

日本植物生理学会1991年度年会  
第31回シンポジウム

講演要旨集



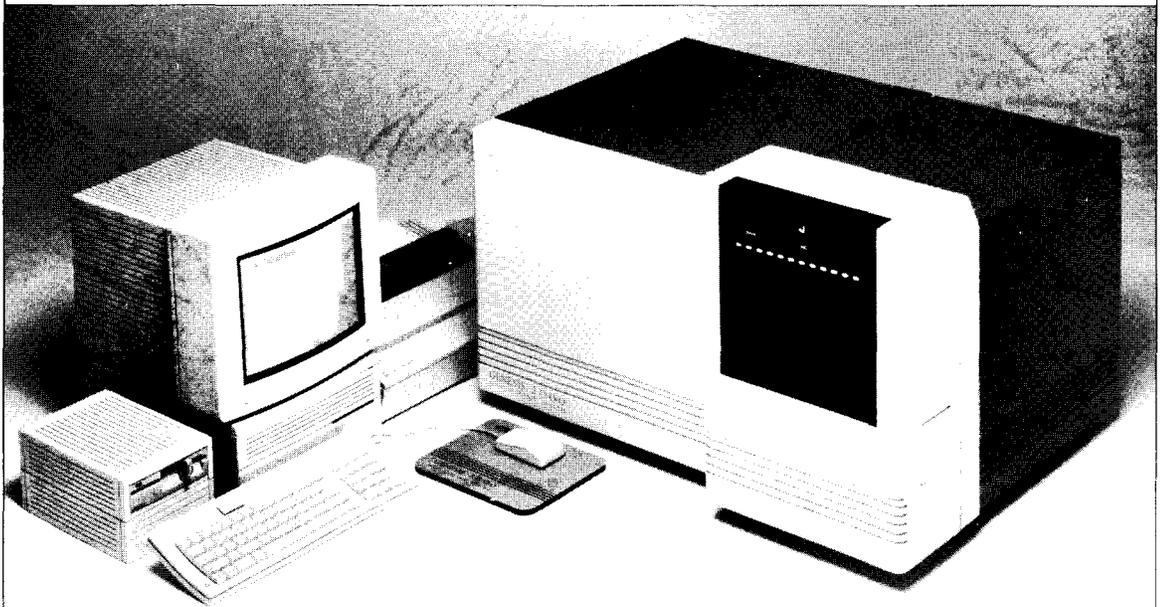
Proceedings of the Annual Meeting and 31st Symposium  
Japanese Society of Plant Physiologists  
Okayama, 1991

1991年3月28日(木)～3月30日(土)

岡山大学理学部

日本植物生理学会

# ALOKA バイオテクノロジーシステム機器



DNAの塩基配列を高精度・高感度で解析!!

DNAアナリシスシステム**GENESIS\* 2000**

## 分子遺伝学における データの解析から 比較・検索まで!!

アロカの分子遺伝学研究用機器は、米DUPONT社の世界屈指を誇る技術力が開発した各種のハードウェアをはじめ、実戦的な研究環境で培われたドイツ・Soft Gene GmbH社の優れたソフトウェア、更に独自の技術力が活かされた放射線測定装置など、よりハイレベルな研究内容にも効率的に対応できるシステム機器です。



文献の検索からデータ比較まで高速サーチ!!

ポストDNA・プロテイン解析システム**MAC-2000**

【ソフトウェア(MacMolly)はハードウェア(Macintosh)の最適な組合せ】

- \*の丸印はDUPONT社の商標です
- MacMollyはSoft Gene GmbH社の登録商標です。
- MacintoshはApple Computer Inc.の商標です。

●詳細は資料をご請求ください

DUPONT・Soft Gene GmbH社バイオテクノロジーシステム機器日本販売代理店

**Aloka**

**アロカ株式会社**

〒181 東京都・鷹取南3-6-14 4階11号  
☎03-422-3547 FAX 03-422-3589

# 日本植物生理学会1991年度年会

お よ び

## 第31回シンポジウム

植物と微生物の相互作用

光合成研究の過去・現在・将来

—第9回国際光合成会議開催に向けて—

環境情報に対する植物の応答反応とホメオスタシス

**Photoregulation in Plants.**

遺伝子応答の調節機構

## 特別講演

**Molecular Light Switches for Plant Genes**

by Nam-Hai Chua

**The Role of Plasmodesmata in Intercellular**

**Transport in Plants.**

by William J. Lucas

1991年3月28日(木) - 3月30日(土)

岡山大学理学部

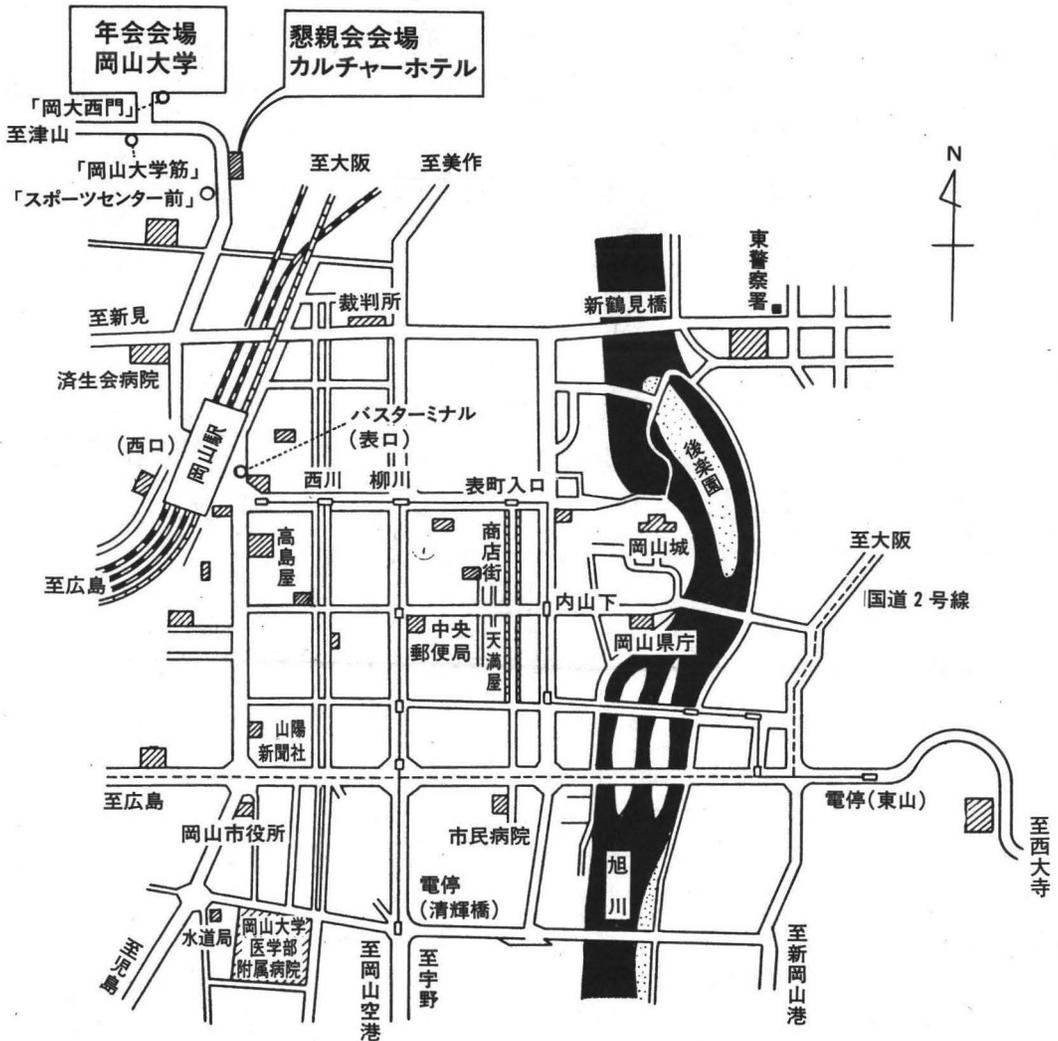
日本植物生理学会



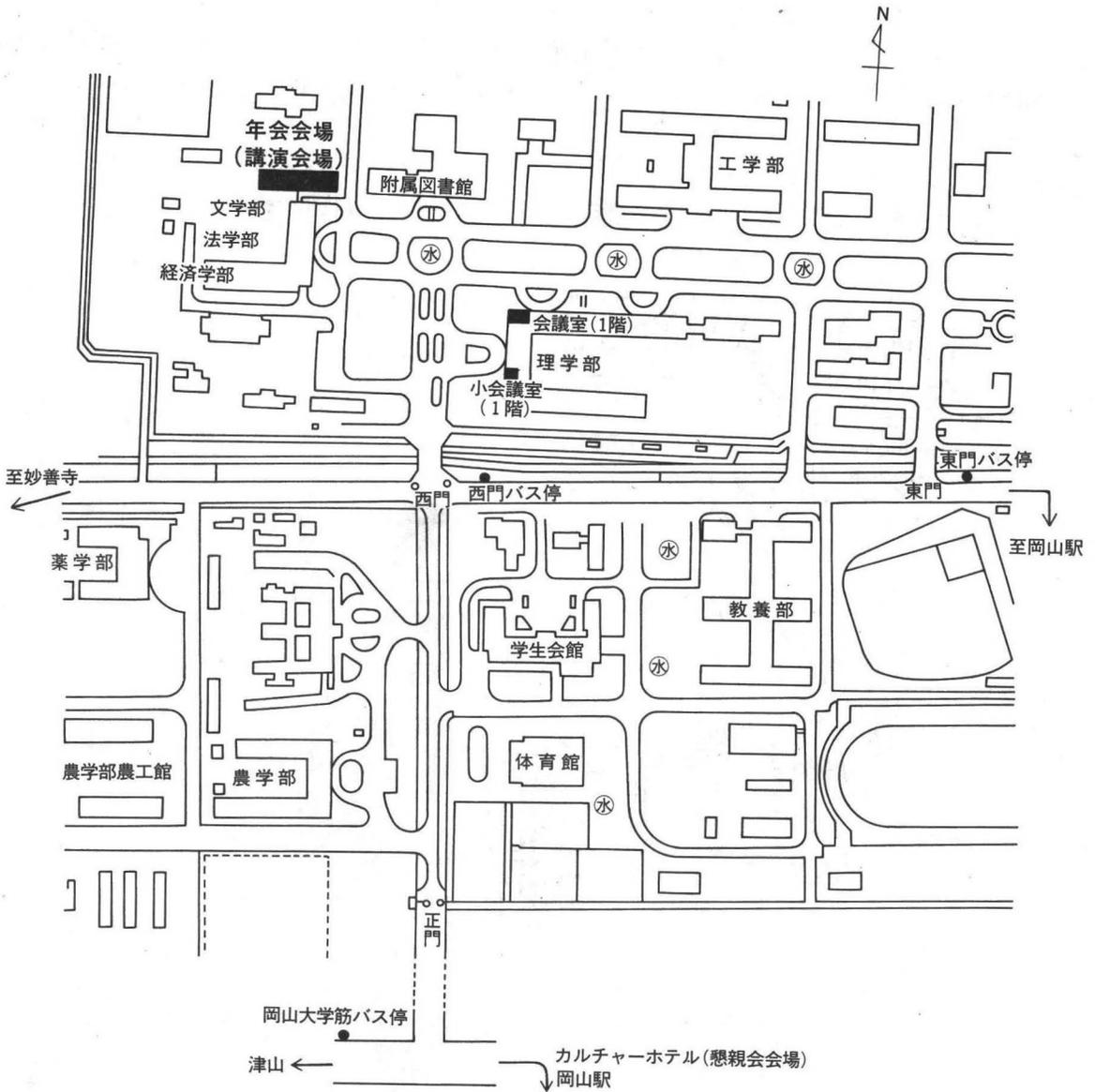
## 交通のご案内

年会会場となる岡山大学・文・法・経済学部は岡山市北部の津島キャンパスの中にあります。JR 岡山駅からは岡電バスが便利です。駅前広場（表口）のバスターミナルから、⑩「岡山大学・妙善寺」行き（乗り場11番）では「岡大西門」で下車、徒歩で3分位です。また、⑥「津高営業所」行き（乗り場14番）に乗ると、

「岡山大学筋」で下車、徒歩で10分位です。タクシーを利用すると駅から約10分です。自家用車は駐車場の関係でなるべく御遠慮下さい。懇親会場（カルチャーホテル）は上記⑥の岡電バスを利用し、「スポーツセンター前」で下車すると目の前です。年会会場からこのホテルまでは徒歩で約15分です。



# 岡山大学案内図



## 〔講演会場〕

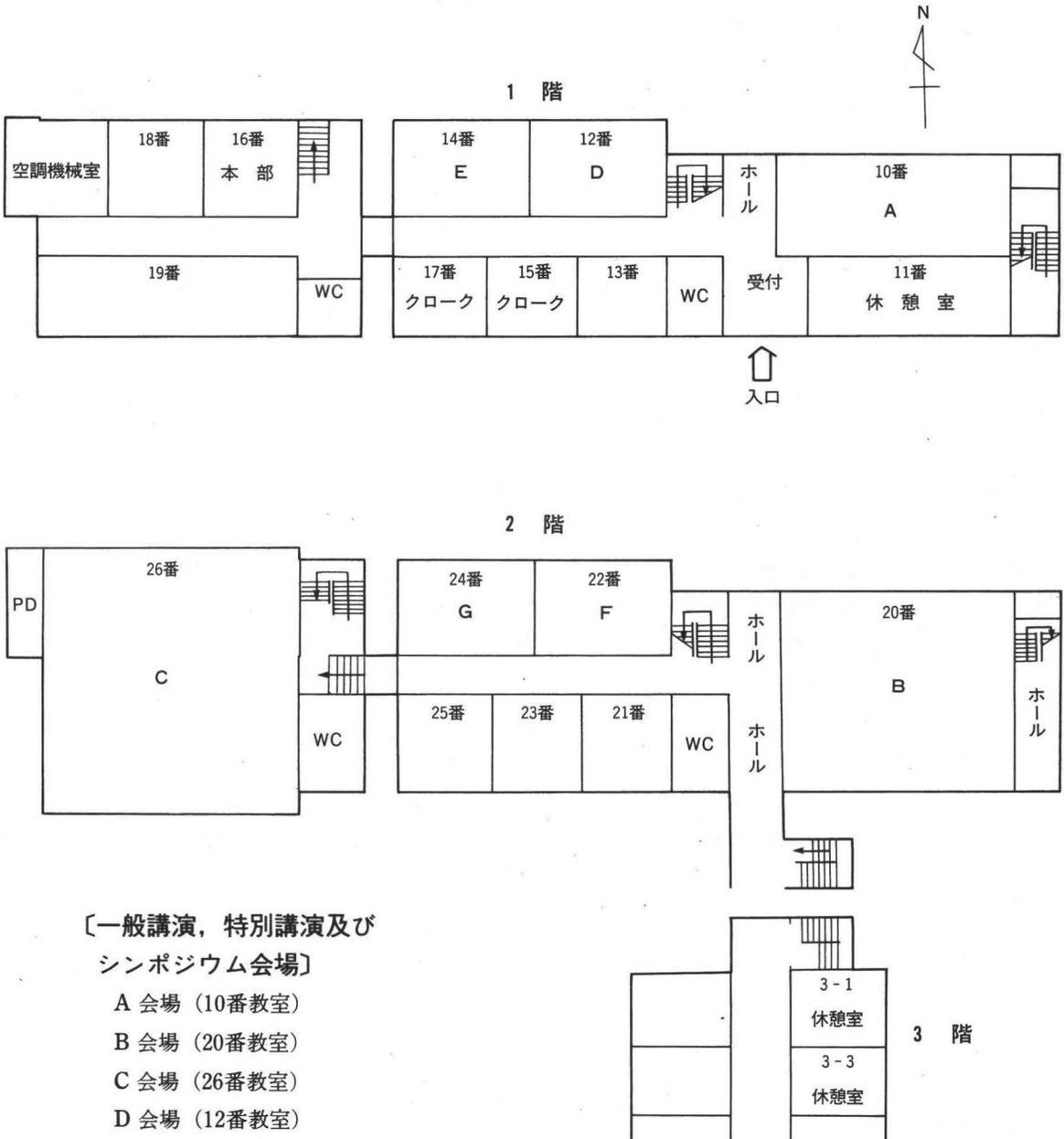
岡山大学文学部・法学部・経済学部講義棟  
会場受付電話 (0862) 55-1846

## 〔関連会議場〕

編集実行委員会：理学部小会議室 (1階)  
編集委員会・常任評議員会・評議員会：  
理学部会議室 (1階)  
総会：講演会場 (B会場)

# 会場配置図

(文学部・法学部・経済学部講義棟)



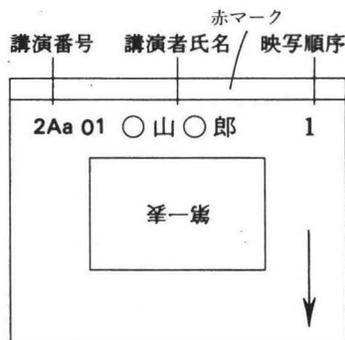
〔一般講演，特別講演及び  
シンポジウム会場〕

- A 会場 (10番教室)
- B 会場 (20番教室)
- C 会場 (26番教室)
- D 会場 (12番教室)
- E 会場 (14番教室)
- F 会場 (22番教室)
- G 会場 (24番教室)

