クロロフィルの蛍光強度変化の測定：一層になるように胞子を沈ませて、底面から励起・測光した。（光強度はいずれも≦８W／m^2 ）

［結果］胞子を明所に置いた場合、吸水直後には、CO_2 の放出が認められ、２～３時間後には、見掛上CO_2 濃度の変化がなくなり、それ以後は、徐々にCO_2 吸収速度が増大していく。６時間後、２０時間後、２日後には、それぞれ、およそ、６、１４、２０ μmol CO_2/mg Chl.hの光合成活性を示した。一方、呼吸は、吸水直後から十分に高い活性（３～４ μmol CO_2/mg Chl.h）を示す。吸水直後の胞子は、≦１ μmol CO_2/mgChl.h の光合成活性を持っていると推定された。吸水直後から６時間、気相を嫌気的にした場合には光合成活性が殆ど認められないこと等から、吸水後の光合成活性の誘導には呼吸作用の結果（ATP ?)が重要な役割を果たしていると言える。

蛋白質合成阻害剤の影響：吸水直後から、シクロヘキシミド(100μg/ml)を添加して２日間処理しても、光合成活性誘導には影響がなく、４日間処理すると５０％の低下を示した。これらの時期において、発芽は完全に阻害されていた。一方、吸水直後にクロラムフェニコール（ＣＰ、200μg/ml）を添加すると、明中においても、CO_2 放出のみが見られ光合成は殆ど誘導されてこない。吸水後６時間培養した胞子の光合成は、ＣＰ添加２時間後には９０％阻害されるが、吸水後３日以降の細胞では、一定（約５５％）の阻害率を示す。この胞子では、比較的弱光下でも、D_1 蛋白は非常に速く分解していると推察できる。

1Fa03

クロマツ子葉の光化学系II複合体への光に依存したMnの組込み

篠原健司、小野高明[1]、井上頼直[1]（農水省・森林総研、[1]理研・太陽光科学）

暗所で生育したクロマツ(Pinus thunbergii)の芽生えは、被子植物と異なり、黄化せず、クロロフィルを持ち、葉緑体内にチラコイド膜の発達がみられる．しかし、この葉緑体は酸素発生（水分解）能を持たない．山本らは、この系で光合成に関連した遺伝子群(cab,rbcS,rbcL,psbA)が光条件にかかわらず発現していることを既に報告している．また、酸化還元差スペクトルの測定、電気泳動、プロテインシーケンサーによるアミノ末端の解析などにより、そのチラコイド膜の構成タンパク質を調べると、暗所でも光合成の機能単位に必要な多くのタンパク質が形成されている（篠原・村上・藤田、昨年度林学会）．

暗所で発達したクロマツ子葉の葉緑体はなぜ酸素発生能を持たないのか．この問題を解決するため、酸素発生能を持つ光化学系II複合体を調製し、その生化学的特性を調べた．材料には、25℃、明(18.5 μE/m^2/sec^1)暗両条件下で成育させたクロマツの子葉（播種後3週間目）及び暗所で成育させたのち1時間明所へ移動させたものを用いた．これまで、木本植物から高い酸素発生能を持つ光化学系II複合体を調製することは困難とされていたが、Triton X-100を用いてチラコイド膜を可溶化することにより、明所の子葉から酸素発生能の極めて高い標品(593 μmole O_2/mg Chl/hr)を調製した．チラコイド膜からのクロロフィルあたりの収量も約35％と高く、クロロフィルa/b比は2.1であった．暗所から明所へ移したもの及び暗所のものから得た標品はそれぞれ465及び0 μmole O_2/mg Chl/hrであった．また、DCMU存在下の熱発光の測定により、$S_2Q_A^-$のrecombinationから生じる各標品のシグナルサイズは酸素発生能の大きさとほぼ一致していた．さらに、原子吸光により、酸素発生系のセンターで重要な役割を果たす二価金属イオン（Mn,Ca)を定量すると、明所の標品には、400クロロフィルあたり約9原子のMn及び約2原子のCaが存在していた．一方、暗所の標品にはCaは既に存在するが、Mnは全く検出できない．暗所から明所へ移すことにより、始めてMnが光化学系IIの反応中心に組み込まれることから、この反応には光が必須であり、暗所で生育させた子葉の葉緑体はこのMnを欠くために酸素発生能を持たない可能性が示唆された．今後は、それぞれの光化学系II標品の構成タンパク質を分析し、チラコイド膜構築の分子機構に関する新たな知見を得たいと考えている．

1Fa04

光合成酸素発生能光活性化の効率決定因子

徳富光恵、井上頼直　（理研・太陽光科学）

光合成酸素発生系のMnクラスターは、NH_2OH処理で解体され酸素発生能が失われる。Mnクラスターを解体させた酸素発生系にMn^{2+}を添加し光を照射すると、Mnクラスターが再構成され酸素発生能が回復する。この酸素発生能光活性化の過程には補助因子としてCa^{2+}とCl^-が必要であり、また光化学系II電子受容体DCIPが酸素発生能の回復を増大させることがわかっている。本研究では、NH_2OH処理を施したコムギ光化学系II粒子を用い、閃光照射下での光活性化の効率に対するMn^{2+}, Cl^-およびDCIPの効果を検討した。

閃光による光活性化の効率は閃光間隔によって異なり、閃光間隔をひろげていくと光活性化効率は徐々に増大し最大値に達した後低下する。この光活性化効率の増大と低下はそれぞれMnクラスター中間体の形成速度と消滅速度に対応すると考えられている。系II粒子を20 mM Ca^{2+}/150 mM Cl^-/10 μM DCIPに懸濁しMn^{2+}濃度を増していくと、閃光間隔依存性は変化せずにすべての閃光間隔で光活性化効率が増大した。Cl^-濃度を増加させたときも同様の効果がみられた。このことはMn^{2+}とCl^-が中間体の生成速度・消滅速度を変化させずに中間体の生成量を増大させることを示している。光活性化のMn^{2+}濃度依存性に対するCl^-の効果を調べた実験で、Cl^-がMn^{2+}結合の解離定数を1.7 mMから23 μMに減少させることがわかり、Cl^-がMn^{2+}の結合力を増大させることが示唆された。一方、DCIPは閃光間隔依存性を変化させることがわかった。DCIP非存在下では、閃光間隔4秒で光活性化が最大であったが、5 μM DCIPを添加すると閃光間隔依存性は変化せずに光活性化効率が約2倍に増大した。DCIP濃度をさらに増加させると短い閃光間隔での光活性化効率は変わらなかったが、長い閃光間隔での効率が低下し、みかけ上最適閃光間隔が短くなった。このことは高濃度のDCIPが中間体の消滅を促進することを示している。

光活性化効率は3.0 mM Mn^{2+}/20 mM Ca^{2+}/1200 mM Cl^-/5 μM DCIP、閃光間隔2～4秒で最大となったが、この条件下でも酸素発生能をほぼ完全に回復させるためには150～200発の閃光が必要であった。光活性化条件での閃光照射によるDCIPの還元量を測定した実験で、DCIP還元の量子収率は5%以下であることがわかり、光活性化の量子収率が低いのは光活性化に有効な電子伝達反応の量子収率が低いためである可能性が示唆された。