### ◎講演者へのお願い

本学会会則第4条2項により、年会の研究発表は本学会の会員に限ることと定められています。したがって、演者が本学会に未加入の場合は直ちに学会本部で入会手続きをとった後で発表をお願いします。

1. 一般講演の時間は13分です。全体のスケジュールに大きく影響しますので、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分前までにお渡しください。終了後はなるべく早く、遅くともその日のうちに係からお受け取り下さい。
3. スライドは35mmに限ります。図のように記号及びマークをお願いします。各会場でプロジェクターは1台しか利用できません。
4. 時間の節約のため、重複して使用するスライドは必ず同じものを必要枚数準備してください。
5. OHPは準備しません。
6. 次に講演する人は必ず「次演者席」に着席願います。
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。プログラムの円滑な進行にご協力願います。



### ◎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. 会期中は会場内で名札の着用をお願いします。
3. 年会実行委員と関係者はリボンをつけています。
4. 1階受付付近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、紅茶を用意しますのでご利用ください。
6. 会場1階にクロークを設置します。クロークの開設時間は次のとおりです。
  - 第1日 8時30分-18時
  - 第2日 8時 -18時
  - 第3日 8時30分-13時
7. 夜間は管理できませんので、2日にわたる預入れはお断りします。
7. 駐車場は用意しません。外来者用の駐車場もありませんので、乗用車等での来場はお断りします。
8. 弁当の販売店を用意する予定です。飲食店は大学正門前に続く通りに若干あります。
9. 28日夕刻、ミキサーを予定していますのでご出席ください。場所は当日受付でお知らせします。
10. 学会についての問い合わせは年会準備委員会をお願いします。

年会準備委員会：〒700 岡山市津島中3-1-1

岡山大学理学部生物学教室

電話 (0862) 52-1111 (内線420)

委員長 中島 秀明

## ◎関連会議

編集実行委員会	3月27日(水)	16時-17時	理学部小会議室
編集委員会	3月27日(水)	17時30分-20時	理学部会議室
常任評議員会	3月28日(木)	12時-13時	理学部会議室
評議員会	3月28日(木)	18時-21時	理学部会議室
総会	3月29日(金)	16時30分-17時30分	B会場
懇親会	3月29日(金)	18時-20時	カルチャーホテル

なお懇親会は当日も受け付けますので、受付で申込をしてください。多くの方の参加をお待ちしています。

## お知らせ

### ◎年会会期中の呼出について

年会に出席されている方への外部からの連絡は電話(0862)55-1846をお願いします。伝言は受付に準備します。掲示板に掲示しますが、講演が行なわれている会場での呼出は行ないません。またその日の講演が全て終わりますと、担当者がいなくなりますので、電話をかける時間にご注意ください。

## ◎関連集会

「植物生理若い研究者の会」

3月28日(木) 16時30分 会場(掲示板に予告)

世話人:久堀 徹(横浜市立大・理)

川上 直人(横浜市立大・木原生物研)

講演

和田 雅人(農水省・食品総合研):海産藻類の細胞膜 ATPase

## ◎講演の変更

プログラムの中で、講演番号のついていないものは講演が取り消されたものです。

# 日 程 表

月日	会場	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
3月28日(木)	A		シンポジウム I				シンポジウム II						
	B		光化学系 I・細菌 光化学系				シンポジウム III						
	C		遺伝子・細胞周期			形質転換・貯蔵タンパク							
	D		糖代謝			酸化還元・結合タンパク							
	E		光合成機能発現 (I)				遺伝子・分化						
	F		細胞培養				細胞骨格・形態形成						
	G		細胞壁				電気生理・イオン輸送						
3月29日(金)	A		ストレス (I)				植物ホルモン (II)			総 会		懇 親 会	
	B		光化学系 II (I)		特別 講演 II	光化学系 II (II)							
	C	特別 講演 I	遺伝子・窒素代謝				シンポジウム IV						
	D		微生物・植物 相互作用			プロテアーゼ・情報伝達							
	E		炭素代謝			炭酸輸送・光合成活性							
	F		光生物学 (I)				オルガネラ						
	G		植物ホルモン (I)				ストレス (II)						
3月30日(土)	A		脂質・生体膜										
	B		細菌光化学系・電子伝達系				光合成色素系						
	C		シンポジウム V				光合成機能発現 (II)						
	D		窒素代謝										
	E		花成・生殖・オーキシン				植物ホルモン (III)						
	F		オルガネラ・タンパク輸送										
	G		光生物学 (II)										

**特別講演 1** 第2日 3月29日(金) C会場 8時30分-9時30分

**Molecular Light Switches for Plant Genes.**

Nam-Hai Chua  
Laboratory of Plant Molecular Biology,  
Rockefeller University, US

世話人 古谷 雅樹 (理研フロンティア)

**特別講演 2** 第2日 3月29日(金) B会場 12時15分-13時15分

**The Role of Plasmodesmata in Intercellular  
Transport in Plants.**

William J. Lucas  
Department of Botany, University  
of California at Davis, US

世話人 田沢 仁 (福井工業大)

シンポジウムⅠ 第1日 3月28日(木) A会場

「植物と微生物の相互作用」

世話人・座長 奥 八郎(岡山大・農)

- |       |       |                       |              |
|-------|-------|-----------------------|--------------|
| 9:00  | 1aA-1 | 病原に対する高等植物の抵抗性機構      | 真山 滋志(神戸大・農) |
| 9:45  | 1aA-2 | 宿主特異的毒素に依存する病原胞子の感染機構 | 甲元 啓介(鳥取大・農) |
| 10:30 | 1aA-3 | 病原菌による植物抵抗性の制御        | 白石 友紀(岡山大・農) |
| 11:15 | 1aA-4 | 植物ガンにおけるオーキシン合成の役割    | 山田 哲治(岡山大・農) |

シンポジウムⅡ 第1日 3月28日(木) A会場

「環境情報に対する植物の応答反応とホメオスタシス」

世話人 松本 英明(岡山大・資生研)  
関谷 次郎(岡山大・農)

13:30 はじめに

13:40 1pA-1 環境情報の応答とプロトンポンプ  
座長 松本 英明(岡山大・資生研)  
笠毛 邦弘(農水省・食総研)

14:10 1pA-2 環境情報の伝達と応答におけるカルシウムイオンの役割  
座長 辻 英夫(京都大・理)  
°武藤 尚志, 葛西 身延<sup>1</sup>, 鎌田 芳彰  
(東京大・応微研, <sup>1</sup>岡山大・資生研)

14:40 1pA-3 植物における環境応答と cAMP  
大森 正之(東京大・海洋研)

15:10 1pA-4 低温による細胞質の酸性化と低温傷害  
座長 関谷 次郎(岡山大・農)  
吉田 静夫(北海道大・低温研)

15:40 1pA-5 低温適応の分子生物学  
°和田 元, 村田 紀夫(基生研)

シンポジウムⅢ 第1日 3月28日(木) B会場

「光合成研究の過去・現在・将来

—第9回国際光合成会議開催に向けて—

オーガナイザー 田沢 仁  
村田 紀夫  
佐藤 公行  
杉山 達夫

座長 辻 英夫

13:30 第9回国際光合成会議を主催するにあたって

田沢 仁 (植物生理学会会長)

13:40 1pB-1 光エネルギー変換系

座長 檜山 哲夫 (埼玉大・理)

加藤 栄 (東京大・理)

14:10 1pB-2 光合成と環境

座長 浅田 浩二 (京都大・食研)

藤田 善彦 (基生研)

14:40 1pB-3 炭素代謝

座長 杉山 達夫 (名古屋大・農)

赤沢 堯 (名古屋大・農)

15:10 1pB-4 光合成器官の形成

座長 佐藤 公行 (岡山大・理)

渡辺 昭 (名古屋大・農)

15:40 総合討論

16:10 第9回国際光合成会議組織委員会を代表して

村田 紀夫 (組織委員長)

「Photoregulation in Plants」

世話人・座長 古谷 雅樹 (理研フロンティア)

- 13 : 00 2pC-1 In pursuit of the photoreceptor for phototropism.  
Winslow R. Briggs (Carnegie Inst., US)
- 13 : 25 2pC-2 Phytochrome gene expression.  
Peter H. Quail (USDA, Albany & Univ. Calif., Berkeley, US)
- 13 : 50 2pC-3 Involvement of G-protein(s) in phytochrome-mediated regulation of gene expression in *Avena sativa*.  
Pill Soon Song, L. Romero & D. Sommer (Univ. Nebraska, US)
- 14 : 15 2pC-4 Circadian and phytochrome regulated expression of a wheat Cab gene.  
Ferenc Nagy (Friedrich Miescher-Institut, Switzerland)
- 14 : 40 Tea
- 14 : 50 2pC-5 Signal transduction in photoregulation.  
Eberhard Schäfer (Freiburg Univ., FRG)
- 15 : 15 2pC-6 Evidence from transgenic plants on the physiological function of different phytochromes.  
Harry Smith (Univ. Leicester, UK)
- 15 : 40 2pC-7 Mutants as an aid in assigning function(s) to different phytochromes.  
Richard E. Kendrick (Agri. Univ. Wageningen, NL)
- 16 : 05 2pC-8 Genetic analysis of light-regulated seedlings development in *Arabidopsis*.  
° Joanne Chory, Lothar Altschmied, Terry Delaney,  
Punita Nagpal, Alan Pepper & Ronald Susek (The Salk Inst., US)

シンポジウムV 第3日 3月30日(土) C会場

「遺伝子応答の調節機構」

世話人 内宮 博文 (北海道大・理)

9:00 3aC-1 オーキシンの情報伝達機構の解析  
司会 酒井 慎吾 (筑波大・生物)  
下村 正二 (農業生物資源研)

9:35 3aC-2 タバコのキチナーゼ遺伝子の発現制御  
司会 町田 泰則 (名古屋大・理)  
進士 秀明 (微生物工研)

10:10 3aC-3 ヒストン遺伝子の発現制御機構—転写調節因子 HBP-1a 及び HBP-1b の構造と機能  
°中山 卓哉, 三上 浩司, 岩淵 雅樹 (京都大・理)

10:45 3aC-4 Ri プラスミド *rolC* 遺伝子の機能と発現調節  
司会 岩淵 雅樹 (京都大・理)  
°金谷 潔, 大野 豊<sup>1</sup>, 内宮 博文<sup>1</sup>  
(筑波大・生物, <sup>1</sup>北海道大・理)

11:20 3aC-5 植物遺伝子の転写開始増幅因子: TGA1a による転写増幅機構  
°山崎 健一, 片桐 文章<sup>1</sup>, 山口 雄記,  
Nam-Hai Chua<sup>1</sup>, 今関 英雅 (名古屋大・農, <sup>1</sup>ロックフェラー大)

11:55 総合討論

第1日 3月28日(木) <午前<の部>

B会場 光化学系 I・細菌光化学系

- 9:00 1aB01 高い NADP 光還元能をもつ光化学系 I 粒子の単離と性質  
 °酒井幸三, 西川豊廣, 先浜直子, 新勝光(神戸大・理・生物)
- 9:15 1aB02 フェレドキシン-NADP 還元酵素の高分子量型と低分子量型における機能的相違  
 °関戸敏博, 米山里佳, 先浜直子, 新勝光(神戸大・理・生物)
- 9:30 1aB03 高等植物の光化学系 I 複合体のサブユニット組成  
 °池内昌彦, 井上頼直(理研・太陽光科学)
- 9:45 1aB04 藍藻 *Anabaena* sp. ATCC29413 の光化学系 I 複合体のサブユニット組成  
 °池内昌彦, K. J. Nyhus<sup>1</sup>, 井上頼直, H. B. Pakrasi<sup>1</sup>(理研・太陽光科学, <sup>1</sup>Biol. Dept., Washington Univ.)
- 10:00 1aB05 光化学系 I 反応中心複合体サブユニットの N 末端アミノ酸配列  
 °岩崎行玄, 日比野隆, 石川浩, 高倍昭洋(名城大・理工・化学)
- 10:15 1aB06 系 I 反応中心複合体の小型サブユニットの再構成  
 °園池公毅, 加藤栄(東京大・理・植物)
- 10:30 1aB07 プラストシアニンと P700 の反応に対する *psaF* 遺伝子産物の役割  
 °高倍昭洋, 岩崎行玄, 石川浩, 日比野隆(名城大・理工・化学)
- 10:45 1aB08 光化学系 I 反応中心周辺の蛋白サブユニットの構造と機能  
 °檜山哲夫, 仲本準, 大日向光, 平岩裕美, 大矢武志, 小林慎一, 西城戸司, 鈴木浩一(埼玉大・理・生化)
- 11:00 1aB09 水銀処理により鉄硫黄センター B を破壊した光化学系 I の機能的再構成条件の検討  
 °井上和仁, 楠元範明<sup>1</sup>, 桜井英博<sup>1</sup>(神奈川大・理・応用生物, <sup>1</sup>早大・教育・生物)
- 11:15 1aB10 光化学系 I 反応中心のキノンの構成と結合部位の構造  
 °岩城雅代, Walter Oettmeier<sup>1</sup>, 伊藤繁(基生研・細胞内エネルギー変換, <sup>1</sup>Ruhr Univ.)
- 11:30 1aB11 *Heliobacterium chlorum* 膜標品のエーテル処理  
 °池上勇, 小林正美<sup>1</sup>, E. J. van de Meent<sup>2</sup>, 渡辺正<sup>1</sup>, J. Amesz<sup>2</sup>(帝京大・薬, <sup>1</sup>東京大・生産研, <sup>2</sup>State Univ. Leiden)
- 11:45 1aB12 *H. chlorum* 光化学系中のバクテリオクロロフィル *g'*  
 °小林正美, 渡辺正<sup>1</sup>, 池上勇<sup>2</sup>, 小宮山真, E. J. van de Meent<sup>3</sup>, J. Amesz<sup>3</sup>(筑波大・物工, <sup>1</sup>東京大・生研, <sup>2</sup>帝京大・薬, <sup>3</sup>State Univ. Leiden)

C会場 遺伝子・細胞周期

- 9:00 1aC01 ニチニチソウの細胞周期特異的 cDNA に相同な酵母遺伝子の解析  
 °伊藤正樹, 安井明<sup>1</sup>, 駒嶺稔(東北大・理・生物, <sup>1</sup>東北大・抗酸菌研)
- 9:15 1aC02 植物のプロテインキナーゼ遺伝子のクローニング  
 °坂野弘美, 村中俊哉<sup>1</sup>, 森部豊輝, 町田泰則(名古屋大・理・生物, <sup>1</sup>住友化学宝塚総研)
- 9:30 1aC03 シロイヌナズナのプロテインキナーゼ遺伝子群の解析  
 °溝口剛, 林田信明, 篠崎和子, 小泉昌広, 篠崎一雄(理研・遺伝子解析)
- 9:45 1aC04 コムギヒストン遺伝子上の流域に結合するシングル鎖特異的 DNA 結合因子  
 °高瀬尚文, 高山しのぶ, 中山卓哉, 岩淵雅樹(京都大・理・植物)
- 10:00 1aC05 コムギヒストン H3 遺伝子の S 期特異的発現と転写因子 HBP-1a 及び HBP-1b の機能解析  
 °南真樹, 伊藤卓也, 藤本宣充<sup>1</sup>, 大坪憲弘, 中山卓哉, 寺田理枝<sup>2</sup>, 島本功<sup>2</sup>, 岩淵雅樹(京都大・理・植物, <sup>1</sup>日本石油, <sup>2</sup>植工研)
- 10:15 1aC06 アラビドプシスのリボヌクレオプロテイン遺伝子の構造と発現  
 °太田賢, 李育慶, 杉田護, 杉浦昌弘(名古屋大・遺伝子実験施設)
- 10:30 1aC07 植物サイクリン遺伝子のクローニング  
 °畑信吾, 河内宏, 鈴鹿巖<sup>1</sup>, 石井哲郎<sup>2</sup>(農水省・生物研, <sup>1</sup>家衛試, <sup>2</sup>筑波大)

第1日 3月28日(木) <午前の部>

- 10:45 1aC08 トランスジェニック植物における proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 遺伝子の分裂組織特異的発現。  
(1) シス制御領域の解析  
°小杉俊一, 鈴鹿巖<sup>1</sup>, 大橋祐子<sup>2</sup>, 村上高<sup>2</sup>, 新井勇治 (筑波大・応生, <sup>1</sup>農水省・家衛試, <sup>2</sup>農水省・生物研)
- 11:00 1aC09 トランスジェニック植物における proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 遺伝子の分裂組織特異的発現  
(2) 組織化学的解析  
°村上高, 小杉俊一<sup>1</sup>, 大橋祐子, 鈴鹿巖<sup>2</sup>, 榎本末男, 新井勇治<sup>1</sup> (農水省・生物研, <sup>1</sup>筑波大・応生, <sup>2</sup>農水省・家衛試)

D会場 糖代謝

- 9:00 1aD01 メロン果実の酸性インペルターゼの精製と性質について  
°岩坪友義, 中川弘毅, 小倉長雄, 今関英雅<sup>1</sup>, 佐藤隆英 (千葉大・農, <sup>1</sup>基生研)
- 9:15 1aD02 ヤエナリショ糖合成酵素及びインペルターゼの cDNA クローニング  
°新井雅雄<sup>1,2</sup>, 森仁志<sup>2</sup>, 今関英雅<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>名古屋大・農・生化学制御, <sup>2</sup>基生研・情報制御)
- 9:30 1aD03 マメ科発芽種子  $\alpha$ -アミラーゼの酵素学的特徴  
°南森隆司, 河野昭子<sup>1</sup> (神戸大・農化, <sup>1</sup>大手前栄専・栄養)
- 9:45 1aD04 サツマイモ塊根からの Branching Enzyme (QE) の性質と精製  
°中山繁樹, 中村保典 (農業生物資源研)
- 10:00 1aD05 イネ葉ショ糖リン酸シンターゼの精製  
°武市哲郎, 村田孝雄 (農業生物資源研)
- 10:15 1aD06 プラスチド包膜の adenylate translocator とデンプン生成  
Javier Pozueta, Fernando J. Ardila, °赤沢堯 (名古屋大・農・生化学制御)
- 10:30 1aD07 コマユミの葉からの UDP-キシロース:フラボノール3-O-キシロシルトランスフェラーゼについて  
°楊志慶, 石倉成行 (熊本大・理・生物科学)
- 10:45 1aD08 ジャガイモ塊茎 UDP-グルコースピロホスホリラーゼ:cDNA のクローニング, 塩基配列の解析および大腸菌での発現  
°勝部拓矢, 数田恭章, 谷沢克行, 福井俊郎 (大阪大・産業科学研)
- 11:00 1aD09 ステビオールの配糖体化酵素  
°柴田均, 園家暁, 佐谷圭三, 落合英夫, 西橋秀治<sup>1</sup>, 山田正治<sup>1</sup> (島根大・農・生物機能, <sup>1</sup>大日本インキ)
- 11:15 1aD10 高等植物のアスコルビン酸生成における中間体としてのグルコソニンについて  
°斉藤和実, Frank A. Loewus<sup>1</sup> (京大・RIセンター, <sup>1</sup>ワシントン州立大)

E会場 光合成機能発現 (I)

- 9:00 1aE01 クロロフィライドのフィチレーションに対する金属キレーター阻害効果  
°田中義人, 田中歩, 辻英夫 (京都大・理・植生研)
- 9:15 1aE02 光合成細菌の光合成色素蓄積阻害の光作用スペクトル  
高宮建一郎 (九州大・理)
- 9:30 1aE03 好気・明条件下における *Rhodobacter sphaeroides* 色素タンパク遺伝子の発現の光波長依存性  
°島田裕士, 射場厚, 高宮建一郎 (九州大・理)
- 9:45 1aE04 超強光下で成育した *Synechocystis* PCC6803 の膜ペプチド組成  
°相沢克則, 藤田善彦 (基生研・細胞生物)
- 10:00 1aE05 光照射により誘導される psbD-psbC 遺伝子転写産物とその誘導機構  
°川口博, 金山満彦, 椎名隆, 豊島喜則 (広島大・総合科学)
- 10:15 1aE06 *lacZ*-fusion による光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* におけるフェレドキシン発現制御の解析

## 第 1 日 3 月 28 日 (木) <午前<の部>

- °末次由実, 佐伯和彦, 松原央 (大阪大・理・生物)
- 10:30 1aE07 光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* におけるフェレドキシンの機能分化: 遺伝子破壊と相補性試験を用いた解析
- °佐伯和彦, 徳田賢一郎, 松原央 (大阪大・理・生物)
- 10:45 1aE08 *Anabaena variabilis* におけるプラスチックアンニとチトクローム *c-553* の銅による発現調節
- °密武嗣, 中村真樹, 吉崎文則, 杉村康知 (東邦大・理・生物)
- 11:00 1aE09 ランソウ光化学系 I *psaA*, *psaB* 遺伝子のクローニング
- °清水徳朗, 檜山哲夫, 池内昌彦<sup>1</sup>, 井上頼直<sup>1</sup> (埼玉大・理・生化, <sup>1</sup>理研)
- 11:15 1aE10 光化学系 I *psaC* 遺伝子の大腸菌での発現とその解析
- °清水徳朗, 橋本光広, 檜山哲夫 (埼玉大・理・生化)
- 11:30 1aE11 プラスチックアンニとその“fusion”蛋白質の大腸菌における発現
- °日比野隆, 岩崎行玄, 石川浩, 高倍昭洋 (名城大・理工・化学)
- 11:45 1aE12 光化学系の酸素発生系に関与する 33-kD タンパク質の構造解析への試み——33-kD タンパク質の大腸菌内での大量発現
- °周勁松, 小西智一, 和田敬四郎<sup>1</sup>, 渡辺昭 (名古屋大・農・生化学制御, <sup>1</sup>金沢大・理)
- 12:00 1aE13 ユーグレナの酸素発生系 30kDa タンパク質前駆体の同定
- °黒田育生, 稲垣純子, 山本泰 (岡山大・理・生物)

## F会場 細胞培養

- 9:00 1aF01 イネ培養細胞における植物体再生に及ぼす培養諸要因の影響
- °塚原正義, 広沢孝保 ((株) ナーサリー・テクノロジー)
- 9:15 1aF02 低細胞密度下での植物培養細胞の増殖阻害——コンディショニング効果の機構
- °坂野勝啓, 松本万紀子, 清田誠一郎, 矢崎芳明 (農水省・生物研)
- 9:30 1aF03 培養細胞系におけるシキミ酸経路 II——二次代謝との相関——
- °作田正明, 山田菜穂, 清水碩 (お茶の水大・理・生物)
- 9:45 1aF04 培養細胞系におけるシキミ酸経路 III——植物ホルモンの影響——
- °山田菜穂, 作田正明, 清水碩 (お茶の水大・理・生物)
- 10:00 1aF05 ブドウ培養細胞における PAL, CHS mRNA の発現
- °掛川弘一, 駒嶺穆 (東北大・理・生物)
- 10:15 1aF06 ヒャクニテソウ単離離肉細胞の管状要素分化に特異的なペルオキシダーゼ・アイソザイムの解析
- °佐藤康, 杉山宗隆, 駒嶺穆 (東北大・理・生物)
- 10:30 1aF07 温度処理によるイネ培養細胞の同調化
- °野村港二, 高橋清子, 井上正保, 増田清 (秋田県立農業短大・生物工学研)
- 10:45 1aF08 イネ属懸濁培養細胞系における不定胚形成に伴うポリペプチドパターンの変動
- °小沢憲二郎, 児玉浩明, 駒嶺穆 (東北大・理・生物)
- 11:00 1aF09 ニンジン不定胚形成にともなう核蛋白の変動
- °増田清, 野村港二, 清水真由美, 井上正保 (秋田農業短大・生物工学研)
- 11:15 1aF10 体細胞雑種のミトコンドリア DNA
- 本田秀夫, °平井篤志 (名古屋大・農・生化学制御)
- 11:30 1aF11 花粉プロトプラストの培養と発芽
- °西原昌宏, 伊藤道夫<sup>1</sup> (名古屋大・理・生物, <sup>1</sup>静岡大・理・生物)
- 11:45 1aF12 ヤグルマギク培養細胞に含まれる非抱合型プレリジンについて
- °武田幸作, 平野明子, 末岡照美<sup>1</sup>, 加藤節子<sup>1</sup> (東京学芸大・生物, <sup>1</sup>明海大・生化学)
- 12:00 1aF13 苔類ミドリホラゴケモドキ培養細胞のエリクター処理によるセスキテルペン生成促進
- °中河原俊治, 中村規尚, 太田喜元 (PCC テクノロジー・山崎研)
- 12:15 1aF14 ブロムグラス培養細胞等の急速予備凍結及び緩速予備凍結法による超低温保存
- °石川雅也, P. Tandon<sup>1</sup>, A. Yamagishi<sup>2</sup>, 宮崎尚時 (農生研, <sup>1</sup>NE-Hill Univ., <sup>2</sup>CENARGEN)

第1日 3月28日(木) <午前の部> <午後の部>

G会場 細胞壁

- 9:00 1aG01 Genetically regulated expression of glucomannan in rice endosperm cell wall  
°R. Zamorski, 矢野昌裕<sup>1</sup>, 渋谷直人(農水省・生物研, <sup>1</sup>北陸農試)
- 9:15 1aG02 アラビノガラクトナン-プロテインの組織内局在性  
菊地純夫, 大日向光, °円谷陽一, 橋本洋一, 金子康子<sup>1</sup>, 松島久<sup>1</sup>(埼玉大・生化, <sup>1</sup>埼玉大・生体制御)
- 9:30 1aG03 多核緑藻 *Boodlea coacta* におけるマイクロフィブリル配向パターンと微小管骨格  
°水田俊, 奥田一雄(高知大・理・生物)
- 9:45 1aG04 多核緑藻 *Boergeria forbesii* の遊離原形質膜上におけるセルロースマイクロフィブリルの形成  
°水田俊, 奥田一雄, 原田朋子(高知大・理・生物)
- 10:00 1aG05 タバコ培養細胞 BY-2 形態形成に対するジベレリン合成阻害剤アンシミドールの影響  
°岩田和佳, 小久保亮<sup>1</sup>, 桜井直樹<sup>1</sup>, 倉石晋<sup>1</sup>, 宝月岱造<sup>2</sup>(東京大・教養, <sup>1</sup>広島大・総科, <sup>2</sup>東京大・農)
- 10:15 1aG06 茎切片のオーキシンによる生長誘導時の表皮及び内部組織細胞壁の変化  
°若林和幸, 桜井直樹<sup>1</sup>, 倉石晋<sup>1</sup>(香川大・教育, <sup>1</sup>広島大・総科・自然環境)
- 10:30 1aG07 矮性エンドウのジベレリンによる生長回復と細胞壁多糖類への影響  
福原世津子, °桜井直樹, 倉田信一, 倉石晋, J. B. Reid<sup>1</sup>(広島大・総科, <sup>1</sup>タスマニア大)
- 10:45 1aG08 細胞壁キシログルカン構造の制御機構 2. 酵素反応機構の解析  
°富永るみ, 桐野美津代, 西谷和彦(鹿児島大・教養)
- 11:00 1aG09 アズキ及びトウモロコシ細胞壁キシランの繰返単位の構造  
°西谷和彦, D. J. Nevins<sup>1</sup>(鹿児島大・教養, カリフォルニア大)
- 11:15 1aG10 オリゴサッカライドによる植物細胞壁  $\beta$ -グルカナーゼの活性化  
°林隆久, 加藤陽治<sup>1</sup>, 大住千栄子<sup>2</sup>(京大・木研, <sup>1</sup>弘前大・教育, <sup>2</sup>味の素中研)
- 11:30 1aG11 茎切片のオーキシン誘導成長に及ぼすキシログルカン9糖の影響  
°保尊隆亨, 増田芳雄(大阪市大・理・生物)
- 11:45 1aG12 トウモロコシ幼葉鞘切片のオーキシン誘導生長における表皮の役割—— $\beta$ -グルカン分解との関係  
°保尊隆亨, D. J. Nevins<sup>1</sup>(大阪市大・理・生物, <sup>1</sup>Univ. Calif.)
- 12:00 1aG13 イネ幼葉鞘の成長と細胞壁フェルラ酸  
°Kah Siew Tan, 神坂盛一郎, 保尊隆亨, 増田芳雄(大阪市大・理・生物)

第1日 3月28日(木) <午後の部>

C会場 形質転換・貯蔵タンパク

- 13:00 1pC01 細胞電気回転法による植物プロトプラストへの DNA 電気導入過程の研究  
°柴谷滋郎, 角谷忠昭, 千田貢(京都大・農・農化)
- 13:15 1pC02 酵母 *Saccharomyces exiguus* における染色体編成の解析と宿主-ベクター系の開発  
°久富泰資, 井上広一, 新井正洋, 井上栄一, 坪井基夫(福山大・生物工学)
- 13:30 1pC03 酵母 *S. cerevisiae* の染色体 DNA 長的人為的変動  
依田彰, 大城清樹, 柳下信治, 久富泰資, °壺井基夫(福山大・工・生物工学)
- 13:45 1pC04 パーティクルガンによる植物細胞の高頻度形質転換条件の検討  
°服部悦子, 重本直樹, 田中俊憲, 佐藤茂, 山下総哉, 清水克哉, 関原明<sup>1</sup>, 入船浩平, 森川弘道(広島大・理・植物, <sup>1</sup>京都大・農)
- 14:00 1pC05 シロイヌナズナのアグロバクテリウムを介した高頻度形質転換系について  
°赤間一仁<sup>1</sup>, 岡田清孝<sup>1</sup>, 志村令郎<sup>1,2</sup>(<sup>1</sup>基生研・遺伝子発現統御, <sup>2</sup>京大・理・生物物理)
- 14:15 1pC06 トウモロコシの転移因子 Ac/Ds を導入したトランスジェニックタバコの作出  
°杉田耕一, 宮崎力, 守屋美加<sup>1</sup>, 山岸理恵, 守屋寛<sup>1</sup>, 飯田滋(東京理科大・基礎工, <sup>1</sup>東京理科大)

第1日 3月28日(木) <午後の部>

・薬)

- 14:30 1pC07 トランスジェニックイネにおけるフォスフィノトリシニアセチルトランスフェラーゼ(ピアラホス耐性遺伝子)の発現  
°土岐精一, 野尻宙平<sup>1</sup>, 後藤文之, 島田季一, 内宮博文(北海道大・理・植物, <sup>1</sup>明治製菓・薬総研)
- 14:45 1pC08 トランスジェニックイネにおける外来 DNA の組み込み様式の解析  
°後藤文之, 土岐精一, 内宮博文(北海道大・理・植物)
- 15:00 1pC09 形質転換タバコにおける 1', 2'-GUS, 35S-GUS 遺伝子発現の比較  
加藤明(北海道農試)
- 15:15 1pC10 試験管内転写における植物遺伝子発現の超コイル構造依存性  
°山崎健一, 今関英雅, (名古屋大・農・生化学制御)
- 15:30 1pC11 アサガオの花の絞りにトランスポゾンが関与しているか?  
°宮崎力, 稲垣善茂<sup>1</sup>, 笠原基知治, 守屋寛<sup>1</sup>, 飯田滋(東京理科大・基礎工, <sup>1</sup>東京理科大・薬)
- 15:45 1pC12 炭化水素成分の生合成に関わる遺伝子の単離にむけて——アラビドプシス突然変異の検索——  
°大隅照子, Robert F. Whittier, 柴田大輔(三井業際植物バイオ研)
- 16:00 1pC13 イネ *waxy* 遺伝子のクローニング  
°石川緑, 島田浩章(三井植物バイオ研)
- 16:15 1pC14 サツマイモ葉柄における塊根主要タンパク質遺伝子のショ糖とオリゴ糖エリクターによる発現誘導の解析  
°大藤雅章, 中村恭子, 中村研三(名古屋大・農・生化)
- 16:30 1pC15 *in situ* ハイブリダイゼーション法によるサツマイモ塊根主要タンパク質の遺伝子発現の解析  
°武田真, 神山康夫<sup>1</sup>, 中村研三(名古屋大・農・生化, <sup>1</sup>三重大・生資・育種)
- 16:45 1pC16 サツマイモ  $\beta$ -アミラーゼ遺伝子 5' 上流域に結合する核タンパク質因子  
°石黒澄衛, 梶本明浩, 加藤麻理子<sup>1</sup>, 中村研三(名古屋大・農・生化, <sup>1</sup>現. ピアス)
- 17:00 1pC17 サツマイモ  $\beta$ -アミラーゼ欠損変異株の解析  
°林浩司, 中村恭子, 中村研三(名古屋大・農・生化)
- 17:15 1pC18 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<sup>1</sup>, 米田好文<sup>1</sup>, 茅野充男(東京大・農, <sup>1</sup>東京大・遺伝子実験施設)
- 17:30 1pC19 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, 後藤弘爾, 横田優美<sup>1</sup>, 林浩昭<sup>1</sup>, 茅野充男<sup>1</sup>, 米田好文(東京大・遺伝子実験施設, <sup>1</sup>東京大・農)