1Fa05 酸素発生系Ｍｎの酸化還元滴定

磯貝泰弘・西村光雄[1]（理研・生体物理化学，[1]九大・理・生物）

光化学系Ⅱ(PSⅡ)反応中心における光化学反応によって生じる強い酸化力は，酸素発生系の活性中心に蓄積され，２分子の水を酸化し分子状酸素を発生する。現在，酸素発生系の活性中心には４原子のＭｎが存在すると考えられている。しかし，これまでのところ，多くの分光学的研究にもにもかかわらず，酸素発生系Ｍｎセンターの化学的実体は明らかにされていない。 本研究では，Ｍｎの PSⅡからの解離に関して酸化還元滴定を行ない，Ｍｎセンターの状態について新しい情報を得た。

我々はまず，ホウレンソウ葉緑体から調製したPSⅡ粒子を材料として，Ｍｎの結合に対する還元剤および酸化還元メディエーターの効果を調べた。その結果，PSⅡ粒子に結合する膜表在性蛋白質を除去した$CaCl_2$-処理PSⅡ粒子では $Na_2S_2O_4$ およびmethyl viologenの添加によって，結合するほとんどすべてのＭｎが，膜から遊離してくることがわかった。そこで我々は，$CaCl_2$-処理PSⅡ粒子および種々のメディエーターを含む溶液の酸化還元電位(Ｅｈ)を測定しながら，還元剤の添加によって遊離してくるＭｎの量を調べた。その結果，ｐＨ６で（標準水素電極に対して）２５０mV および -１１０mV の中点電位(Ｅｍ)をもち，PSⅡ粒子に結合するＭｎの全量に対して，それぞれ６０％および４０％に対応する２つの成分が観察された。またその滴定曲線から，どちらの成分も１電子酸化還元をおこなっていることがわかった。各成分のＥｍ は，ｐＨによって大きく変化し，６より小さいｐＨの領域で，-３００mV／unit のｐＨ依存性を示した。ｐＨが６より大きい領域では，Ｅｍ のｐＨ依存性は小さくなった。また，還元剤の添加によって$CaCl_2$-処理PSⅡ粒子の酸素発生活性は阻害され，活性のＥｈ に対する依存性を調べると，Ｍｎの遊離の場合とほぼ同様な滴定曲線が得られた。

以上の事実から，還元剤によるＭｎの遊離の過程には，(酸性ｐＨで)５つの水素イオンの取り込みを伴う１電子還元反応が含まれていることが示唆された。また，Ｍｎの遊離に対するｐＫが６付近にあることから，Ｍｎセンターのリガンドにはヒスチジン残基が含まれている可能性も示された。講演では，Ｍｎの遊離に伴う酸化還元反応の機構について考察し，実験結果をうまく説明するＭｎクラスターの構造について議論したい。

1Fa06

系II粒子の酸処理におけるMnと表在性蛋白の脱離・再結合とS-state遷移の阻害

沈建仁・徳富光恵・井上賴直　（理研・太陽光科学）

系IIの酸素発生反応は高濃度のNaCl処理またはpH3.0での処理により失活し，いずれの場合でも失活した活性はCaイオンの添加によって特異的に回復する。このCaの回復効果については系IIに結合しているCaの脱離・再結合によるものとする説とそうでないとする説があり，まだ決着していないが，NaCl処理が表在性の23と17 kDa蛋白を脱離させるのとは異なり，酸性処理は表在性蛋白を遊離させないと考えられてきた。しかし，私たちは酸性処理中に表在性蛋白が脱離し，そして脱離した蛋白質はpHを中性に戻すことにより再結合することを見いだしたので報告する。

ホウレンソウからの系II膜標品（BBY粒子）をpH3.0で5分間処理し，そのまま1分間遠心すると，表在性の23,17 kDa蛋白の全部と33 kDa蛋白の一部が脱離した。pH3.0で処理した系II粒子を遠心せずに中性に戻した場合には表在性蛋白が失われていないので，これらの蛋白質は酸性処理中に脱離し，pHを中性に戻すことにより再結合したことになる。従って酸処理もNaCl処理と同じように表在性の23,17 kDa蛋白を脱離させる効果があることが分かった。EDTA存在下での光照射NaCl処理がdark-stableのS_2-stateを生じさせることが知られているので，酸処理中の光照射の影響を調べた。光照射しながら酸処理した標品の酸素発生活性がCa添加により暗所で処理した標品と同じレベルに回復するが，Ca無添加の場合，やはりdark-stableのS_2が生成することが熱発光の測定から推定された。これらの結果は酸処理が光照射NaCl処理と同じ阻害効果をもたらすことを示す。

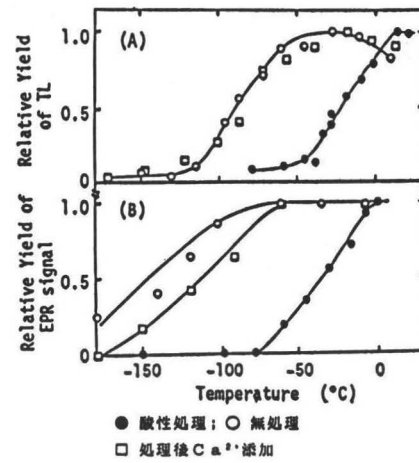
酸処理の時間をより長くした場合，33 kDa蛋白も徐々に脱離し，30分間の処理で約1／3に減少した。これに伴い，系IIに結合している4原子Mnの2原子近くが脱離し，酸処理がMnクラスターに直接影響を及ぼしていることが示唆された。Mn原子2個の脱離と33 kDa蛋白の脱離との間にはよい相関関係が見られたが，pH3.0で処理した系II粒子を中性に戻した場合，33 kDa蛋白は再結合するが脱離したMnは再結合できなかった。これは33 kDa蛋白が4原子Mnのうちの2個を安定化させているがMn原子と直接は結合しないというこれまでの結果と一致する。

1Fa07　酸性処理によるS－ｓｔａｔｅ遷移閾温度の上昇

小野高明，°井上頼直　（理研・太陽光科学）

高等植物の光化学系II（ＢＢＹ粒子）を酸性処理（ｐＨ３．０，０℃５分間）すると，反応中心当り２原子含まれているＣａの１個が脱離すると同時にO_2発生能がほぼ完全に失活するが，Ca^{2+}の添加によって８０％以上の活性が回復する．熱発光グローカーブの形状及び閃光照射時の振動パタン，ならびに低温ＥＰＲスペクトルの解析から，O_2発生の失活の原因は第一閃光によって形成されるS_2に異常が生じ，そのために$S_2 \rightarrow S_3$遷移が不可能になったためと結論された．これらの異常は全てCa^{2+}の添加によって完全に回復されるので，酸処理はＣａの脱離によってこれらの異常を引き起こし，その結果としてO_2発生を失活せしめるものと解釈されるが，この解釈には Shen, Katoh による反論もあり，今後の決着を待たねばならない．