D会場 酸化還元・結合タンパク

- 13:00 1pD01 通性好アルカリ性細菌の *aco* 型チトクロム-c 酸化酵素と生育 pH で量的変動をするチトクロム c との反応性  
湯本勲, °福森義宏, 山中健生(東工大・生命理工・生命理)
- 13:15 1pD02 非光合成組織における電子伝達系(3)組織特異的 FNR の免疫学的研究  
°森ヶ崎進, 近藤淳, 和田敬一郎(金沢大・理)
- 13:30 1pD03 ダイコン・フェレドキシンの複数成分について  
°西村まゆみ, 長井深<sup>1</sup>, 先浜直子<sup>1</sup>, 新勝光<sup>1</sup>(キンダ化学・研究課, <sup>1</sup>神戸大・理・生物)
- 13:45 1pD04 イネ グルタチオン還元酵素アイソザイムの精製  
°森田重人, 丑丸敬史, 柴坂三根夫<sup>1</sup>, 辻英夫(京都大・理・植生研, <sup>1</sup>岡山大・資生研)
- 14:00 1pD05 イネ・アスコルビン酸ペルオキシダーゼアイソザイムの精製  
丑丸敬史<sup>1</sup>, °小川健一, 柴坂三根夫<sup>2</sup>, 浅田浩二<sup>3</sup>, 辻英夫<sup>1</sup>(京都大・農・林工, <sup>1</sup>京都大・理・植生研, <sup>2</sup>岡山大・資生研, <sup>3</sup>京都大・農・食研)
- 14:15 1pD06 チャ葉アスコルビン酸ペルオキシダーゼアイソザイムの精製と性質の比較  
°尼子克己, 浅田浩二(京都大・食研)
- 14:30 1pD07 らん藻ペルオキシダーゼの性質  
°三宅親弘, 浅田浩二(京都大・食研)

第1日 3月28日(木) <午後の部>

- 14:45 1pD08 ソラマメ葉での DOPA 代謝に対する過酸化水素と光の影響  
 °高浜有明夫, 鬼木隆幸<sup>1</sup>(九州歯大・生物, <sup>1</sup>九州歯大・化学)  
 植物グルタチオン還元酵素の cDNA クローニング  
 °田中浄, 久保明弘, 柴田大輔<sup>1</sup>, 田中國介<sup>2</sup>(国立環境研・生物, <sup>1</sup>三井業際バイオテック, <sup>2</sup>京府大・農)
- 15:00 1pD10 大腸菌グルタチオンレダクターゼ遺伝子を導入したタバコの活性酸素ストレス耐性  
 °青野光子, 久保明弘, 佐治光, 名取俊樹, 田中浄, 近藤矩朗(国立環境研)
- 15:15 1pD11 キュウリ幼苗リポキシングナーゼの成長と関連した消長  
 °松井健二, 入江真理, 梶原忠彦, 畑中顕和(山口大・農・農化)
- 15:30 1pD12 クラミドモナスの Arylsulfatase 生合成の調節要因  
 °佐々木孝行, 白岩善博, R. K. Togasaki<sup>1</sup>(新潟大・理・生物, <sup>1</sup>インディアナ大・生物)
- 15:45 1pD13 クラミドモナス・カーボニックアンヒドラーゼの構造解析  
 °石田さらみ, 福沢秀哉, 宮地重遠<sup>1</sup>, 武藤尚志(東京大・応微研, <sup>1</sup>海洋バイオテクノロジー研究所)
- 16:00 1pD14 大豆重金属結合タンパク質の精製と性質  
 °鈴木宏一郎, 茅野充男(東京大・農)
- 16:15 1pD15 フタバネゼニゴケ培養細胞におけるモリブデンコファクターキャリアータンパクの存在について  
 °西崎孝弘, 滝尾進, 榊井秀雄, 佐藤敏生(広島大・理・植物)
- 16:30 1pD16 脱窒光合成細菌の DMSO 還元酵素の局在におけるモリブデンコファクターの関与  
 °榊井秀雄, 深瀬康子, 佐藤敏生(広島大・理・植物)
- 16:45 1pD17 オンロイパナ由来リボゾーム不活性化蛋白質(MAP)は自身のリボゾームをも不活性化する  
 °片岡二郎, 羽深典之, 宮野雅司, 増田税, 小岩井晃(JT 生命研)

E会場 遺伝子・分化

- 13:30 1pE01 ショ糖により活性化される *rolC* 遺伝子プロモーター領域の解析  
 °内宮博文, 広瀬哲郎, 菅谷純子<sup>1</sup>(北海道大・理・植物, <sup>1</sup>筑波大・生物)
- 13:45 1pE02 イネにおける *rolC* プロモーター結合タンパク質の認識配列  
 °松木吏弓, 金谷潔, 加藤敦之<sup>1</sup>, 内宮博文<sup>1</sup>(筑波大・生物, <sup>1</sup>北海道大・理・植物)
- 14:00 1pE03 ニンジシ培養細胞の核タンパク質にみられる遺伝子プロモーター結合能  
 °鈴木章弘, 加藤敦之, 内宮博文(北海道大・理・植物)
- 14:15 1pE04 ニンジシ *embryogenic cell protein (ECP31)* の cDNA クローニングと発現の解析  
 °清末知宏, 篠崎和子<sup>1</sup>, 篠崎一雄<sup>1</sup>, 佐藤忍, 鎌田博, 原田宏(筑波大・生物, <sup>1</sup>理研・ライフサイエンス)
- 14:30 1pE05 イネ *wx* 座遺伝子——組織特異性および種子登熟過程における発現  
 °平野博之, 佐野芳雄(国立遺伝研)
- 14:45 1pE06 ヒヤクニチソウ管状要素分化に特異的に発現する遺伝子の解析  
 °出村拓, 福田裕穂(東北大・理・生物)
- 15:00 1pE07 ヒヤクニチソウ管状要素分化におけるチューブリン遺伝子の発現  
 吉村敏彦, 高瀬恭子, 出村拓, °福田裕穂(東北大・理・生物)
- 15:15 1pE08 Ti プラスミド *tmr* 遺伝子プロモーターによる発現特性の解析  
 °猪口雅彦, 斎宮晃, 近藤弘清(岡山理大・生物化学)
- 15:30 1pE09 エンテロバクター・クロアカの IAA 生合成遺伝子の単離  
 °古賀仁一郎, 足立亮, 日高秀昌(明治製菓・生物科学研)
- 15:45 1pE10 2種の大豆リポキシングナーゼの器官特異的な遺伝子発現  
 °加藤友彦, 柴田大輔(三井業際植物バイオ研)
- 16:00 1pE11 トマト花粉特異的プロモーターのタバコ・ナタネでの発現解析  
 °今村順, 酒井隆子, 村瀬誠(植工研)
- 16:15 1pE12 ナビン, クルンフェリンプロモーターのタバコでの発現解析

第1日 3月28日(木) <午後の部>

- °河野淳子, 市川裕章<sup>1</sup>, 今村順(植工研, <sup>1</sup>現:農環研)
- 16:30 1pE13 分裂酵母の接合フェロモンによる情報伝達: 受容体遺伝子の構造と発現調節  
°中村友浩<sup>1</sup>, 北村憲司, 下田親(大阪市立大・理・生物, <sup>1</sup>大阪工大・一般教育)
- 16:45 1pE14 栄養増殖から有性生殖への切りかえを支配する分裂酵母の制御遺伝子 *ste13*  
°前川裕美, 中川朋子, 北村憲司, 下田親(大阪市立大・理・生物)
- 17:00 1pE15 分裂酵母の接合型遺伝子の転写調節: *pat1* タンパクキナーゼによる調節  
°永井勉, 青野利哉, 下田親(大阪市立大・理・生物)
- 17:15 1pE16 分裂酵母の減数第一分裂に関する *mei4* 遺伝子の構造と発現調節  
西脇真哉, 田中晃一, °下田親(大阪市立大・理・生物)

F会場 細胞骨格・形態形成

- 13:30 1pF01 細胞周期に於ける植物細胞骨格の転換点  
°馳澤盛一郎, 長田敏行<sup>1</sup>(成城短期大・教養, <sup>1</sup>東京大・理・植物)
- 13:45 1pF02 ヒザオリ (*Mougeotia*)の細胞質におけるアクチン繊維の分布  
°峰雪芳宜, 永井玲子<sup>1</sup>(広島大・理, <sup>1</sup>大阪大・教養)
- 14:00 1pF03 キウリ胚軸表皮系における細胞分裂パターン  
°風間晴子, 峰雪芳宜<sup>1</sup>(国際基督教大・生物, <sup>1</sup>広島大・理・植物)
- 14:15 1pF04 ホウライシダ原糸体における *preprophase band* の低温処理後の再形成  
°村田隆, 和田正三(都立大・理・生物)
- 14:30 1pF05 タバコ培養細胞 BY-2 を用いた *caffeine* による細胞質分裂阻害機構の解析  
°呉学軍, 園部誠司, 柴岡弘郎(大阪大・理・生物)
- 14:45 1pF06 矮性エンドウ上胚軸における *ABA* の微小管配向制御作用: 伸長低下の結果か. の検討  
°崎山真理, 柴岡弘郎(大阪大・理・生物)
- 15:00 1pF07 花粉管ミオシンの精製——*in vitro motility assay* を検出手段として  
°河野匡, 岡垣壮<sup>1</sup>, 小浜一弘<sup>2</sup>, 新免輝男<sup>3</sup>(東京大・理, <sup>1</sup>日大・理工, <sup>2</sup>群大・医・薬理, <sup>3</sup>姫工大・理・生命科学)
- 15:15 1pF08 微小管-Sephrose の作製と微小管結合蛋白質分離への適用  
水野孝一(大阪大・理・生物)
- 15:30 1pF09 Role of microtubules in signal transduction (blue light, red light, gravity) of maize coleoptiles.  
Nick Peter(理化学研・フロンティア研究システム)
- 15:45 1pF10 疑似微小重力下におけるホウライシダ原糸体の成長  
°笠原宏一, 竹内裕一(北海道東海大・生物工学)
- 16:00 1pF11 ナガイモ塊茎形成におけるジャスモン酸の関与  
°幸田泰則, 喜久田嘉郎(北海道大・農・植物)
- 16:15 1pF12 粘菌の細胞接着タンパク質 *gp64* の cDNA 構造と脂質アンカーの構造  
真鍋理一郎, 斉藤玉緒, 熊崎隆<sup>1</sup>, °落合廣(北海道大・理・植物, <sup>1</sup>北海道大・薬)
- 16:30 1pF13 薬培養における高温処理が花粉の蛋白質合成に及ぼす影響  
°浜岡陽, 山田茂裕, 片岡二郎<sup>1</sup>, 岩井純夫(日本たばこ・植物開発, <sup>1</sup>日本たばこ・生命研)
- 16:45 1pF14 ニンジン *embryogenic cell protein (ECP31)* の精製と免疫組織化学  
°清未知宏, 佐藤忍, 中山二郎<sup>1</sup>, 磯貝彰<sup>1</sup>, 鈴木昭憲<sup>1</sup>, 鎌田博, 原田宏(筑波大・生物, <sup>1</sup>東京大・農化)
- 17:00 1pF15 ニンジン未熟種子糖タンパク質 *GP80* の免疫学的検出——その未熟胚乳最外層における特異的存在——  
°鳥居啓子, 佐藤忍, 藤伊正(筑波大・生物)
- 17:15 1pF16 ニンジン皮組織に局在する分泌性糖タンパク質 *GP57* の発現解析——傷害誘導性とダイズ 7S 塩基性グロブリンとの同一性——  
°佐藤忍, Arnd Sturm<sup>1</sup>, Maarten Chrispeels<sup>1</sup>, 藤伊正(筑波大・生物, <sup>1</sup>Univ. Calif. San Diego)
- 17:30 1pF17 カボチャ根導管液に含まれるタンパク質, 糖質の解析

第1日 3月28日(木) <午後の部> 第2日 3月29日(金) <午前の部>

°佐藤忍, 飯塚千夏, 中村紀雄<sup>1</sup>, 藤伊正(筑波大・生物, <sup>1</sup>横浜市・生物)

G会場 電気生理・イオン輸送

- 13:30 1pG01 車軸藻類節間細胞原形質流動の原動力測定  
°上坪英治, 菊山宗弘<sup>1</sup>(一ツ橋大・生物, <sup>1</sup>放送大・生物)
- 13:45 1pG02 オオカナダモの葉の細胞における光による葉緑体の移動に対するヒスチジンの影響  
°富永義人, 田沢仁<sup>1</sup>(平安女学院短大, <sup>1</sup>福井工業大)
- 14:00 1pG03 L-ヒスチジンによる膜電位脱分極  
°田沢仁, 岡崎芳次<sup>1</sup>, 富永義人<sup>2</sup>, 浅井一視<sup>1</sup>, 岩崎尚彦<sup>1</sup>(福井工大, <sup>1</sup>大阪医大・生物, <sup>2</sup>平安女学院短大)
- 14:15 1pG04 車軸藻節間細胞の細胞質内 pH の空間的分布  
°緒方惟昭(産医大・医短・生化)
- 14:30 1pG05 汽水産藻類シラタマモの膜電位に及ぼす膨圧変化の影響  
°岡崎芳次, 岩崎尚彦(大阪医大・教養・生物)
- 14:45 1pG06 シャジクモ原形質膜静止膜電位におよぼす局所麻酔剤の影響  
°大川和秋, 野坂修二<sup>1</sup>, 沖原清司<sup>2</sup>, 吉川清<sup>1</sup>(大阪大・教養・生物, <sup>1</sup>大阪成人病センター・麻酔科, <sup>2</sup>大阪大・基礎工・生物工)
- 15:00 1pG07 車軸藻原形質膜における Ca<sup>2+</sup> と電圧に依存するアニオンチャンネル. パッチクランプ法を用いた研究  
°沖原清司, 大川和秋<sup>1</sup>, 筒井泉雄<sup>2</sup>, 葛西道生(大阪大・基工・生物, <sup>1</sup>大阪大・教養・生物, <sup>2</sup>生理研)
- 15:15 1pG08 タバコ細胞液胞膜および原形質膜の電圧依存性イオンチャンネル  
°張平, 矢部勇, 武藤尚志(東京大・応微研)  
パッチクランプ法による大麦葉肉細胞原形質膜イオンチャンネルの研究  
°村田芳行, 小尾一郎, 野口昌克, 角谷忠昭, 千田貢(京都大・農・農化)
- 15:30 1pG10 キウリ果実でのケイ酸の局在とトノプラスト小胞への吸収  
°山崎陸生, 山本昭平(名古屋大・農・園芸)
- 15:45 1pG11 ホウ素の要求性と体内分布——タバコ培養細胞での検討——  
°水谷正治, 大野佳織, 間藤徹, 高橋英一(京都大・農)
- 16:00 1pG12 ニチニチソウ培養細胞の親和性の異なるリン酸取り込みについて  
°降旗敬, 新井康仁, 城市篤, 桜井英博(早大・教育・生物)
- 16:15 1pG13 ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の硝酸イオン輸送に関する遺伝子群の構造  
°小俣達男, 平野篤<sup>1</sup>(理研・太陽光科学, <sup>1</sup>東京電力・技術研)
- 16:30 1pG14 NAD-ME 型 C<sub>4</sub> 植物・*Panicum coloratum* の光合成における Na の機能  
°村田伸治, 間藤徹, 高橋英一(京都大・農)
- 16:45 1pG15 培養液濃度変化による浸透ストレスが生長に伴った水ポテンシャル場に及ぼす影響  
°野並浩, 木山浩二, 越智竜雄<sup>1</sup>, 橋本康(愛媛大・農, <sup>1</sup>末広産業)
- 17:00 1pG16 湿潤状態に成育するキュウリの水分欠乏による急性萎凋の発生機構  
°平沢正, 加藤正広, 石原邦(東京農工大・農)

第2日 3月29日(金) <午前の部>

A会場 ストレス (I)

- 9:45 2aA01 イネ科植物におけるベタインの蓄積とベタインアルデヒド脱水素酵素に関する研究  
°水野克彦, 荒川圭太, 岸部幸枝<sup>1</sup>, 高倍鉄子(名古屋大・農・生化学制御, <sup>1</sup>東北大・農)
- 10:00 2aA02 塩ストレス処理した大麦におけるベタインアルデヒド脱水素酵素の誘導

第2日 3月29日(金) <午前部>

- 10:15 2aA03 *Anabaena variabilis* の低温誘導性遺伝子 Lti2 は  $\alpha$ -アミラーゼ様タンパクをコードしている  
佐藤直樹 (東京大・理・植物)
- 10:30 2aA04 イネおよびホウレンソウの Cu/Zn 型スーパーオキシドディスムターゼ遺伝子の構造と発現  
坂本敦, 大菅裕之, 田中国介 (京都府立大・農化)
- 10:45 2aA05 緑化培養細胞の光独立栄養性について (K); ストレスタンパク質 OLP の発現と制御  
竹田恵美, 佐藤文彦<sup>1</sup>, 井田和子, 山田康之<sup>1</sup> (大阪女子大・基礎理, <sup>1</sup>京都大・農・農芸化学)
- 11:00 2aA06 PR1 タンパク質遺伝子の糖による発現誘導  
上野敬一郎, °大島正弘<sup>1</sup>, 杉山万里<sup>2</sup>, 村上高, 大橋祐子<sup>1</sup> (鹿児島バイテク研, <sup>1</sup>農水省・生物研, <sup>2</sup>島根農試)
- 11:15 2aA07 PR1 タンパク質遺伝子の植物ホルモンによる発現誘導  
大橋祐子, 上野敬一郎<sup>1</sup>, 榎本末男, 大島正弘, 村上高, 渡辺紳一郎, 野口貴<sup>2</sup> (農水省・生物研, <sup>1</sup>鹿児島バイテク研, <sup>2</sup>東京都農試)
- 11:30 2aA08 乾燥によって二段階に誘導されるシロイヌナズナ遺伝子の解析  
篠崎和子, 小泉昌広, 浦尾さとみ, 篠崎一雄 (理研・遺伝子解析)
- 11:45 2aA09 乾燥によって誘導されるシロイヌナズナチオール・プロテアーゼ遺伝子の発現調節  
小泉昌広, 篠崎和子, 浦尾さとみ, 篠崎一雄 (理研・遺伝子解析)
- 12:00 2aA10 植物ホルモン ABA によって誘導されるシロイヌナズナ遺伝子の解析  
篠崎一雄, 篠崎和子, 小泉昌広, 浦尾さとみ (理研・遺伝子解析)

B会場 光化学系II (I)

- 9:45 2aB01 光化学系II反応中心へのキノノン再構成  
伊藤繁, 岩城雅代, 佐藤公行<sup>1</sup> (基生研・細胞内エネルギー変換, <sup>1</sup>岡山大・理)
- 10:00 2aB02 光化学系II Q<sub>A</sub>機能の再構成に必須な蛋白質成分  
福原聡, °荒賀千笑, 赤堀興造, 豊島喜則 (広島大・総合科学)
- 10:15 2aB03 光合成光化学系II QA-QB電子伝達における非ヘム鉄の役割  
黒岩繁樹, °赤堀興造, 豊島喜則 (広島大・総合科学)
- 10:30 2aB04 アトラジン結合解析より推定される Q<sub>B</sub> サイトでのプラストキノン交換の機構  
高橋正昭 (甲南大・理・生物)
- 10:45 2aB05 光化学系II反応中心の色素の選択的抽出  
木戸敏孝, 唐曉松<sup>1</sup>, 佐藤公行 (岡山大・理, <sup>1</sup>プリンストン大)
- 11:00 2aB06 時間分解EPRによる光合成系II中のP680とクロロシンDの位置の研究  
小寺義男, 田倉慶三, 藤原ちづる, 河盛阿佐子 (関学大・理)
- 11:15 2aB07 配向PSII膜ENDORによるマンガンダイマーおよびクロロシンDの配置の研究  
三野広幸, 戸高伸治, 中塩雅朝, 河盛阿佐子 (関学大・理)
- 11:30 2aB08 Mn除去系II酸化側におけるヒスチジン残基の光酸化  
小野高明, 井上頼直 (理研・太陽光科学)

C会場 遺伝子・窒素代謝

- 9:45 2aC01 ダイズ植物におけるウリカーゼ遺伝子の組織特異的発現  
伊藤秀記, 田中耕二, 田島茂行 (香川大・農)
- 10:00 2aC02 ラン藻 *Trichodesmium sp.* NIBB1067株の窒素固定酵素遺伝子 (*nifH*, D, K)の制限酵素地図による解析  
Jonathan P. Zehr<sup>1</sup>, °大城香, 藤田善彦 (基生研・細胞生物, <sup>1</sup>ニューヨーク州立大・海洋研)
- 10:15 2aC03 ラン藻 *Plectonema boryanum*におけるFe蛋白質遺伝子 (*nifH*, *frxC*)の欠損変異株の単離とその性質  
藤田祐一, 高橋康弘, 松原央 (大阪大・理・生物)

第2日 3月29日(金) <午前部>

- 10:30 2aC04 サツマイモ塊根におけるフェニルアラニンアンモニアリアーゼの発現  
田中喜之(農業生物資源研)
- 10:45 2aC05 *Panicum miliaceum* アスパラギン酸アミノ基転移酵素——cDNAクローニングと窒素による発現制御  
°谷口光隆, 光部篤人, 澤木弘道, 笹川英夫, 長谷俊治, 杉山達夫(名古屋大・農・農化)
- 11:00 2aC06 トウモロコシ・グルタミン合成酵素, グルタミン酸合成酵素遺伝子群の転写産物の蓄積から見た発現解析  
°榊原均, 長谷俊治, 杉山達夫(名古屋大・農・農化)
- 11:15 2aC07 ハツカダイコン子葉における発現調節の異なる細胞質局在性グルタミン合成酵素群の cDNA クローニング  
°浜田和行, 渡辺昭(名古屋大・農・生化学制御)
- 11:30 2aC08 イネ・グルタミン合成酵素 GS<sub>1</sub> および GS<sub>2</sub> 遺伝子のプロモーター活性の比較  
°木崎暁子, 坂本敦<sup>1</sup>, 田中國介<sup>1</sup>, 竹葉剛<sup>2</sup>(京都大・農, <sup>1</sup>京都府大・農化, <sup>2</sup>京都府大・生科)
- 11:45 2aC09 イネの RFLP 解析に関する研究 (I) ゲノム DNA による多型分析  
°半沢幹朗, 菊池彰, 大場伸也<sup>2</sup>, 菊池文雄<sup>1</sup>, 内宮博文<sup>2</sup>(筑波大・生物, <sup>1</sup>筑波大・農林, <sup>2</sup>北海道大・理・生物)
- 12:00 2aC10 イネの RFLP 解析に関する研究 (II) cDNA クローンによる RFLP 分析とその特徴  
°菊池彰, 半沢幹朗, 大場伸也<sup>2</sup>, 菊池文雄<sup>1</sup>, 木藤新一郎<sup>2</sup>, 加藤敦之<sup>2</sup>, 内宮博文<sup>2</sup>(筑波大・生物, <sup>1</sup>筑波大・農林, <sup>2</sup>北海道大・理・生物)

D会場 微生物・植物相互作用

- 9:45 2aD01 Subtractive Hybridization によるダイズ根粒からの nodulin 遺伝子の cDNA クローニング  
°河内宏, 畑信吾(農業生物資源研)
- 10:00 2aD02 溶原性ファージによる根粒菌感染機能の変動  
°内海俊樹, 東四郎, 阿部美紀子(鹿児島大・理・生物)
- 10:15 2aD03 *Pseudomonas syringae* の非病原性遺伝子 *AvrDa* により生産されるダイズの抵抗性遺伝子に対応した特異的エリクターの性質と部分精製  
°川崎信二, S. Midland<sup>1</sup>, J. Sims<sup>1</sup>, N. Keen<sup>1</sup>(農水省・生物研, <sup>1</sup>Univ. Calif. Riverside)
- 10:30 2aD04 リポキシゲナーゼの遺伝子発現を伴う新たな病害抵抗性制御機構  
彭友良, 白野由美子, °柴田大輔(三井業際植物バイオ研)
- 10:45 2aD05 イネの細胞膜上でのいもち病抵抗性遺伝子産物の探索の試み  
°宮本勝, 児玉治, 赤塚伊巳, 川崎信二<sup>1</sup>(茨城大・農化, <sup>1</sup>農水省・生物研)
- 11:00 2aD06 トランスポゾン (Tn5)-標識化による *Agrobacterium tumefaciens* の病原性に関する外膜タンパクとその遺伝子の同定  
姜熙玩, °小島峰雄(名古屋大・農・生化学制御)
- 11:15 2aD07 線状 dsDNA をゲノムとするクロレラウイルス (Saijo virus) のゲノム解析及び感染特性  
山田隆(広大・醸酵)
- 11:30 2aD08 ベラドンナ培養根と放線菌 (*Nocardiosis* sp.) との相互作用による赤色色素の生成様式  
°野末雅之, 清水圭祐, 清水豊, 高山真策<sup>1</sup>(信州大・理・生物, <sup>1</sup>PCC テクノロジー・筑波研)

E会場 炭素代謝

- 9:45 2aE01 ホウレンソウ RuBisCO が示す履歴現象への RuBisCO activase の影響  
°辻本憲孝, 横田明穂(大阪府大・農)
- 10:00 2aE02 ホウレンソウ RuBisCO に対するモノクローナル抗体の作成とその特性  
°横田明穂, 久延薫<sup>1</sup>, 渡海寛, 重岡成<sup>1</sup>, 小崎俊司(大阪府大・農, <sup>1</sup>近畿大・農)
- 10:15 2aE03 ホウレンソウ RuBisCO 活性調節部位への種々の糖リン酸の結合親和性について  
°東岡雅也, 横田明穂(大阪府大・農)
- 10:30 2aE04 ホウレンソウ RuBisCO への RuBP 構造アナログの影響

第2日 3月29日(金) <午前の部>

- °横田明穂, 泉川達也(大阪府大・農)
- 10:45 2aE05 高等植物型 RuBisCO のラン藻における発現  
°和田正悟, 和田野晃, 横田明穂, 姫野道夫, 小林裕和<sup>1</sup>(大阪府立大・農・農化, <sup>1</sup>名古屋大・RIセンター)
- 11:00 2aE06 代謝中間体によるカルビンサイクルの調節  
°岩城俊男, 和田野晃, 横田明穂, 平橋智裕, 姫野道夫(大阪府立大・農・農化)
- 11:15 2aE07 重水素化クロレラの炭素代謝とその調節  
°榛葉繁紀, 植村照美, 海野けい子, 岡田昌二(静岡県大・薬)
- 11:30 2aE08 イネのエイにおける C<sub>4</sub> 型炭素代謝の駆動  
今泉信之<sup>1</sup>, 石原邦<sup>1</sup>, °鮫島宗明(農水省・生物研, <sup>1</sup>東京農工大連合大学院)
- 11:45 2aE09 H<sup>+</sup> または Na<sup>+</sup> ジャンプによる葉肉細胞葉緑体のピルビン酸輸送の促進——イネ科 C<sub>4</sub> 種間の比較  
°大西純一, 青木直大, 金井龍二(埼玉大・理・生化)
- 12:00 2aE10 クラミドモナスにおける高 CO<sub>2</sub> 要求性を示さないホスホグリコール酸ホスファターゼ活性欠損変異株  
°鈴木健策, L. F. Marek<sup>1</sup>, M. H. Spalding<sup>1</sup>, 猪川倫好(筑波大・生物, <sup>1</sup>Iowa State Univ.)

F会場 光生物学 (I)

- 9:45 2aF01 フィトクロムによるモエジマンダ胞子の第一回核分裂の誘導と青色光による抑制  
°古谷雅樹, 神野美佐緒, 岡本晴子(理研・フロンティア)
- 10:00 2aF02 イネ I 型フィトクロム遺伝子を導入したタバコにおけるフィトクロムによる下胚軸の伸長と緑化の調節  
°長谷あきら, 西沢直子<sup>1</sup>, Steve A. Kay<sup>2</sup>, Maria Deak<sup>2</sup>, Nam-Hai Chua<sup>2</sup>, 古谷雅樹(理研・FRP, <sup>1</sup>東京大・農・農化, <sup>2</sup>Rockefeller Univ.)
- 10:15 2aF03 酵母で発現させたエンドウフィトクロム I アポ蛋白質へのクロモフォアの導入  
°富沢健一, Lily Deforce<sup>1</sup>, 伊藤直子, P. S. Song<sup>1</sup>, 古谷雅樹(理研・FRP, <sup>1</sup>Nebraska Univ.)
- 10:30 2aF04 大腸菌で発現させた II 型フィトクロム遺伝子 (phyB) の産物に対する単クローン性抗体の作製  
°長谷あきら, Enrique Lopez, 富沢健一, Steve A. Kay<sup>1</sup>, Reiner Kern<sup>1</sup>, Maria Deak<sup>1</sup>, Nam-Hai Chua<sup>1</sup>, 古谷雅樹(理研・FRP, <sup>1</sup>Rockefeller Univ.)
- 10:45 2aF05 The *lh* mutant of cucumber lacks a type II phytochrome protein (PhyB) and shows an extreme shade avoidance reaction.  
°Enrique Lopez, Akira Nagatani, Richard E. Kendrick<sup>1</sup>, Marten Koornneef<sup>1</sup>, Jan Wesselius<sup>1</sup>, Masaki Furuya (FRP, RIKEN, <sup>1</sup>Agricultural Univ., Wageningen)
- 11:00 2aF06 Approaches to identifying and isolating phytochrome-binding proteins.  
Partis M. D., °Thomas, Brian (Horticulture Research International, UK)
- 11:15 2aF07 Phytochrome regulation in *Pinus palustris*  
Silverthorne Jane (Univ. Calif., Santa Cruz, USA)
- 11:30 2aF08 Structure and expression of the *Phaseolus vulgaris* *rbcS* genes.  
°Jenkins G. I., Sawbridge T. I., Knight M. R., Urwin N. A. R., Lopez E. (Univ. Glasgow, UK)
- 11:45 2aF09 Developmental gradients and photoregulation of amylases in developing monocot leaves.  
Vally K. J. M., Datta R., °Sharma R. P. (Univ. Hyderabad, India)
- 12:00 2aF10 Light-induced increase in inositol triphosphate in cotyledons of *Pharbitis nil*.  
°Lumsden P. J., P. R. L. Bonner, S. L. Prior, A. H. Hetherington (Department of Applied Biology, Lancashire Polytechnic, Faculty of Science, UK)
- 12:15 2aF11 The phytochrome-mediated dephosphorylation of the phosphoproteins in oat cell.  
Park Moon-Hwan, °Quae Chae (Chungbuk National Univ., Korea)

第2日 3月29日(金) <午前の部> <午後の部>

G会場 植物ホルモン(I)

- 9:45 2aG01 ナガイモの内生ジベレリン  
 °丹野憲昭, 横田孝雄<sup>1</sup>, 阿部守, 岡上伸雄<sup>2</sup> (山形大・理, <sup>1</sup>帝京大, <sup>2</sup>東北大)
- 10:00 2aG02 エンドウ根のジベレリン誘導成長における細胞壁と細胞浸透圧の変化  
 谷本英一 (名古屋市立大・教養)
- 10:15 2aG03 エンドウ上胚軸の成長とインベルターゼ活性に対するジベレリンの影響  
 °宮本健助, 上田純一, 桃谷好英, 神坂盛一郎<sup>1</sup> (大阪府大・総合科学, <sup>1</sup>大阪市立大・理・生物)
- 10:30 2aG04 ジベレリン生合成阻害剤を用いた $\alpha$ -アミラーゼの誘導の抑制  
 °光永伸一郎, 林誠, 赤沢亮, 山口淳二 (名古屋大・農・生化学制御)
- 10:45 2aG05 アラビドプシスを用いた発芽制御機構の解析  
 °南原英司, 赤沢亮, Peter McCourt (名古屋大・農・生化学制御)
- 11:00 2aG06 細胞壁における矮性発現と植物ホルモンの関与  
 佐藤竹哉, °勝見允行 (国際基督教大・生物)
- 11:15 2aG07 ゼニゴケの細胞増殖に関するプロテインキナーゼ(PKase)とその細胞内基質  
 °金勝一樹, 道家建二郎, 大槻健蔵<sup>1</sup> (北里大・教養・生物, <sup>1</sup>北里大・衛生・生物科学)
- 11:30 2aG08 タバコ緑葉からの可溶性サイトカイニン結合蛋白質の単離とその性質(II)  
 °桃谷英樹, 辻英夫 (京都大・理・植生研)
- 11:45 2aG09 キュウリ・プラスチドの5-アミノレブリン酸合成に関与するtRNA<sup>asp</sup>の精製とその性質  
 °増田建, 小峰由里子<sup>1</sup>, 井口八郎<sup>1</sup>, C. G. Kannangara<sup>2</sup>, 辻英夫 (京都大・植生研, <sup>1</sup>京都大・生物物理, <sup>2</sup>Carlsberg Lab., Denmark)

第2日 3月29日(金) <午後の部>

A会場 植物ホルモン(II)

- 低幹仕立クワ (*Morus alba*) の枝の頂芽切除による側芽の発芽・伸長と不定節間脱離  
 鈴木健夫 (京都工繊大・繊維)
- 13:30 2pA02 ヤエベニシダレおよびヤマザクラにおける頂芽優勢  
 °中村輝子, 福地佳子, 早乙女真紀, 趙徳以, 橋和丘陽<sup>1</sup>, 岩崎文雄<sup>2</sup>, 石井幸夫<sup>3</sup> (日女大, <sup>1</sup>島津, <sup>2</sup>筑波大・農林, <sup>3</sup>森林総研)
- 13:45 2pA03 ジャスミン酸およびそのメチルエステルの離層形成促進作用  
 °上田純一, 宮本健助, 桃谷好英, 加藤次郎<sup>1</sup> (大阪府大・総合科学, <sup>1</sup>岡山理大・理)
- 14:00 2pA04 アブシジン酸類縁体に対するモノクローン抗体  
 °北川良親, 日諸啓子, 山本浩<sup>1</sup>, 折谷隆之<sup>1</sup> (秋田農短大・生工研, <sup>1</sup>東北大・農・農化)
- 14:15 2pA05 低温吸水によるコムギ種子胚のアブシジン酸感受性低下と mRNA の変化  
 °川上直人, 川端ちさと, 野田和彦 (横浜市立大・木原生研)  
 高等植物に対するルヌラリン酸の作用  
 °吉川博道, 土井恵子, 金田一秀 (九州共立大・工)
- 14:30 2pA07 Effects of phenolic substances and their interactions with ABA on seed germination and seedling growth of lettuce.  
 °Hai-Hang Li, Masafumi Inoue, Hiroyuki Nishimura and Junya Mizutani (新技術事業団)  
 アカバシカビの分生子発芽阻害物質の分離  
 °沖津由紀子, 中村輝子 (日本女子大・生物)
- 14:45 2pA09 ブランシステロイドの代謝と活性化  
 °横田孝雄, 鈴木啓之<sup>1</sup>, 高橋信孝<sup>1</sup>, 藤岡正三<sup>2</sup>, 桜井成<sup>2</sup> (帝京大・理工, <sup>1</sup>東京大・農化, <sup>2</sup>理研)
- 15:00 2pA10 イネの出液中サイトカイニンとその出穂後の変化——品種日本晴とアケノホシの比較——  
 °副島洋, 杉山民二<sup>1</sup>, 石原邦 (東京農工大・農, <sup>1</sup>明治大・農)