この研究の途上で我々は，酸処理を受けた系II粒子では，$S_1 \rightarrow S_2$の温度依存性(閾温度)が顕著に変化していることを見出した．即ち正常な系II粒子では閃光１発照射による$S_2Q_B^-$電荷対の生成が－４０℃では正常に起こり，それ以下の低温領域で徐々に低温阻害が顕著となって－１２０℃で完全阻害に至るのに対して，酸処理系II粒子では同電荷対の生成がすでに０℃で僅かに阻害されはじめ，－４０℃でほぼ完全に停止してしまう．同様の結果が S_2-state に特異的なＥＰＲマルチラインシグナルについても観察された．そもそも従来の見解では酸性処理系II粒子はマルチラインシグナルを示さないとされていたが，それはこの信号を誘導するための標準条件(２００Ｋで連続照射)に限定されており温度を－５℃にまで上昇させると，酸性処理標品であるにも拘らずマルチラインが誘導されることが判明した．但し，こうして高温で誘導されたマルチラインは線幅が狭く変形しており，以後の遷移を起こせない．Ｃａの添加でなく単なる温度の上昇によってＥＰＲ信号が誘導されたことは，Ｃａの機能が本来的なものであれ人為的なものであれ，系IIのＭｎ周辺の構造的要因をＣａが支配していることを示唆するものと考えられる．



1Fa08

光化学系IIコア標品での水分解系の再構築

田村　典明、蒲池　浩之、穂苅　伸之、井上　弘
（富山大・理・生物）

光化学系IIの酸化側に位置する水分解系が、少なくとも光化学系II反応中心であるD1・D2タンパク質上に存在することが定説化されつつある。しかし、水分解能を持って単離された最小の標品は、現在のところ、D1/D2タンパク質以外にも4種のタンパク質(47kDa/43kDa/33kDa/ｻﾄｸﾛﾑb559)からなることが知られている。そこで、我々は、水分解系の最小単位を知るために、マンガンを欠いた標品にマンガンを再結合させ酸素発生能を回復（活性化）させることを試みた。

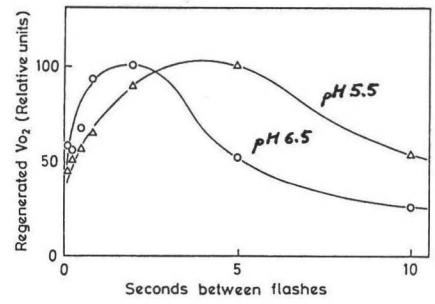
再活性化には、1)Vernonの方法により単離した、5種のタンパク質からなるTSFIIa(Core complex)、2) 1)の標品をDEAE-Sephadexやショ糖密度勾配遠心にかけより純化した標品、3)Nanba & Satoh の方法に準拠して得られた47kDa/D1/D2/ｻﾄｸﾛﾑb559 の4種のタンパク質からなる標品(Sub-core complex)，を用いた。再活性化の条件は、以前に報告した方法に準拠した。

TSFIIaやSub-core complex の再活性化には、NH_2OH処理した系II標品(NH_2OH-TMF2)同様、弱光照射を必要とした。　現在までの結果を表1に示す。我々は、DPCを電子供与体として用いた時のDCIP光還元反応に対するMn^{2+}の阻害定数(Ki)を、マンガン配位部位へのその結合の指標として用いている。TSFIIa はNH_2OH-TMF2に比べKiが5倍ほど増加し、処理によりマンガンの配位部位が修飾されていることが予想された。事実、再活性化のpH依存性は酸性側にシフトし、至適pHは5.5となった。また、再活性化の際、弱い連続光の代わりに閃光照射した場合、至適の閃光間の暗時間が今まで知られていたものより長いことが分かった（図1）。より厳しい処理を施したSub-core complex では、著しいKiの増加がみられ、再活性化されるセンターの数は減少した。現在、再活性化の効率を向上させるため、標品の単離方法および再活性化の条件を検討中である。

表 1

Preparations	Ki for Mn^{2+} (μM)	Regenerated Vo_2 (μmolO_2/mgChl·h)
A. NH_2OH-TMF2	0.1-0.3	200-400
A. Tris-TMF2	0.1-0.3	150-300
B. TSFIIa	1.0-1.2	150-200
↳ (DEAE)	—	22
↳ (sucrose density)	~2.0	10-30
C. Sub-core complex	16-20	5-10

図 1



1Fa09

化学修飾による３３ｋＤａタンパク質の酸素発生複合体への結合部位の研究

植木潤、和田敬四郎 （金沢大・理・生物）

光化学系Ⅱ酸素発生複合体の３３ｋＤａタンパク質は、酸素発生に不可欠でマンガンの保持とＳ状態の遷移に関わっているが、具体的な作用機構は明らかにされていない。今回我々は、このタンパク質の作用を知るためのアプローチとして、化学修飾の手法を用いて３３ｋＤａタンパク質のどの部分が複合体への結合に関与しているかを明らかにしようとした。ＮａＣｌ処理で２３，１８ｋＤａタンパク質を除去した光化学系Ⅱ粒子を求核性試薬（グリシンメチルエステル）存在下で、水溶性カルボジイミドである１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣ）と反応させた。修飾が進行するにつれて、複合体からの３３ｋＤａタンパク質の離脱が顕著となるが、一定時間後にまだ結合している３３ｋＤａタンパク質を$CaCl_2$処理ではずしたところ、約１０残基が修飾されていた。遊離状態の３３ｋＤａタンパク質は同じ条件で約２０残基修飾され、反応時間を延長しても修飾はそれ以上は進行しなかった。再構成実験では、前者は未処理のものにちかい酸素発生活性の回復を示したが、後者ではほとんど回復を示さなかった。これらの修飾タンパク質を種々のタンパク質分解酵素で断片化し、修飾カルボキシル基の位置を決定した。遊離状態の時のみ、修飾されている残基が１２あり、これらは３３ｋＤａタンパク質が酸素発生複合体に結合していることによって、修飾試薬と接触し得なかったものであろう。すなわち、結合に関与していたか、もしくは結合面にあったカルボキシル基であると推測できる。これらのカルボキシル基が一次構造上比較的集中している領域が３つある。そのうち二つは種間での相同性の高い領域で、複合体への結合に直接・間接に関わっている部分と考えられる。またこの領域には酸素発生反応に重要な部位があるかもしれない。

1Fa10

光化学系２コア複合体の酸素発生能に対するリジルエンドペプチターゼ処理の効果

藤村洋子、P. Mohanty 、村田紀夫 （基生研）

光合成の光化学系２（系２）における酸素の発生のメカニズムは、系２の構造と構成成分の機能の両面から研究がすすめられている。沈内らの方法（１９８５，１９８６）に従い、ホウレンソウ成葉から調製した「系２コア複合体」を用いて、各タンパク質の機能を検討した。

系２コア複合体はＬＨＣＰを欠いた標品であり、内在性のD_1, D_2, Cytb559, CP47, CP43と表在性の33kDタンパク質からなり、Ca^{2+}イオンと、Cl^-イオンの存在下で、1000 μmol O_2 / mg·chl·hr の高い酸素発生能力をもっている。これを 3M UREA 0.2M NaClで処理することによって、表在性33kDタンパク質をとり除くことができる。この33kDタンパク質を欠いた系２コア複合体も、Ca^{2+}イオン、Cl^-イオンの存在下で、酸素発生能力をもっており、その活性は系２コア複合体の 約40～50%である。

33kDタンパク質を欠いた系２コア複合体をリジルエンドペプチターゼで４時間処理し（pH 7.5, 20℃） 各タンパク質の分解と 複合体の酸素発生能力との相関，および表在性33kDタンパク質の複合体への再結合能の変化を調べた。

すでに知られているアミノ酸配列からわかるように、D_1, Cytb559 タンパク質はリシン残基をもたず、D_2 タンパク質は２個のリシン残基を持つ。これに対してCP47とCP43は各13個のリシン残基を持つ。このため、リジルエンドペプチターゼは、CP47、CP43タンパク質を分解した。したがって、リジルエンドペプチターゼによる分解から、CP47 CP43 タンパク質の働きを調べることができた。

33kDタンパク質を欠いた系２コア複合体をリジルエンドペプチターゼ 38μg/ml で４時間処理したところ、CP47の70%、CP43の90%が分解した。しかし 100mM NaCl, 10mM $CaCl_2$存在下で測定した酸素発生能には差がみられなかった。また33kDタンパク質の再結合にも差がみられなかった。これらの事実は酸素発生に重要な役割をはたすMnクラスターおよび33kDタンパク質の再結合部位が、D_1, D_2, Cytb559複合体の近傍にあることを示唆している。

1Fa11

Betaine Protection of Oxygen-evolving Activity of Photosystem II

Mohanty, P., Papageorgiou, G.C., Fujimura, Y. and Murata, N. National Institute for Basic Biology

The photosystem II complex of the oxygenic photosynthetic plants, composed of several proteins, pigments and lipids, is embedded in the thylakoid membrane and is the site of photochemical and electron transfer processes that lead to O_2 evolution and to the reduction of plastoquinone. Except for three proteins all the proteins of photosystem II span the membrane. The three exceptional proteins with molecular masses of 17 kDa, 23 kDa and 33 kDa are attached extrinsically to the lumen side of the photosystem II complex.

Highly active photosystem II complexes can be isolated after treating thylakoid membranes with detergents. Moreover, by combining further detergent treatment, ion-exchange chromatography and washes with concentrated electrolyte solutions it became possible to isolate photoactive photosystem II complexes that lack various components, such as the antenna polypeptides, the extrinsic proteins and the chlorophyll-binding core proteins.

Removal of the extrinsic proteins from isolated photosystem II complexes inhibits O_2 evolution, but this activity is restored by adding millimolar levels of Ca^{2+} and Cl^- ions to the suspension. Photosystem II complexes depleted of the extrinsic protein become unstable and are inactivated within a short time at room temperature.

In this work, we have examined whether high concentrations of glycine betaine protect photosystem II particles, lacking or not the extrinsic proteins, against inactivation. In the presence of 1.2 M betaine, the dissociation of the 18 kDa and the 23-kDa extrinsic proteins by washing with 1.0 M NaCl was reduced. Similarly, betaine protected the photosystem II particles against dissociation of the Mn-stabilizing extrinsic 33-kDa protein by 1.0 M $CaCl_2$ or by 3 M urea plus 0.2 M NaCl.

Dark incubation of photosystem II particles at 25°C for 3 hr inactivates the O_2 evolution by 75%. The presence of 1 M betaine during incubation substantially reduced the extent of this inactivation. These results suggest that high concentration of glycine betaine can protect the O_2 evolution activity of isolated photosystem II particles.

1Fa12

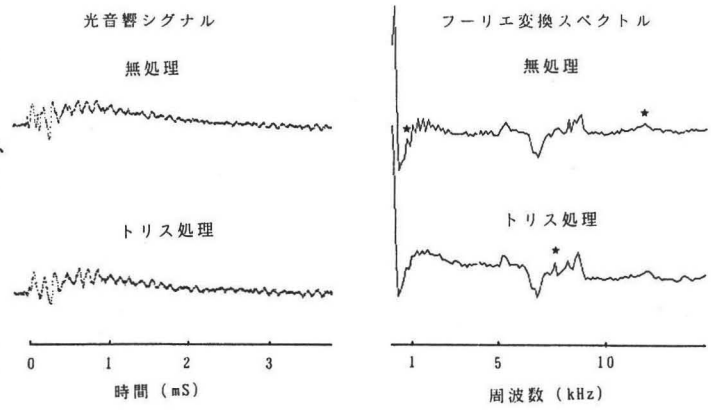
パルス光音響法による酸素発生機構の解析

森宏樹、高橋正昭（甲南大・理・生物）

酸素発生は光化学反応中心の4 回のターンオーバーで一周する周期性を示す。プロトンの解離、熱発光、ＥＰＲ、紫外吸収などの変化にも周期性がある。これらは酸素発生機構を知るための貴重な情報となっている。本研究では、パルス光音響法を用いてＳ状態の進行に伴う熱発生を測定し、周期的な変動のパターンより酸素発生機構の解明を試みた。

【方法】 ロ紙に吸収させた100 μl のホウレンソウＰＳⅡ膜（0.5 mg Chl/ml）を気密の光音響セルに置き、6 μS の白色閃光を照射（4 S 間隔）して発生する光音響をマイクロフォンで集音した。増幅したマイクロフォン出力を、ディジタルメモリースコープを通じて、パソコンに導入した。8 閃光を1シリーズとし、10 試料のデータを、試料以外から発する光音響を差し引いて、各閃光毎に積算平均した。

【結果】 ＰＳⅡ膜はパルス励起によって誘導された約5 mS の光音響を発する（下図、左上）。この信号は500 Hz から10 kHz の光音響に分離することができ、ＰＳⅡの熱発生より、速度の異なる、逐次的な種々の反応が解析できた（右上）。880 Hz、および、12.6 kHz の光音響（★印）を出す熱発生が、閃光回数によって変動し、4 閃光を周期として繰り返すことが判明した。各閃光後の熱発生量は、第１≧第４＞第３の順であり、第２閃光後はほとんど熱発生はなかった。すなわち、Ｓ状態の変化はすべてエネルギー的に異なり、$S_2 \rightarrow S_3$の変化が最も進みにくいが、$S_1 \rightarrow S_2$、$S_0 \rightarrow S_1$は容易に進むと推定した。一方、トリス処理ＰＳⅡ膜では、880 Hz、12.6 kHzの光音響の周期性は無くなり、★印で示された8.25 kHzの光音響が新たに認められ、酸素発生活性を失った結果余剰となったエネルギーが早い反応で放出されていた。



一 般 講 演

第１日　３月28日(水)　午後の部

A会場　タンパク質・酵素
B会場　生体膜
C会場　分子生物学Ⅱ
D会場　組織培養
E会場　成長調節物質
F会場　光化学系Ⅱ

1Ap01

ジャガイモ塊茎において細胞内存在部位を異にする２種のホスホリラーゼ・アイソザイム

森博幸、中野憲一、谷澤克行、福井俊郎　（阪大・産研）

α－グルカンホスホリラーゼは、糖鎖非還元末端へのグルコシル基の転移を触媒する酵素で、糖代謝におけるキーエンザムとして広く生物界に分布している。高等植物においては、細胞内での局在性を異にするアイソザイムの存在が知られている。我々は、ジャガイモの塊茎と葉より、各々２種のアイソザイムを精製し、その性質を比較した。これらの組織には、グリコーゲンに対して高い親和性を持つＨ型と、その約１／１０００の低い親和性しか持たないＬ型の２種のアイソザイムが存在する。また、Ｈ型アイソザイムはプラスチドに、Ｌ型アイソザイムは細胞質に各々局在していることが示されている。ここでは、これら両アイソザイムの生理的な役割を明らかにするための第一段階として、これら２種のホスホリラーゼ・アイソザイムのクローニングと構造解析を行なった。