第2日 3月29日(金) <午後の部>

- 15:15 2pA11 タバコサイトカイニン結合蛋白質の精製  
 °三井真一, 杉浦昌弘(名古屋大・遺伝子実験施設)

B会場 光化学系II(II)

- 13:30 2pB01 酸性処理による異常 S<sub>2</sub> 生成の S-state 依存性  
 °沈建仁, 小野高明, 井上頼直(理研・太陽光科学)
- 13:45 2pB02 乾燥状態における光化学系II膜の S 状態遷移  
 °川本邦男, 浅田浩二(京都大・食研)
- 14:00 2pB03 クロマト光化学系II複合体の酸素発生能獲得に伴う生化学的变化  
 °篠原健司, 小野高明<sup>1</sup>, 井上頼直<sup>1</sup>(農水省・森林総研, <sup>1</sup>理研・太陽光科学)
- 14:15 2pB04 光合成酸素発生光活性化の量子収率——電子受容体の効果  
 °徳富光恵, 井上頼直(理研・太陽光科学)
- 14:30 2pB05 トウヒ葉緑体における光化学系IIの還元側の光活性化  
 °与志平尚, 小林善親, 奥達雄(九州大・農・林学)
- 14:45 2pB06 トリス処理グラナの酸素発生系での Mn-前処理による Mn の再結合について  
 °山下魏, 蝦名真澄(筑波大・生物)
- 15:00 2pB07 表在性 33kDa 蛋白は Cyt. b559 および *psb* I 産物と架橋する  
 °覆並勲, 太田幸子, 三橋智, 池内昌彦<sup>1</sup>, 加藤栄<sup>2</sup>(東理大・理, <sup>1</sup>理研, <sup>2</sup>東京大)
- 15:15 2pB08 3種の表在性蛋白を固定化した酸素発生標品の NaCl や尿素処理の影響  
 °覆並勲, 北村宣人, 清水威智郎, 加藤栄<sup>1</sup>(東理大・理, <sup>1</sup>東京大)
- 15:30 2pB09 藍色細菌 *Synechocystis* PCC6803 の光化学系II活性に対するベタインの添加効果  
 °林秀則, M. Mamedov, 和田元, 村田紀夫(基生研)

D会場 プロテアーゼ・情報伝達

- 13:30 2pD01 オオムギ・エチオプラストから可溶化したプロテアーゼによるクロロフィルタンパク質の分解  
 °本田忠紀, 伊藤寿, 田中歩, 辻英夫(京都大・理・植生研)
- 13:45 2pD02 メロン・セリンプロテアーゼの生合成と蓄積  
 °山形裕士, 山内靖雄, 大西達司<sup>1</sup>, 岩崎照雄(神戸大・農化, <sup>1</sup>現・サントリー中研)
- 14:00 2pD03 ホウレンソウ緑葉中におけるプロテアソームの精製とその性質  
 °尾崎昌彦, 佐藤隆英, 小倉長雄, 中川弘毅(千葉大・園芸・農芸化学)
- 14:15 2pD04 エンドウ葉緑体エンドペプチダーゼの精製と抗体作製  
 °清田誠一郎, 坂野勝啓(農水省・生物研)
- 14:30 2pD05 光化学系II反応中心サブユニット D-1 蛋白質の成熟化に関与する酵素の同定と性質  
 °藤田修嗣, 佐藤公行(岡山大・理)
- 14:45 2pD06 チラコイド膜結合プロリルエンドペプチダーゼのキャラクタリゼーション  
 °桑原朋彦, 鈴木恒平(東邦大・理・生物分子)
- 15:00 2pD07 アラスカエンドウにおける光信号伝達の分子機構  
 °蓮沼仰嗣, W. R. Briggs<sup>1</sup>(横浜市立大・木原生研, <sup>1</sup>カーネギー研, 植物)
- 15:15 2pD08 アカパンカビの ATP-GTP 結合蛋白質に関する生化学的また局在性に関する解析  
 蓮沼仰嗣(横浜市立大・木原生研)
- 15:30 2pD09 イネ篩管液中のタンパク質のリン酸化に関する光条件の影響  
 °中村進一, 林浩昭, 茅野充男(東京大・農)
- 15:45 2pD10 *Dunaliella tertiolecta* のカルシウム依存性プロテインキナーゼ  
 °湯浅高志, 武藤尚志(東京大・応微研)
- 16:00 2pD11 ラン藻スピルリナにおける cAMP の生理的意義

## 第2日 3月29日(金) <午後の部>

大森和子, °大森正之<sup>1</sup>(昭和女子大・生活科学, <sup>1</sup>東京大・海洋研)

### E会場 炭酸輸送・光合成活性

- 13:30 2pE01 *Chlorella regularis* の溶存無機炭素利用機構の特徴  
佐藤朗, °白岩善博(新潟大・理・生物)  
*Chlorella ellipsoidea* C-27 の cell cycle における光合成の無機炭素への親和性とカルボニックアンヒドラーゼ活性の変化  
°奈良真弓, 広川豊康<sup>1</sup>(新潟大・自然科学研究科, <sup>1</sup>新潟大・理・生物)
- 13:45 2pE03 シアノバクテリア *Synechococcus* sp. PCC7942 の無機炭素固定に関する遺伝子 *icfA*——遺伝子破壊による解析  
°鈴木英治, 小向豊<sup>1</sup>, 福沢秀哉<sup>2</sup>(茨城大・理・生物, <sup>1</sup>埼玉大・理・生化, <sup>2</sup>東京大・応微研)
- 14:00 2pE04 *Synechocystis* PCC6803 の無機炭酸輸送における *ndhB* 遺伝子の役割  
小川晃男(理研・太陽光科学)
- 14:15 2pE05 イネの葉の老化に対する光の効果  
°岡田克彦, 加藤栄(東京大・理・植物)
- 14:30 2pE06 イネ葉の老化過程における光強度が光合成能力に及ぼす影響  
°日出間純, 牧野周, 前忠彦, 小島邦彦(東北大・農・農化)
- 14:45 2pE07 黄色亀の尾の光合成特性——特に RubisCO の in vivo 活性について——  
°日出間純, 牧野周, 前忠彦, 小島邦彦(東北大・農・農化)
- 15:00 2pE08 コムギ第一葉における RuBisCO・LSU 分解物様ポリペプチドの免疫学的検出  
°鈴木正人, 前忠彦, 牧野周, 小島邦彦(東北大・農・農化)
- 15:15 2pE09 C<sub>3</sub> 型主要作物における窒素栄養に対する光合成特性の違い  
°牧野周, 坂下普志, 日出間純, 前忠彦, 小島邦彦(東北大・農・農化)
- 15:30 2pE10 リン酸欠乏ストレスのトウモロコシに及ぼす影響について I. 葉内リン酸, 生長, 光合成と光合成産物の分配について  
°臼田秀明, 下河原浩介(帝京大・医)

### F会場 オルガネラ

- 13:30 2pF01 葉緑体ゲノムの比較  
°島田浩章, 杉浦昌弘<sup>1</sup>(三井植物バイオ研, <sup>1</sup>名古屋大・遺伝子)
- 13:45 2pF02 暗所培養フタバネゼニゴケ細胞における葉緑体 DNA のメチル化について  
°滝尾進, 佐藤佳男, 佐藤敏生(広島大・理・植物)
- 14:00 2pF03 タバコ培養細胞におけるプロプラスチド DNA の複製  
°武田稷, 廣川秀夫<sup>1</sup>, 長田敏行<sup>2</sup>(名古屋大・農・生化学制御, <sup>1</sup>上智大・生命研, <sup>2</sup>東京大・理)
- 14:15 2pF04 ミカヅキモの葉緑体分裂  
箸本春樹(東京大・教養・生物)
- 14:30 2pF05 高等植物のミトコンドリア核 DNA 合成は分裂組織の特定部位でおこる  
°黒岩常祥, 藤江誠, 河野重行, 黒岩晴子<sup>1</sup>(東京大・理・植物, <sup>1</sup>上智大・生命研)
- 14:45 2pF06 単細胞真核紅藻 *Cyanidium caldarium* RK-1 型からの細胞核, ミトコンドリア, 葉緑体 DNA の単離  
°太田にじ, 河野重行, 長島秀行<sup>1</sup>, 黒岩常祥(東京大・理・植物, <sup>1</sup>東京理科大・理工)
- 15:00 2pF07 原色素体および葉緑体から単離した色素体核の遺伝子発現制御機構の解析  
°酒井敦, 河野重行, 長田敏行, 黒岩常祥(東京大・理・植物)
- 15:15 2pF08 ユーグレナ細胞の葉緑体形成過程における LHCP II 蛋白分子の動態  
°長船哲斎, 角田修次, 江原友子, 長谷栄二<sup>1</sup>, Jerome A. Schiff<sup>2</sup>(東医大・微生物, <sup>1</sup>帝京大・医, <sup>2</sup>ブランダイス大・光生物)

第2日 3月29日(金) <午後の部> 第3日 3月30日(土) <午前の部>

- 15:30 2pF09 ユーグレナ細胞の葉緑体形成過程における RuBisCO 蛋白質の局在性: モノクローナル抗体による免疫電顕観察  
 °江原友子, 長船哲斎, 久延薫<sup>1</sup>, 渡海寛<sup>2</sup>, 横田明穂<sup>2</sup>, 長谷栄二<sup>3</sup> (東医大・微生物,<sup>1</sup> 近畿大・農,<sup>2</sup> 大阪府大・農, <sup>3</sup> 帝京大・医)
- 15:45 2pF10 *Euglena* の緑化過程におけるプラスチド蛋白質合成速度の変化  
 °椎名隆, 福田功, 豊島喜則 (広島大・総合科学)

G会場 ストレス (II)

- 13:30 2pG01 ホウレンソウ緑葉に及ぼす亜硫酸, 硫酸の影響  
 °奥田晃典, 太田英二<sup>1</sup> (慶大・理工・物質科学, <sup>1</sup> 慶大・理工・計測)
- 13:45 2pG02 光・低温処理はキュウリチラコイド膜を uncouple する  
 °寺島一郎, 園池公毅, 河津維, 加藤栄 (東京大・理)
- 14:00 2pG03 ヤエナリ培養細胞の増殖周期に伴う耐冷性の変化  
 °八反田幸子, 吉田静夫 (北海道大・低温研)
- 14:15 2pG04 植物細胞のホメオスタシスと環境ストレス I. 低温ストレスによる細胞内 pH の変化  
 吉田静夫 (北海道大・低温研)
- 14:30 2pG05 低温によるコクズ幼根細胞内 pH の変化——<sup>31</sup>P NMR による測定  
 °小川知子, 太田英二 (慶大・理工・計測)
- 14:45 2pG06 <sup>1</sup>H-NMR 緩和時間でモニターしたヤエナリ胚軸での冷温及び高温ストレスへの特異的初期応答とタンパク合成  
 °井上真理, 賀来章輔 (九州大・教養・生物)
- 15:00 2pG07 クロレラの耐凍性獲得に伴う蛋白質合成の変化  
 溝田泰達, 城斗志夫, °吉元誠, 波多野昌二 (九州大・農・食化工)
- 15:15 2pG08 重水素の同位体効果によるクロレラの細胞膜構成脂質および細胞内微細構造の変化  
 °安藤一郎, 小池千恵子, 海野けい子, 岡田昌二, 波田野昌二<sup>1</sup> (静岡県大・薬, <sup>1</sup> 九大・農)
- 15:30 2pG09 クロレラ細胞の熱ショック応答における重水素の影響  
 °海野けい子, 荻野敦子, 岡田昌二 (静岡県大・薬)
- 15:45 2pG10 イネ科植物に対する重金属の影響  
 °井上雅裕, 遠山鴻, 城尾昌範, 村山徹郎 (愛媛大・理・生物)
- 16:00 2pG11 イネ水中芽生えの酸素適応過程におけるスーパーオキシドジスムターゼ・アイソザイムの消長  
 °丑丸敬史, 石田教弘<sup>1</sup>, 小川健一<sup>2</sup>, 柴坂三根夫<sup>3</sup>, 浅田浩二<sup>4</sup>, 辻英夫 (京都大・理・植生研, <sup>1</sup> 京都大・農・農, <sup>2</sup> 京都大・農・林工, <sup>3</sup> 岡山山大・資生研, <sup>4</sup> 京都大・食研)
- 16:15 2pG12 ホウレンソウ根の活性酸素防御系物質  
 田中浄<sup>1</sup>, °佐野朋子, 榊剛<sup>1</sup>, 菅原淳<sup>1</sup> (東邦大・理, <sup>1</sup> 国立環境研・生物)

第3日 3月30日(土) <午前の部>

A会場 脂質・生体膜

- 9:00 3aA01 種子の脂質蓄積に及ぼす光の影響  
 °稲永醇二, 西直子 (鹿児島大・農)  
 水ストレスによる緑葉の膜脂質代謝変化  
 °榊剛, 田中浄, 菅原淳 (国立環境研)
- 9:15 3aA03 クリプトモナスにおけるベタイン脂質の存在とその代謝  
 佐藤直樹 (東京大・理・植物)
- 9:30 3aA04 アズキ培養細胞のスフィンゴ脂質の代謝

第3日 3月30日(土) <午前の部>

- 9:45 3aA05 °小島道之, 西田生郎<sup>1</sup>, 村田紀夫<sup>1</sup>, 大西正男, 伊藤精亮(帯畜大・生物資源化学, <sup>1</sup>基生研)  
クラミドモナスの脂質代謝異常変異株の単離
- 10:00 3aA06 °佐藤典裕, 都筑幹夫<sup>1</sup>, 川口昭彦(東京大・教養, <sup>1</sup>東京大・応微研)  
形質転換によるラン藻 *Anacystis nidulans* R2-SPc の低温耐性能の獲得
- 10:15 3aA07 °和田元, Z. Gombos, 村田紀夫(基生研)  
シロイヌナズナのグリセロール-3-リン酸アシルトランスフェラーゼの cDNA の解析
- 10:30 3aA08 °西田生郎, 田坂恭嗣, 白石英秋, 村田紀夫(基生研)  
アシル(アシルキヤリアプロテイン) ハイドロラーゼの精製
- 10:45 3aA09 °今井博之<sup>1</sup>, 西田生郎<sup>1,2</sup>, 村田紀夫<sup>1,2</sup>(<sup>1</sup>総研大・生命科学, <sup>2</sup>基生研)  
原形質膜のプロトン輸送におけるリン脂質の分子種の影響
- 11:00 3aA10 °笠毛邦弘, 山西弘恭(農水省・食総研)  
塩ストレス状態のモヤシマメ幼根における原形質膜および液胞膜プロトンポンプの活性化
- 11:15 3aA11 °中村善行, 笠毛邦弘<sup>1</sup>, 太田英二, 坂田亮<sup>2</sup>(慶大・理工・計測, <sup>1</sup>農水省・食総研, <sup>2</sup>杏林大・医学)  
植物培養細胞の液胞膜ピロリン酸依存性プロトン輸送と塩ストレス
- 11:30 3aA12 °朽津和幸, 笠毛邦弘<sup>1</sup>(農水省・生物研・細胞生理, <sup>1</sup>農水省・食総研・分子情報解析)  
イネ根原形質膜からの NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 及び Cl<sup>-</sup> 輸送体の再構成について
- 11:45 3aA13 °原田久富美, 脇内成昭<sup>1</sup>, 末吉邦<sup>2</sup>, 王子善清<sup>2</sup>(神戸大・自然科学, <sup>1</sup>神戸大・共同研究センター, <sup>2</sup>神戸大・農・農化)  
CAM 植物葉の液胞膜のリンゴ酸輸送に関与する2種類のイオンチャンネルの生理的意義
- 12:00 3aA14 °岩崎郁子, 荒田博行, 楠見健介, 木島博正<sup>1</sup>, 西村光雄(九州大・理・生物, <sup>1</sup>名古屋大・理・物理)  
葉緑体共役因子 (CF<sub>1</sub>) の ATPase 素反応の解析
- 12:15 3aA15 °久堀徹, 吉田賢右<sup>1</sup>, 望月桂<sup>2</sup>(横浜市大・文理・生物, <sup>1</sup>東工大・生命理学, <sup>2</sup>横浜市大・文理・化学)  
ユリのミトコンドリア ATPase について
- 12:30 3aA16 °関谷次郎, 厚東良和, 小川貴代, 伊藤文, 多田幹郎(岡山大・農・生物資源)  
*Heterosigma akashiwo* の細胞膜結合, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 誘導性 26kD タンパク質の特性
- °三橋敏, 宮城布明, 佐藤忍, 藤伊正(筑波大・生物)