タンパク化学的に決定されたＬ型とＨ型アイソザイムの部分アミノ酸配列より、各々２種のオリゴヌクレオチドをデザインした。これらをプローブとして、未熟ジャガイモ塊茎より調製したｃＤＮＡライブラリーのスクリーニングを行い、各アイソザイムをコードするｃＤＮＡを単離した。得られたＬ型、Ｈ型アイソザイムをコードするクローンは、それぞれ９６６残基、８３８残基より成るＯＲＦを含んでいた。Ｌ型アイソザイムの成熟タンパク質部分の９１６残基は、先に当研究室でタンパク化学的に決定された全一次構造と完全に一致した。これら両アイソザイムの予想アミノ酸配列の間には、２つの明かな違いが見い出された。１）Ｌ型アイソザイムのみがアミノ末端側延長配列を持ち、その配列は、クロロプラスト局在性タンパク質の延長配列と同様、塩基性アミノ酸、水酸基を持つアミノ酸に富んでいる。２）Ｌ型アイソザイムには、ペプチド鎖の中央部分に７８残基から成る挿入配列が存在する。ジャガイモ塊茎両アイソザイムに見られるこれら２つの構造的相違点は、それぞれ細胞内局在性とグリコーゲンに対する親和性の相違に直接的に関連するものと考えられる。また、両アイソザイム間には、挿入配列と延長配列を除いて６３％の相同性が見られ、活性部位周辺の配列は完全に保存されていた。

1Ap02

ヤエナリ液胞膜H^+-ATPaseの低温傷害

° 遠藤千絵・前島正義・吉田静夫（北大・低温研）

［はじめに］ヤエナリは低温傷害を受けやすい代表的な植物である。黄化実生を低温下（0 ℃）におくと、低温傷害反応は可逆的な初期段階（24時間）を経て、不可逆的な段階へと進行する（72時間後）。初期段階では、組織の呼吸活性、タンパク質・脂質の合成活性等が可逆的に低下するとともに、液胞膜H^+-ATPaseの活性も著しく低下する[1]。本研究では、植物細胞の低温傷害を液胞膜H^+-ATPase分子に着目して解析した。液胞膜H^+-ATPaseは液胞膜タンパク質の主要構成成分であり、９種類のサブユニット（分子サイズ:68, 57, 44, 38, 37, 32, 16, 13, 12 kDa）で構成されている[2]。低温処理過程での変化を、ATPの加水分解活性、H^+輸送活性、各サブユニットの量について解析し、いくつかの興味ある知見を得た。

［実験方法および結果］発芽３.５日目のヤエナリ実生を０℃で１日あるいは３日間処理した後、下胚軸より液胞膜を単離し、液胞膜画分での解析を行い次の結果を得た。(1)全ATPase活性は低温処理１日及び３日で、それぞれ６０％，２５％に低下し、ATP依存のH^+輸送活性はより著しく低下した。(2)液胞膜タンパク質あたりのATPase活性は低温処理３日間で半減した。膜タンパク質のSDS/PAGEによる解析はATPaseの選択的な消失を示唆した。次に液胞膜からATPaseを精製し、活性とサブユニット量比の変化を解析したところ、(3)ATPaseの比活性は、低温処理により１日および３日で、それぞれ７０％，６５％に低下していた。(4)さらに、処理３日目の組織から精製した酵素では、32KDaのサブユニットが減少していた。これらの結果から、低温処理にともなう液胞膜H^+-ATPaseの活性の低下は次の２つの要因、すなわち、ATPase分子の量的な減少と、ATPase分子自体の機能低下によるものと判断した。現在これらの点を、サブユニットに対する特異抗体等を用いて定量的に解析している。さらに、32KDaのサブユニットの欠落と酵素分子の機能損失についても論議したい。

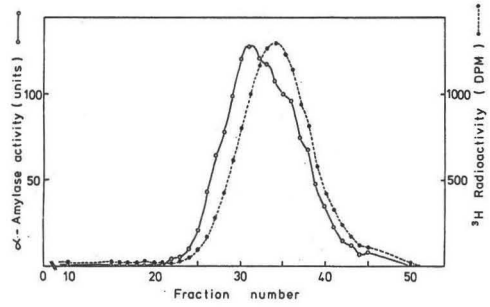
1) Yoshida,S., Matsuura,C. and Etani,S.(1989) Plant Physiol.89:634-642.

2) Matsuura-Endo,C., Maeshima,M. and Yoshida,S.(1990) Eur.J.Biochem.in press.

1Ap03 オーキシンにより誘導されるエンドウ子葉α-アミラーゼのde novo合成

° 平澤栄次，山本進（大阪市大・理・生物）

昨年度本大会において，エンドウ子葉中のα-アミラーゼ活性がオーキシン処理により顕著に上昇することを報告した[1]。今回オーキシン誘導α-アミラーゼを精製し，その諸性質を調べるとともに，本酵素のde novo合成について検討した。抽出液中のα-アミラーゼはヨウ素デンプン検出法によるPAGEでは主要バンドのみがオーキシンで誘導され，この活性は70℃，10分間の熱処理では安定であり。EDTAにより阻害された。切除子葉を10^{-4}M 2.4-Dで3日間培養後，0.2M Tris-HCl（pH 7.2），30mM $CaCl_2$で破砕抽出し，70℃に熱処理，30－65%硫安分画，バレイショデンプンカラム，β-シクロデキストリンセファロース6Bカラムにより，PAGEで単一標品に精製し，比活性は600倍であった。精製酵素はSDS-PAGEで単一バンドを示し，MW 41000であり，Bio Gel P200カラムではMW 42000の画分に溶出された。精製酵素90μgのPAGEバンドをPAS染色した時，糖質は検出されず，IE-PAGEでのpIは5,85であった。次に同じ乾重の胚切除子葉に，それぞれ同量の^{3}H-ロイシンを吸収させた後，一方は水，他方は2.4-Dで培養後，精製しPAGEを行なった時，酵素活性に比例した放射活性がα-アミラーゼバンドで検出された。オーキシン処理子葉において，一方をH_2O，他方をD_2O 75%で培養後，破砕抽出液をCsCl密度勾配法で遠心した時，H_2OとD_2Oの酵素活性のピークはそれぞれ1.318 g/cm³（Fr. Nr 35）と，1.334（同32）を示した。つづいて同じく75% D_2Oで4日間培養した子葉（2g）と，^{3}H-ロイシン処理後H_2Oで3日間の子葉（3g）を同時に破砕抽出し精製後，CsClで同じく遠心した時，酵素活性のピークは放射活性よりFr. Nr 3本分比重の重い方へ移動した。これらの結果よりオーキシン誘導α-アミラーゼはde novoに合成されると考えられる。



1. Hirasawa E.（1989）Plant Physiol. 91 484-486

1Ap04

Ｅｎｄｏ型，Ｅｘｏ型ポリガラクチュロナーゼの定量法

田中敬一、石沢ゆり（農水省果樹試）

高等植物にはペクチンを分解する酵素であるポリガラクチュロナーゼが広く分布していることが知られ、細胞壁の物理的、化学的性状の変化に大きな役割を果たしている。例えば、トマト、西洋ナシ、モモ等の肉質は急激に軟化し、ポリガラクチュロナーゼ活性が増加するために軟化と関係があるのではないかと考えられている。従来、活性測定には還元糖をSomogyi-Nelson法、反応液の粘度の低下を粘度計で測定し、ＴＬＣの結果と組合せてエンド型かエキソ型かの判定を行ってきた。今回、ポリガラクチュロナーゼ活性測定法を改良し、簡便かつ精度良くエキソ型かエンド型かを識別する方法を開発したので報告する。

ポリガラクチュロン酸の分解物を酸を用いて遠心沈殿させたところ重合度の高い物質から順に沈殿することが分った（第１図）。そこで、基質のみを沈殿させ上澄液の還元糖含量とオリゴガラクチュロン酸含量を測定することにより、上澄液中の重合度比を求め、エキソ型かエンド型かを識別出来ると考えられた。

市販品を精製した１％ポリガラクチュロン酸（シグマ）20μlにポリガラクチュロナーゼ（シグマ）を含んだ酵素液780μlを加え、３０秒間反応させた後、３分間沸騰水中で反応を止めた後、６Ｎ硫酸10μlを加えて溶液を酸性にし、16,000rpmで３０分間遠心し、上澄液中の還元糖をSomogyi-Nelson法及び１／１０希釈液中のウロン酸をBitter-Muir法で測定した。その結果、Somogyi-Nelson法によるポリガラクチュロン酸分解率は３７％、Bitter-Muir法による分解率は９５％であった。また、重合度比（ウロン酸含量／還元糖含量）は２．６でエンド型であると判定された。この結果は、ＴＬＣの結果と良く一致した。

第１図 ポリガラクチュロン酸分解物のＴＬＣ

要約すると1)ポリガラクチュロナーゼ活性の測定にBitter-Muir法を用いることにより従来法と比較して数倍感度が向上した。2)粘度法によらずにエキソ型かエンド型かの識別が可能になり、判定のための分析時間が短縮された。3)ポリガラクチュロン酸の分解率の測定が可能になった。

1Ap05

イネ培養細胞由来のβ-Glucan Synthase

○栗林郁夫、木村信、伊賀上郁夫[1]
(新潟大・自然科学研究科、[1]新潟大・農・農化)

植物細胞壁合成酵素Glucan Synthase(GS)には、GS-Ⅰ(β-1,4-Glucosyltransferase)と、GS-Ⅱ(β-1,3-Glucosyltransferase)の2種類があるとされている。我々は、イネ培養細胞からGS-Ⅰ,GS-Ⅱの酵素活性を見いだし、その諸性質を比較、検討した。Linsmaier-Skoog液体培地により培養したイネカルスを、50mM Tris-HCl buffer,0.5M Mannitolにより homogenizeした後、遠心10,000×g,10min.で不純物除去。上澄を100,000×g,60min.の超遠心にかけ、得られた沈澱をTris-HCl buffer(without Mannitol)により suspendし、再度100,000×g,60min.で超遠心して得られたマイクロソーム画分を粗酵素液として用いた。酵素活性は、UDP-〔^{14}C〕-Glcから転移された〔^{14}C〕-Glcの量を液体シンチレーションカウンターにより測定して求めた。GS-Ⅰは細胞内オルガネラに、GS-Ⅱは細胞膜に存在すると報告されているが、イネ細胞の場合も、グリセロール密度勾配遠心(glycerol 30～80%)による分画の結果、GS-Ⅰはゴルジ体局在性酵素IDP-aseと、GS-Ⅱは細胞膜局在性酵素ATP-aseと、活性ピークの一致を見た。GS-ⅠのKm値は4.4μM、GS-ⅡのKm値は3.0mMであった。GS-Ⅰの活性にはMg^{2+}又はCa^{2+}が必要である。GS-ⅡはMg^{2+},Ca^{2+}がなくとも活性を示すが、添加すれば活性を促進する。pH-optimumは共にpH,8.0であった(但し、GS-ⅠはGS-ⅡほどpHに影響されない)。ヌクレオチドは種類、濃度によってGlucan Synthaseの活性にさまざまな効果を及ぼす。例えば、GDPはGS-Ⅰの活性は促進するがGS-Ⅱの活性は阻害するなど、いくつかのヌクレオチドは両酵素に対して異なる効果を示した。現在、両膜酵素の可溶化について検討中である。

1Ap06 トウモロコシ葉の可溶性画分に存在するプロテアーゼ

古谷善明，高宮建一郎，（九州大・理・生物）

［序］ 植物におけるプロテアーゼの役割は，1）発芽時の種子中の貯蔵タンパクを分解してアミノ酸を供給する，2）生長，成熟時における生体中のタンパク質の代謝回転をおこなう，3）葉のセネセンス時にタンパク質をすみやかに分解しアミノ酸を回収する，等が考えられている。しかし，種子のプロテアーゼを除いては，上記の役割と明かな対応が示されたプロテアーゼの報告は少ない。我々は植物のオルガネラの消長に関係するプロテアーゼを探索する第一歩として，トウモロコシ成葉の可溶性画分に含まれるプロテアーゼの性質について調べたのでその結果を報告する。

［方法］ トウモロコシの成葉を細かく切り，50 mM Tricine/NaOH (pH 7.8, 2 mM $MgCl_2$, 0.4 M Sucrose)を加えてホモジナイザー（バイオトロン）で破砕した。破砕物を 220000xg 2 時間遠心し，上清を粗抽出物として用いた。プロテアーゼの活性は，粗抽出物を種々の条件下でインキュベートし，100°C 加熱で反応を止めた後 SDS-PAGE をおこない，注目するバンドの消失で調べた。通常，基質としては粗抽出物中の可溶性タンパク質をそのまま用いたが，時にはホウレンソウの RubisCO を基質としてくわえた。

結果：粗抽出物を 2% SDS，5% メルカプトエタノール存在下でインキュベート後 SDS-PAGEを行なうと，インキュベーションの前に 100°C 加熱処理したものに比べ，高分子側の，RubisCO 大サブユニットを含む多数のバンドが消失し，低分子側（1-2 万）に多くのバンドが出現した。このプロテアーゼ活性は，SDS，メルカプトエタノールに依存し，至適濃度はそれぞれ 1-2% と 2-5% であった。この活性はモノヨード酢酸，ロイペプチンで阻害されたが，PMSF，TLCK，TPCK では阻害されなかった。また，Cu^{++}，Hg^{++}，Zn^{++} によっても阻害されなかった。この活性の至適 pH は 6.0 であった。このプロテアーゼは BSA を消化しなかったが，ホウレンソウ RubisCO を消化した。以上の結果より，粗抽出物に含まれるプロテアーゼは SH 酵素であると考えられる。このプロテアーゼは，分画分子量 5 万のメンブレンフィルターで限外濾過されなかった。部分精製の結果，このプロテアーゼは酸性タンパクであることが示された。同様な酵素活性が黄化葉の抽出物中にもみられた。今回報告したトウモロコシのプロテアーゼは，土井らの報告した peptide hydrolase[1] の性質と部分的に似ているが至適 pH などが異なっている。なお，昨年度の本大会で横田ら[2]は，イネの成葉抽出物に今回のプロテアーゼに似たプロテアーゼの存在を報告している。