B会場 細菌光化学系・電子伝達系

- 9:00 3aB01 °村井忠司, 川端繁樹(富山県立大・工)  
緑色光合成細菌における反応中心活性の測定系の再構築
- 9:15 3aB02 °原正之, 三宅淳, 浅田泰男(通産省・微工研・エネルギー変換)  
光合成細菌光反応ユニットのシート形成の試み
- 9:30 3aB03 °奥村信巖, 嶋田敬三, 松浦克美(都立大・理・生物)  
緑色イオウ細菌 *Chlorobium limicola* における反応中心結合型チトクロム c の光酸化と再還元
- 9:45 3aB04 °原島圭二, 高市真一<sup>1</sup>(八千代国際大, <sup>1</sup>日本医大・生物)  
好気性光合成細菌 *Roseobacter denitrificans* におけるカロテノイドの嫌気条件下での光還元
- 10:00 3aB05 °荒田博行, 清水実, 高宮建一郎(九州大・理)  
*Rhodobacter denitrificans* (*Erythrobacter* sp. Och114) のトリメチルアミン N-オキシド呼吸に関する電子伝達系
- 10:15 3aB06 °米華玲, 遠藤剛, 浅田浩二(京大・食研)  
*Synechococcus* sp. PCC7002 の P<sub>700</sub> の酸化還元
- 10:30 3aB07 °前田広幸, 村上明男<sup>1</sup>, 小林正美<sup>2</sup>, 渡辺正, 藤田善彦<sup>1</sup>(東京大・生研, <sup>1</sup>基生研・細胞生物, <sup>2</sup>筑波大・物質工学)  
光適応した *Synechocystis* PCC6714 における光化学系反応中心の Chl a' と Pheo a 量による定量
- 10:45 3aB08 °三橋敏, 宮城布明, 佐藤忍, 藤伊正(筑波大・生物)  
チトクロム b<sub>6-f</sub> 複合体をめぐる電子伝達の温度依存性——*Synechocystis* PCC6714 の場合

### 第3日 3月30日(土) <午前の部>

- 11:00 3aB09 °村上明男, 顧天青<sup>1</sup>, 藤田善彦(基生研・細胞生物, <sup>1</sup>中国科学院・植物研)  
 チトクロム *b<sub>6-f</sub>* 複合体の電子伝達と PSI アセンブリの関係——*Synechocystis* PCC6714 の場合  
 村上明男, °藤田善彦(基生研・細胞生物)
- 11:15 3aB10 生葉での光化学系 I への電子供与プールサイズの光照射による増加  
 °浅田浩二, U. Schreiber<sup>1</sup>, U. Heber<sup>1</sup>(京都大・食研, <sup>1</sup>Univ. Würzburg)
- 11:30 3aB11 KCN による葉緑体酸素光吸収の促進  
 °遠藤剛, U. Schreiber<sup>1</sup>, C. Neubauer<sup>1</sup>, 浅田浩二(京都大・食研, <sup>1</sup>Univ. Würzburg)
- 11:45 3aB12 マレイミド化合物によるチラコイド膜からの H<sup>+</sup> 放出阻害  
 °山崎秀雄, 岡山繁樹<sup>1</sup>, 西村光雄(九州大・理, <sup>1</sup>九州大・教養)
- 12:00 3aB13 ゼンマイ胞子の発芽時における葉緑体の光化学的性質  
 °井上弘, 太田桂子, 田村典明(富山大・理・生物)
- 12:15 3aB14 マングローブチラコイド膜における光化学活性  
 °池原規勝, 嘉教修, 山城尚美, 新川百合子, Goh Chang Hyo(琉球大・理・生物)

### D会場 窒素代謝

- 9:00 3aD01 イネ・アスパラギン酸キナーゼの多様性——リジン及びスレオニン阻害型アイソザイム  
 °清田誠一郎, 坂野勝啓(農水省・生物研)
- 9:15 3aD02 *Spirulina platensis* のシステイン合成酵素  
 中村勝人(岐阜大・教養)
- 9:30 3aD03 イネ培養細胞の NADH 依存性グルタミン酸合成酵素の精製  
 °早川俊彦, 山谷知行, 小島邦彦(東北大・農)
- 9:45 3aD04 水稻葉の老化にともなう窒素転流とグルタミン合成酵素 (GS)——第13葉身の先端から基部における GS の挙動——  
 °蒲地一成, 山谷知行, 前忠彦, 小島邦彦(東北大・農)
- 10:00 3aD05 ダイズ登熟時の種皮, 子葉におけるグルタミン酸代謝関連酵素群の量的変動  
 °増田亮一, 蒲地一成<sup>1</sup>, 早川俊彦<sup>1</sup>, 山谷知行<sup>1</sup>, 小島邦彦<sup>1</sup>(農水省・食品総合研, <sup>1</sup>東北大・農)
- 10:15 3aD06 ホウレンソウ緑葉中に存在する同化型硝酸還元酵素不活性化因子の性質  
 吉村倫彰, °奥尾勝彦, 佐藤隆英, 小倉長雄, 中川弘毅(千葉大・園芸・農芸化学)
- 11:30 3aD07 ラン藻 *Trichodesmium* sp. NIBB1067 株の窒素固定活性発現の制御  
 °大城香, Jonathan P. Zehr<sup>1</sup>, 藤田善彦(基生研・細胞生物, <sup>1</sup>ニューヨーク州立大・海洋研)

### E会場 花成・生殖・オーキシン

- 9:00 3aE01 ノルエビネフリンから作られる *Lemna* の花成誘導物質  
 °貝原純子, 瀧本敦, 篠崎真輝(京都大・農・応用植物)
- 9:15 3aE02 ノルエビネフリンに由来する花成誘導物質の特性  
 °瀧本敦, 貝原純子, 篠崎真輝(京都大・農・応用植物)
- 9:30 3aE03 アオウキクサ151系統の花成誘導  
 °中山義雄, 田中修, 山本哲郎, 尾崎朋奈, 竹葉剛<sup>1</sup>(甲南大・理・生物, <sup>1</sup>京府大・生科)
- 9:45 3aE04 アオウキクサ花成誘導ポリペプチド cDNA の単離  
 °木戸毅, 木崎暁子<sup>1</sup>, 田中修<sup>2</sup>, 葛西善三郎, 竹葉剛<sup>3</sup>(近畿大・農化, <sup>1</sup>京都大・農生, <sup>2</sup>甲南大・生, <sup>3</sup>京都府大・生科)
- 10:00 3aE05 *Lemna* におけるピベコリン酸の花芽誘導活性  
 °藤岡昭三, 桜井成(理化学研)
- 10:15 3aE06 アスパラガスの花成誘導とフェニルプロパノイド代謝に対するカーバメイト誘導体の影響  
 °篠崎真輝, 吉田和市, 岩村叔, 原高峰, 谷垣文章<sup>1</sup>(京都大・農・応植, <sup>1</sup>京都大・農・農化)

第3日 3月30日(土) <午前の部>

- 10:30 3aE07 アミノオキシン酢酸関連化合物の花芽形成抑制  
°天笠正, 水貝宗治, 小川正巳(三共(株)農薬研)
- 10:45 3aE08 ニンニクの稔性に関する研究 I. ウイルスフリー化の効果  
°大住千栄子, 久保田かおる, 林隆久<sup>1</sup>, 小島昭夫<sup>2</sup>, 日向康吉<sup>2</sup>, 衛藤威臣<sup>3</sup>(味の素中研, <sup>1</sup>京大・木研, <sup>2</sup>東北大・農, <sup>3</sup>鹿児島大・農)
- 11:00 3aE09 クラミドモナスの接合直後に発現される遺伝子群の cDNA クローニング  
°内田英伸, 佐藤直樹, 河野重行, 中村宗一<sup>1</sup>, 黒岩常祥(東京大・理・植物, <sup>1</sup>琉球大・教養・生物)
- 11:15 3aE10 ミカヅキモの有性生殖過程の解析——生理活性糖タンパク質の作用発現に関わる諸要因  
°関本弘之, 藤伊正(筑波大・生物科学)
- 11:30 3aE11 トウモロコシの根の伸長における IAA と ABA の作用と根冠の役割  
°鈴木隆, 田畑広志(山形大・教育)
- 11:45 3aE12 ユニコナゾール存在下で GA・IAA が伸長成長のパラメーターに与える効果の比較検討  
°岡本朱根, 勝見允行<sup>1</sup>, 岡本尚(名古屋大・理・生物, <sup>1</sup>国際基督大・生物)  
インドールアセトアミドの定量法と果実形成におけるその変動  
°川口正代司, 庄野邦彦(東京大・教養・基礎科)
- 12:00 3aE14 トウモロコシ子葉鞘インドールアセトアルデヒド酸化酵素によるトリプトファンからの IAA 合成  
小柴共一(都立大・理・生物)

F会場 オルガネラ・タンパク輸送

- 9:00 3aF01 酵母における自食作用 (Autophagy) の発見  
°大隅良典, 馬場美鈴<sup>1</sup>, 竹重一彦(東京大・教養・生物, <sup>1</sup>工学院大・電気工学)
- 9:15 3aF02 酵母における自食作用誘導条件とその生理的役割  
°竹重一彦, 馬場美鈴<sup>1</sup>, 大隅良典(東京大・教養・生物, <sup>1</sup>工学院大・電気工学)
- 9:30 3aF03 イネ培養細胞におけるゴルジ体糖タンパク質の検出  
°木村信<sup>1</sup>, 渋谷奈津子, 橋本憲明, 三ツ井敏明, 伊賀上郁夫(新潟大・農化, <sup>1</sup>新潟大・自然科学)
- 9:45 3aF04 アントシアニン高生産性サツマイモ培養細胞からの液胞の単離と液胞内タンパク質の解析  
°野末雅之, 久保浩義, 保谷彰彦, 安田斉(信州大・理・生物)
- 10:00 3aF05 サツマイモ培養細胞におけるクロロゲン酸合成の細胞内局在性  
°加藤朗, 野末雅之(信州大・理・生物)
- 10:15 3aF06 スポラミン前駆体プロベプチドの機能の解析  
°松岡健, 椋本藤夫, 中村研三(名古屋大・農・生化)
- 10:30 3aF07 プロテインボディタンパク質の輸送におけるデンスベシクルの役割  
°西村いくこ<sup>1</sup>, 井上香織<sup>1,2</sup>, 西村幹夫<sup>1</sup>(<sup>1</sup>基生研・細胞生物, <sup>2</sup>神戸大・理)
- 10:45 3aF08 カボチャ子葉細胞内の輸送小胞(デンスベシクル)の解析  
°井上香織<sup>1,2</sup>, 西村幹夫<sup>1</sup>, 西村いくこ<sup>1</sup>(<sup>1</sup>基生研・細胞生物, <sup>2</sup>神戸大・理・生物)
- 11:00 3aF09 Enzymes of the glyoxylate cycle in senescing pumpkin cotyledons.  
°L. De Bellis<sup>1</sup>, M. Nishimura (Nat. Inst. Basic Biology, Okazaki, <sup>1</sup>Univ. Pisa, Italy)
- 11:15 3aF10 カボチャグリオキシゾーム酵素リンゴ酸シンターゼは動物細胞のパーオキシゾームに輸送される  
°西村幹夫, 森仁志, 横田貞記<sup>1</sup>, 三木清<sup>2</sup>, 北川泰雄<sup>2</sup>, 赤沢亮<sup>2</sup>(基生研, <sup>1</sup>山梨医大, <sup>2</sup>名古屋大・農)
- 11:30 3aF11 発芽ヒマ種子における非特異性脂質転移タンパク質のマイクロボディへの細胞内輸送  
°坪井滋, 槻木竜二<sup>1</sup>, 西村幹夫<sup>1</sup>, 山田晃弘(東京大・教養, <sup>1</sup>基生研・細胞生物)
- 11:45 3aF12 カボチャ・ミトコンドリア・シャペロン60の cDNA クローニングとその構造解析  
°槻木竜二<sup>1,3</sup>, 森仁志<sup>2</sup>, 西村幹夫<sup>1</sup>, <sup>3</sup>(<sup>1</sup>基生研・細胞生物, <sup>2</sup>制御機構, <sup>3</sup>総合研究大学院・生命科学)
- 12:00 3aF13 チラコイド内腔に局在する蛋白質の輸送機作

第3日 3月30日(土) <午前の部> <午後の部>

°小西智一, 渡辺昭(名古屋大・農・生化学制御)

G会場 光生物学(Ⅱ)

- 9:00 3aG01 フィトクロム二量体分子内の発色団配向モデル  
°徳富哲, 三室守(基生研)
- 9:15 3aG02 エンドウ121 kDa フィトクロムの分子表面の Pr と Pfr における疎水性, チャージ等の差異について  
°中澤美紀, 吉田裕二, 真鍋勝司(横浜市大・生物)
- 9:30 3aG03 トランスジェニック植物におけるエンドウフィトクロム I. GUS 融合遺伝子の発現制御  
°山下博史, 米田好文, 内藤哲, 佐藤直樹<sup>1</sup>(東京大・遺伝子, <sup>1</sup>東京大・理・植物)
- 9:45 3aG04 赤色光で誘導されるカラクサハウライシダ幼葉の光屈性  
°清ひろ子, 和田正三(都立大・理・生物)
- 10:00 3aG05 藓類ケヘチマゴケ原糸体(stage of primary chloronema)の光屈性反応に及ぼす偏光の影響  
°江口享, 岡野聡, 坂本顕久(山口大・理・生物)
- 10:15 3aG06 西洋わさび毛状根からの不定芽形成に対する光の効果  
°齋藤力, 鎌田博, 原田宏, 渡辺正勝<sup>1</sup>(筑波大・生物, <sup>1</sup>基生研)
- 10:30 3aG07 ハツカダイコンの代謝活性に及ぼす UV-A の促進作用  
°手塚修文, 山口文子, 安藤由香(名古屋大・農・園芸)
- 10:45 3aG08 近紫外線によるショックタンパクの合成  
柴田均, °馬場克也, 落合英夫(島根大・農・生物機能学)
- 11:00 3aG09 エンドウから見出された UVB 吸収物質  
°鶴見誠二, 高木敏宏<sup>1</sup>, 橋本徹<sup>1</sup>(神戸大・自然科学, <sup>1</sup>神戸大・理)
- 11:15 3aG10 長波長紫外光による *Saccharomyces cerevisiae* 細胞膜の機能損傷  
多田幹郎, °荒見真一郎, 板谷安佐子, 波多野正, 関谷次郎(岡山大・農)
- 11:30 3aG11 青色光によるヘキサース取り込み阻害に対するカルシウム効果  
神谷明男(帝京大・薬・化学)

第3日 3月30日(土) <午後の部>

B会場 光合成色素系

- 13:30 3pB01 メタノール資化性・好気性光合成細菌のカロテノイド酸の構造と性質  
°高市真一, 斉藤智<sup>1</sup>, 西村行正(日本医大・生物, <sup>1</sup>東京理大・応用生物)
- 13:45 3pB02 海洋性・好気性光合成細菌 *Erythrobacter longus* の硫酸エステルをもつ新カロテノイドについて  
°高市真一, 石津純一, 嶋田敬三<sup>1</sup>(日本医大・生物, <sup>1</sup>都立大・理・生物)
- 14:00 3pB03 *Alexandrium tamarense* のベリジニンクロロフィル蛋白中でのベリジニンのコンフィギュレーション  
°栗本宣孝, 橋本秀樹, 小山泰, 山野由美子<sup>1</sup>, 実智子<sup>1</sup>, 小松まり<sup>1</sup>, 伊藤允好<sup>1</sup>, 島村敏夫<sup>2</sup>, 緒方武比古<sup>3</sup>, 三室守<sup>4</sup>(関学大・理, <sup>1</sup>神戸女子薬大, <sup>2</sup>日東技術情報センター, <sup>3</sup>北里大・水産, <sup>4</sup>基生研)
- 14:15 3pB04 バクテリオクロロフィル a 三重項励起状態の共鳴ラマンスペクトル——配位状態の影響——  
°西澤栄一, 小山泰(関西学院大・理)
- 14:30 3pB05 緑色硫黄細菌のクロロソームと再構成色素集合体における酸化・還元状態による蛍光強度変化  
°廣田雅光, 松浦克美, 嶋田敬三(都立大・理・生物)
- 14:45 3pB06 ヘキサノール処理クロロソームにおける励起エネルギー移動と色素分子間相互作用  
°松浦克美, 嶋田敬三, 山崎巖<sup>1</sup>, 西村賢宜<sup>1</sup>, 三室守<sup>2</sup>(都立大・理・生物, <sup>1</sup>北海道大・工・化合, <sup>2</sup>基生研)
- 15:00 3pB07 Ultra weak light, delayed light emission and delayed fluorescence from chloroplasts (emission spectra)  
°E. Hideg<sup>1</sup>, R. Q. Scott<sup>1</sup>, 小林正樹<sup>1</sup>, 稲場文男<sup>1</sup>, <sup>2</sup>(<sup>1</sup>新技術事業団生物フォトン, <sup>2</sup>東北大・電