1. Doi, M., Shioi, Y. and Sasa, T. (1986) Arch. Biochem. Biophys. 250, 358-363
2. 横田 聡，前 忠彦，牧野 周，小島 邦彦 (1989) 日本植物生理学会 1989 年度 年会 講演要旨 p.326

1Ap07 光化学系Ⅱ膜のジチオスレイトール感受性４量体プロテアーテアーゼの性質

桑原　朋彦（東邦大・理・生物分子）

膜結合型のプロテアーゼは一般に膜タンパク質のプロセシングあるいはターンオーバーに関わっていると考えられる．チラコイド膜にも数種のプロテアーゼが存在することが直接あるいは間接的に示されているが，精製されポリペプチドとして同定されているものは数少ない．我々は，ホウレンソウの光化学系Ⅱ膜から４量体（単量体のサイズは 39 kDa）のプロテアーゼを精製し，昨年の本大会で報告した．本研究では，このプロテアーゼの諸性質を報告する．

［方法］　Triton X-100 を用いて調製した光化学系Ⅱ膜から，1M NaCl でプロテアーゼを抽出し，疎水性，陰イオン交換およびゲルろ過クロマトグラフィーにより精製した．酵素反応は，水-酸化系の 18-kDa タンパク質を基質とし，酵素ー基質混合液を 10 mM HEPES-NaOH (pH 7.0) に透析（室温）することにより行われた．透析物を SDS-PAGE にかけて基質の分解を検出した．阻害剤の効果は，酵素を 10 mM 阻害剤/0.45 M NaCl/18 mM Na phosphate (pH 6.5) 中でインキュベート（20°C, 90 min）後，1 mM 阻害剤を含む溶液に透析して調べられた．但し，微生物由来の阻害剤の場合にはインキュベーションによる阻害剤処理（1-10 mM）のみで，透析外液は阻害剤を含まなかった．

［結果と考察］　（１）DTT の効果－－本プロテアーゼは SDS-PAGE において，SH 還元剤処理なしでは 39 kDa であったが，DTT による還元により 41 kDa にシフトした．この結果は，単量体が分子内ジスルフィド結合を有し，その還元がコンフォメーション変化を引きおこして実質的な分子サイズを増大させることを示唆している．DTT は酵素反応を阻害した．このことからジスルフィド結合によって維持されるコンフォメーションが活性に必須であることが示された．（２）イオン強度の効果－－透析外液に NaCl を加えてイオン強度の効果を調べた．10 mM HEPES-NaOH (pH 7.0) 存在下では活性は，2 mM NaCl までは影響されなかったが，5 mM NaCl で阻害されはじめ，50 mM NaCl でほぼ完全に阻害された．この事実は，この酵素がチラコイド膜に結合した状態で機能することを示唆している．（３）プロテアーゼ阻害剤の効果－－本酵素は，N-ethylmaleimide, p-chloromercuriphenylsulfonate, 1,10-phenanthroline, bipyridyl, phosphoramidon, pepstatin A で阻害されたが，iodoacetate, E-64, antipain, EDTA, EGTA, diisopropyl fluorophosphate, phenylmethylsulfonyl fluoride, 1,2-epoxy-3-(p-nitrophenoxy)propane では阻害されなかった．これらの結果から本酵素がセリンプロテアーゼでないことが示唆されたが，プロテアーゼタイプは明確にされなかった．即ち，（１）異なるタイプの阻害剤が効く，と共に，（２）どのタイプでもそのタイプに属する全ての阻害剤が効くわけではない，からである．現時点ではこれらの現象を次のように解釈している．（１）について；本酵素は本質的にはメタルプロテアーゼであり，システイン残基の修飾によってもコンフォメーションが変化して失活する．pepstatin A は基質類似物質として活性中心（付近）をブロックする．（２）について；チオールプロテアーゼ，メタルプロテアーゼの阻害剤で効かないものは静電的あるいは立体的に活性中心付近から排除されている．

講演では，上記の解釈と共に本酵素の性質から推測される生理的役割についても議論したい．

1Ap08

好アルカリ性細菌 Bacillus YN-2000 の c 型チトクロムの生育 pH による量的・質的変動

°湯本　勲，福森義宏，山中健生（東工大・理・生命理学）

好アルカリ性細菌 Bacillus alcalophilus や Bacillus firmus RAB のチトクロム含量は，中性のみでしか生育出来なくなったこれらの変異株 のものよりも多いことや[1]，通性好アルカリ性細菌においても中性で生育させた場合より pH 10 で 生育させた 場合の方がその含量が多くなることが報告されている[2]．そこで今回，通性好アルカリ性細菌 Bacillus YN-2000 を pH 7-10で 培養したときチトクロム含量が各 pH において どの様 に 変動 するかを，菌体，膜画分，可溶性画分を用いて調べた．また，pH 10 と pH 8 で培養 した菌体より得た膜画分から可溶化したチトクロムを DEAE-Toyopearl によるイオン 交換クロマトグラフィーにかけて各チトクロム成分に分離しその溶出パターンを比較した．また，pH 10 の培養 において顕著に増加が見られたチトクロム c を精製したので，その性質についても報告する．

各 pH で生育させた菌体，膜画分のチトクロム含量は，その酸化還元差スペクトル より求めた．アルカリ条件下で増加すると考えられたチトクロム c は，以下の方法で精製した．pH 10 で培養したBacillus YN-2000の菌体の無細胞抽出液を超遠心分離して得られた膜画分をTriton X-100 で処理することにより可溶化したチトクロム c をDEAE-Toyopearl によるイオン交換クロマトグラフィーおよび Sephacryl S-200 によるゲル濾過により精製した．

pH 7-10 にて生育させた菌体および菌体より得た膜画分のチトクロム含量は，pH が高くなるに従って増加する傾向が見られ，特に c 型のチトクロムの量的変動が顕著であった．また可溶性画分にはチトクロムは存在せず，ヘムタンパク質としては，カタラーゼ のみが存在した．また，pH 10 と pH 8 で培養した菌体の膜画分から可溶化したチトクローム成分の DEAE-Toyopearl によるクロマトグラフィーの溶出パターンを比較すると，双方において高塩濃度で溶出するチトクロム c は，見られるが，低塩濃度で溶出するチトクロム c は pH 10 で培養して得られた膜画分にのみ顕著に観察された．このチトクロム c の精製標品の吸収スペクトルは酸化型で 411 nm に 還元型 で 553, 524, 417 nm にそれぞれ 吸収極大を 示し，SDS-PAGE による分子量が約 10,000 で高塩濃度で溶出する チトクロム c （分子量 約1,7000）とは 明らかに異なっていた．その等電点は，3.9 であった．また，このチトクロム c は本細菌のチトクロム酸化酵素と反応することが観察された．

(1) Lewis, R.J. et al. (1980) Biochem. Biophys. Res. Commun. 95, 857-863.
(2) Guffanti, A. A. et al. (1986) J. Bacteriol. 167, 766-773.

1Ap09　トマトにおけるフェレドキシン分子の組織特異性

上出佳永子、酒井治美、和田敬四郎　（金沢大・理・生物）

フェレドキシン（Ｆｄ）は植物の光合成組織では葉緑体の電子伝達体として機能している。一方、非光合成組織（根、果実など）に光合成組織では見られないＦｄイソタンパク質が存在することがダイコンの根で明らかになった。和田ら（１９８９）はダイコンの根には３つのＦｄイソタンパク質が存在し、そのうち一種は葉のＦｄと共通で、他の二種は根に特異的なＦｄであることをアミノ酸分析と一次構造決定により明らかにした。我々は果実についても同様の現象が見られることを予想してトマトの葉と果実のＦｄを精製し、アミノ酸分析と一次構造で比較したので報告する。トマトの果実には三種、葉には二種のＦｄイソタンパク質が存在することが電気泳動の結果からわかった。それぞれのイソタンパク質のアミノ酸分析とＮ末端一次構造の結果から果実の三種のＦｄイソタンパク質（ＦｄⅠ，ＦｄⅡ，ＦｄⅢ）のうち二種（ＦｄⅠ，ＦｄⅢ）は葉と共通であり、ＦｄⅡは果実に特異的なイソタンパク質であると結論された。しかもそのＦｄⅡは果実が成熟するにつれてＦｄ全体に対して占める割合が増加している。これらのことからＦｄⅡの変動は果実の成熟、すなわちクロモプラストの形成と平行しているらしく、ＦｄⅡはクロモプラスト中でなんらかの機能をしているものと考えられる。しかしトマトの果実にＦｄⅡと関連したどのような酵素があるのかはまだ明らかでなく、今後果実クロモプラスト中でのＦｄを中心とした酸化還元系の研究が重要であると思われる。

【 参考文献 】

1,K.Wada et al.(1986) Plant Cell Physiol. 27(3) : 407-415

2,K.Wada et al.(1989) J.Biochem. 105 : 619-625

1Ap10

非光合成組織における電子伝達系　（２）組織特異的ＦＮＲの構造比較

°森ヶ崎進、田中育代、和田敬四郎（金沢大・理・生物）

大根の白色貯蔵根から精製されたＦＮＲ（Ｒ－ＦＮＲ）はホウレンソウチラコイド膜を使った再構成実験において、ホウレンソウ葉から得られたＦＮＲ（Ｌ－ＦＮＲ）と同程度のＮＡＤＰ$^+$ 光還元活性を示した。そして、同様の方法で大根の葉から精製されたＬ－ＦＮＲの酵素学的性質は大根のＲ－ＦＮＲのそれと変わらなかった。吸収スペクトルも一致した。大根のＲ－ＦＮＲの補欠分子団としてのフラビンはＦＡＤで一般的に言われているＬ－ＦＮＲのそれと一致した。植物の非光合成組織においてＦＮＲはグルタミン酸合成酵素、亜硝酸還元酵素、亜硫酸還元酵素、チオレドキシン系などの還元型フェレドキシンに依存した酵素に電子を伝達する系で、ＮＡＤＰＨからフェレドキシンへの電子の伝達を触媒していると考えられる。

大根のＲ－ＦＮＲの分子量は大根のＬ－ＦＮＲのそれと比べて明らかに大きかった。更に大根のＲ－ＦＮＲとＬ－ＦＮＲのアミノ酸組成を比較したところ、Ｔｈｒ，Ｓｅｒ，Ｐｒｏ，Ａｌａの含量はＲ－ＦＮＲの方が多く、逆にＧｌｘ，Ｍｅｔ，Ｌｙｓの含量は少なかった。

またＲ－ＦＮＲはホウレンソウの根からも同様の方法で精製された。そして大根のＲ－ＦＮＲ，Ｌ－ＦＮＲとホウレンソウのＲ－ＦＮＲのＮ末端のアミノ酸配列を決定した。大根のＬ－ＦＮＲのＮ末アミノ酸配列はすでに一次構造の決まっているＬ－ＦＮＲ（ホウレンソウ、エンドウなど）のそれと非常によく似ていた。大根とホレンソウのＲ－ＦＮＲは互いに似ていた。一方、大根、ホウレンソウ共にＲ－ＦＮＲとＬ－ＦＮＲとはあまり似ていなかった。

これらの事からＲ－ＦＮＲとＬ－ＦＮＲは異なる分子種であり、Ｒ－ＦＮＲは根で、Ｌ－ＦＮＲは葉で組織特異的に発現しているものと考えられる。そしてＲ－ＦＮＲとＬ－ＦＮＲは進化の過程の非常に早い時期に分化したものと考えられる。

1Ap11

ダイコンの根の ascorbate peroxidase
1. 純化

森村洋子、大屋俊英[1]、三原俊一[1]、猪川倫好[1]
（恵泉短大、[1]筑波大・生物）

葉緑体のascorbate peroxidaseについては浅田らの詳細な報告があり、光合成の際に作られる過酸化水素の消去に働くとされている。我々はコマツナの根のアスコルビン酸の消長に興味を持ち、ascorbate peroxidase の性質を調べ報告した（植物生理学会 1989 ）。今回は近縁のダイコンの根からの抽出を行い、精製を試みた結果、高い比活性の酵素標品が高い回収率で得られたので報告する。

ダイコンの根をすりおろし、抽出用緩衝液と直ちに混合した。濾過と遠心のあと、70% 飽和硫安で30分間塩析した。その遠心沈澱を懸濁用緩衝液に懸濁し、これを疎水クロマト用緩衝液（35% 飽和硫安を含む）に透析（外液を２回交換）した。これをブチルトヨパールカラムに吸着させ、35-0% 飽和硫安濃度勾配で溶出した。活性は単一のピークとして溶出したので、これをDEAE-セルロファインA-500 カラムに吸着させ、0-0.5M KCl 濃度勾配で溶出した。次に、セファデックス G75 によるゲル濾過を行った。本酵素は酸素により失活しやすいため、いづれのステップにおいても、窒素ガスによる気相の置換を行った。

セファデックスを通した標品は SDS-PAGE で単一バンドであり、その分子量はおよそ28,000。本酵素は酸化状態で 415 nm に吸収のピークを持つヘムタンパク質であった。

	Volume (ml)	Total activity (units)	Total protein (mg)	Specific activity (units/mg protein)	Recovery (%)
Crude	3,000	48,000	6,180	7.8	100
Salting-out	-	34,560	1,916	18.0	72
Dialysis	-	7,560	1,667	4.5	16
Butyl Toyopearl	36	16,378	118	138.8	34
DEAE Cellulofine A-500	50	16,644	20	832.2	35
Sephadex G75	14.4	8,640	4.4	1963.6	18