第3日 3月30日(土) <午後の部>

気通信研)

- 15:15 3pB08 アンテナ-反応中心相互作用. 緑色植物におけるその概念の展開  
三室守(基生研)
- 15:30 3pB09 好熱性フィコシアニンの構造解析  
°平野昌彦, 島津恒夫, 川口謙, 小沢均, 谷村隆次<sup>1</sup>, 加藤榮<sup>2</sup>(東レ・リサーチセンター, <sup>1</sup>東レ・基礎研, <sup>2</sup>東京大・理・植物)
- 15:45 3pB10 褐藻 *Ectocarpus* の色素蛋白質  
°田中歩, 加藤哲也<sup>1</sup>(京都大・理・植生研, <sup>1</sup>京都大・理・植物)
- 16:00 3pB11 光合成における集光性クロロフィルタンパク質の役割——イネクロロフィル b 突然変異株による解析——  
°小林善親, 山本晃市, 与志平尚, 奥達雄(九州大・農・林学)

C会場 光合成機能発現(II)

- 13:00 3pC01 アラビドプシスにおけるメタロチオネイン様遺伝子のクローニング  
°高橋啓史郎, 川嶋一郎, 茅野充男(東京大・農)
- 13:15 3pC02 クラミドモナス炭酸脱水酵素の発現——アイソザイム(CAH2 遺伝子産物)の同定  
°福澤秀哉, 立木光, 宮地重遠<sup>1</sup>(東京大・応微研, <sup>1</sup>海洋バイオ研)
- 13:30 3pC03 マツ *rbcs* 遺伝子プロモーターによる GUS 遺伝子の光に依存しない恒常的発現  
°山本直樹, 広瀬咲子<sup>1</sup>, 小島克己<sup>2</sup>(森林総研, <sup>1</sup>東北大・理, <sup>2</sup>東京大・農)
- 13:45 3pC04 タバコ葉緑体リボヌクレオプロティンをコードする核遺伝子  
°叶麗珍, 李育庆, 杉田護, 杉浦昌弘(名古屋大・遺伝子実験施設)
- 14:00 3pC05 トウモロコシ PPK 遺伝子の発現調節領域  
°松岡信, 沼沢達夫<sup>1</sup>(農水省・生物研, <sup>1</sup>日本ゼオン)
- 14:15 3pC06 C<sub>3</sub>植物における PPK 遺伝子について  
°今泉信之, 鮫島宗明<sup>1</sup>, 石原邦, 松岡信<sup>1</sup>(東京農工大, <sup>1</sup>農水省・生物研)
- 14:30 3pC07 トウモロコシ C<sub>4</sub> 光合成遺伝子の転写活性の窒素による制御  
°鈴木石根, Claude Cretin<sup>1</sup>, James N. Burnell<sup>2</sup>, 松岡信<sup>3</sup>, 杉山達夫(名古屋大・農・農化, <sup>1</sup>CNRS, Orsay, <sup>2</sup>Bond Univ., <sup>3</sup>農水省・生物資源研)
- 14:45 3pC08 パーティクルガンを用いた PEP カルボキシルラーゼ遺伝子の転写調節領域の解析  
°沼沢達夫, 村上(嘉納)ゆり子<sup>1</sup>, 松岡信<sup>2</sup>(日本ゼオン, <sup>1</sup>農水省・果樹試, <sup>2</sup>農水省・生物研)
- 15:00 3pC09 Regulation of expression of PEP-carboxylase and carbonic anhydrase by nitrogen in detached maize leaf.  
°Bambang Sugiharto, JN. Burnell<sup>1</sup>, T. Sugiyama(Nagoya Univ., <sup>1</sup>Bond Univ.)
- 15:15 3pC10 葉緑体未知遺伝子と相同性をもつ大腸菌 *dedB* 遺伝子に関する研究  
°永野幸生, 村井宣彦, 松野隆一, 佐々木幸子(京都大・農・食品工学)
- 15:30 3pC11 光合成細菌 (*R. rubrum*) の 50Kb プラスミドについて  
°長谷篤, 横村英一<sup>1</sup>, 小笠原豊<sup>2</sup>, 中村運<sup>2</sup>(大阪市環科研, <sup>1</sup>奈良女子大・理, <sup>2</sup>甲南大・理)
- 15:45 3pC12 光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* のプラスミド pKY1 上の DNAinvertase について  
°井手口隆司, 金福煥, 胡澄, 西瀬弘<sup>1</sup>, 山下仁平<sup>2</sup>, 角野富三郎(大阪大・蛋白研, <sup>1</sup>甲子園大, <sup>2</sup>大阪大・RI センター)

E会場 植物ホルモン(III)

- 13:30 3pE01 ニンジクラウンゴールにおけるアミノ酸結合型 IAA 生成の制御に関する研究  
°佐々木和生, 鎌田博, 原田宏(筑波大・生物科学)
- 13:45 3pE02 2,4D の除去及び再添加によるニチニチソウ同調培養系において発現する cDNA の単離  
°大西直人, 駒嶺穆(東北大・理・生物)
- 14:00 3pE03 タバコ par (protoplasts auxin-regulated) 遺伝子の器官特異的発現およびその制御領域の解析

第3日 3月30日(土) <午後部>

- °丹羽康夫, 高橋陽介<sup>1</sup>, 町田泰則(名古屋大・理・生物, <sup>1</sup>東京大・理・植物)
- 14:15 3pE04 新しい auxin regulated gene parB の構造と機能  
°高橋陽介, 長田敏行(東京大・理)
- 14:30 3pE05 微量 D-トリプトファン量の測定法とその植物体への応用  
°鶴崎健一, 桜井直樹, 倉石晋(広島大・総科)
- 14:45 3pE06 カゼクサ種子の休眠制御とアミノ酸代謝——エチレンと熱処理の影響  
°鈴木章方, 高崎淳一, 佐藤智英(山梨大・教育・生物)
- 15:00 3pE07 ニホンナシ果実のエチレン生成に関与するカルシウム, カルモジュリンの役割  
°田中敬一, 木村秀樹, Nagin Lallu<sup>1</sup>(農水省・果樹試, <sup>1</sup>ニュージーランド DSIR)
- 15:15 3pE08 傷害誘導エチレン生成と傷害エチレンの酵素誘導に対する関与  
°兵藤宏, 田中邦明, 鈴木達也(静岡大・農・生物生産)
- 15:30 3pE09 トマト ACC 合成酵素の cDNA のクローニング  
°森仁志, 今関英雅(基生研)
- 15:45 3pE10 カボチャオーキシン誘導 ACC 合成酵素の cDNA クローニング  
°中川直樹, 山崎健一, 今関英雅(名古屋大・農・生化学制御)
- 16:00 3pE11 エチレンによって誘導される酸性キチナーゼと塩基性パーオキシダーゼの cDNA の構造とその発現  
°石毛郁治, 森仁志<sup>1</sup>, 山崎健一, 今関英雅(名古屋大・農・生化学制御, <sup>1</sup>基生研・情報制御)



日本植物生理学会1991年度年会の開催にあたり、多くの企業、研究所等から広告、器機展示、寄付等の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。(順不同)

和光純薬工業株式会社

宝酒造株式会社

株式会社 サカタのタネ

中西印刷株式会社

カルチャーホテル

川西医科器械株式会社

アロカ株式会社

タイテック株式会社

株式会社 秀潤社

フナコシ株式会社

株式会社 資生堂研究所

コスモ・バイオ株式会社

ヤクルト薬品工業株式会社

三共株式会社

生化学工業株式会社

株式会社 ニコン

ベックマン株式会社

株式会社 日科機

アプライドバイオシステムズ ジャパン株式会社

オリンパス光学工業株式会社

旭光通商株式会社

株式会社 ピーシーシーテクノロジー

株式会社 豊饒書館

高塚薬品株式会社

岡山理化学器械店

浜松ホトニクス株式会社

パーガモンプレス・ジャパン

ワードスター・ジャパン株式会社

株式会社 朝倉書店

北興化学工業株式会社

新青山株式会社

大塚電子株式会社

塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ

日立冷熱株式会社

株式会社 トミー精工

キャノン販売株式会社

カールツァイス株式会社

株式会社 ニュートリノ

ビューローホソヤ



特 別 講 演  
シ ン ポ ジ ウ ム



## Plenary Lecture ( I )

### MOLECULAR LIGHT SWITCHES FOR PLANT GENES

Nam-Hai Chua, Philip Gilmartin, Kazuyuki Hiratsuka, and Xiao-Dong Wu

Laboratory of Plant Molecular Biology,

The Rockefeller University,

U.S.A.

The regulation of gene expression by light underlies many important developmental processes in plants. Our laboratory has chosen the pea *rbcS-3A* as a paradigm to investigate the molecular mechanisms of the light-response and its signal transduction pathway. Extensive *cis*-element analysis of transgenic plants revealed that the 5' upstream region of *rbcS-3A* contains multiple light-responsive elements ( LREs ). One such element, located between -166 and -50, can confer light-responsive expression upon the homologous promoter, as well as heterologous promoters ( 3-5S and *nos* ). Moreover, transcription of -166 *rbcS-3A* in transgenic etiolated seedlings is induced by red light and suppressed by far-red light, indicating that it contains a phytochrome responsive element.

The -166 to -50 region contains two conserved sequences, boxes II and III that serve as binding sites for the nuclear factor GT-1. Analysis of site-specific mutants of pea *rbcS-3A* promoter demonstrated that GT-1 binding *in vitro* is correlated with light-responsive expression of the *rbcS* promoter in transgenic plant. Indeed, a synthetic tetramer of box II ( -152 TGTGTGGTTAATA-TG-138 ) inserted upstream of the -90 CaMV 35S promoter is sufficient to confer light-responsive transcription in chloroplast-containing cells of transgenic plants. The expression is correlated with the ability of box II to bind GT-1 *in vitro*. Our data shows that the binding site for GT-1 is likely to be a part of the molecular light-switch for *rbcS* activation.

By screening cDNA expression libraries, we have isolated cDNA clones encoding tobacco and *Arabidopsis* GT-1. Comparative gel shift experiments using box II and its mutant derivatives as discriminating probes, demonstrated that the nuclear GT-1 and the recombinant GT-1 have the same binding specificity. Nucleotide sequence analysis showed that the proteins contain a basic region abutting a presumptive helix-loop-helix ( HLH ) motif. A truncated protein containing only these two domains was competent in box II binding. The mRNA encoding GT-1 is present in light-grown, as well as dark-adapted leaf tissues. This is consistent with the finding that GT-1 activity is detected in both tissues. Binding of GT-1 to box II is sensitive to phosphatase-treatment, suggesting that GT-1 phosphorylation precedes DNA-binding and is a potential regulatory step.

## Plenary Lecture ( II )

### THE ROLE OF PLASMODESMATA IN INTERCELLULAR TRANSPORT IN PLANTS

William J. Lucas

Department of Botany

University of California Davis, U.S.A.

Plasmodesmata are complex plasma membrane-lined pores that form cytoplasmic bridges between neighboring plant cells. The diameter of this pore is in the range of 60 nm. The central region of the pore is occupied by the desmotubule ( or axial component ). Current models of the desmotubule suggest that although this structure is continuous with the endoplasmic reticulum of the neighboring cells, it may not, under normal physiological conditions, have an associated lumen, but rather it may exist as a lipidic cylinder. In this situation, cytoplasmic continuity would occur through the cytoplasmic annulus, or sleeve, that is located between the plasma membrane and the desmotubule ( approximate width of 8–15 nm). The limits on the size of molecules that can pass through this cytoplasmic sleeve are on the order of 800 daltons. It is presently thought that these limits are established by a special class of plasmodesmatal proteins, whose spatial distribution, along the length of the cytoplasmic sleeve, results in the formation of numerous "micro-channels" ( diameters of approx. 3 nm ) that function as molecular sieves. Molecular traffick through this cytoplasmic sleeve appears to occur by simple diffusion and thus, in a physiological sense, this route constitutes the rate limiting step within the symplasmic pathway.

The fine structure, development and dynamics of plasmodesmata will be presented to provide the framework for a discussion of their roles in intercellular transport of metabolites, for biochemical coupling, and cell-to-cell communication, as it relates to the orchestration of plant developmental.

It has long been known that plant viruses move through plasmodesmata during systemic infection. This virus-plasmodesmata interaction will be presented as an ideal system for the molecular characterization of plasmodesmata. Recent studies in our laboratory have established that transgenic tobacco plants, expressing a 30-KDa TMV protein, have plasmodesmata in which the molecular size exclusion limits are greatly increased above those found in normal plants. Developmental and dynamic aspects of plasmodesmata-TMV movement protein interaction, as well as the limits imposed on photosynthesis by the symplasmic pathway, have been explored using a range of TMV 30-kDa MP expressing plants. This system will be discussed in terms of probing physiological and developmental aspects of plasmodesmata.

病原に対する高等植物の  
抵抗性機構

真山 滋志 (神戸大・農・植病)

非宿主抵抗性と特異的抵抗性：植物病原菌は感染できる宿主植物が限られており、それぞれ固有の植物種に寄生力を発揮し、病原体となる。多くの植物は感染を許さない（非宿主抵抗性）。また、特定の病原菌が植物に寄生できても、栽培植物には育種によって抵抗性遺伝子が導入され、多くの品種が存在し、病原菌にも変異によって多くのレースが出現する。その結果、植物品種と病原菌レース間では特定の組み合わせで特異的抵抗性が起こる。この品種特異的抵抗性は、植物の抵抗性遺伝子とそれに特異的に反応する病原菌の非病原性遺伝子との相補的な作用により起こることが明らかにされている（遺伝子対遺伝子説）。

受動的抵抗性と誘導抵抗性：植物の抵抗性発現には、病原菌の侵入前に植物にすでに備わった細胞壁の物理的性質や先在性抗菌物質による受動的抵抗性と、侵入後に植物体に誘導される誘導抵抗性がある。誘導抵抗性には病原体の侵入点での細胞壁のリグニン化やパピラ形成、侵入細胞やその隣接細胞での先在性抗菌物質の増加、不活性化化合物の抗菌化および新たに生成誘導されるファイトアレキシン蓄積などがある。

誘導抵抗性と過敏感反応：誘導抵抗性は非宿主抵抗性および品種特異的抵抗性のいずれでも起こるが、特に後者の場合には重要視されている。一般に誘導抵抗性が起こる場合、病原菌の侵入を受ける宿主細胞では過敏感反応といわれる急激な細胞反応が起こる。すなわち、侵入を受ける細胞では、細胞内顆粒の激しい流動が侵入点方向に向かって起こり、侵入直下に滞留する。しばらくして原形質流動が停止し、最終的に細胞全体が崩壊する。抵抗性が弱いか罹病性の場合、過敏感反応はその程度が弱く、かつ遅れる。さび病などの絶対的寄生菌の完全な親和性の場合には過敏感反応は起こらない。この急激な宿主細胞のストレス反応の過程で二次代謝活性が増高し、ファイトアレキシンが生成蓄積するか、抗菌性の過酸化脂質等が生成する。このような感染部位に局在した誘導抵抗の他、原因不明ながら感染により全身的に抵抗性が誘導される場合がある。

抵抗性誘導の認識機構：過敏感反応やファイトアレキシン生産を伴う特異的抵抗性発現は病原体と植物細胞間の認識反応に基づくものであり、特異的抵抗性遺伝子は実は抵抗性を始動する認識物質を規定する遺伝子と考えられる。病原体にファイトアレキシン生成を始動する認識物質（エリシター）の存在が想定されて以来、多くのエリシターや、また、逆に抵抗性発現を抑制するサプレッサーも見出されている。現在、抵抗性発現に至る、認識、情報伝達、遺伝子発現の調節機構の解明が試みられている。

甲元啓介 (鳥取大・農・生物資源科学)

近年、病原菌の侵入事前行動や感染初期に起こる寄生者・感受体間の信号因子の授受・伝達過程の中に、病原性の発現機構や宿主決定機構を求めようとする仮説が注目されている。この作業仮説に具体性を与えたのが宿主特異的あるいは宿主選択的毒素（以下、HSTと略す）である。HSTは病原菌の宿主となる特定の植物種あるいは品種だけに作用する毒素である。今日、明確にHST生産菌として知られている植物病原菌は *Alternaria*, *Helminthosporium*等14例に達している。HST依存の植物感染の構図は、1) 病原胞子発芽時のシグナルHSTの放出、2) 宿主に存在する毒素受容体によるHST情報の選択的認識、3) 次いで宿主細胞内への情報伝達による病原菌受容化体制の醸成、と想定されている。

これまでに判明したHSTの大部分は、微量物質の単離技術、構造分析機器の急速な進歩によって、相次いで構造が明らかとなった。いずれも $10^{-8}$ ~ $10^{-9}$ モルという低濃度で、しかも高度の選択毒性を発揮する。きわめて興味深いことは、ナシ黒斑病菌のAK毒素、イチゴ黒斑病菌のAF毒素、及びタンゼリンbrown spot病菌のACT毒素がその構造中に $\omega$ -エポキシデカトリエン酸を共有し、且つ固有の選択毒性で各病原菌の宿主範囲を代弁することである。発芽時に放出されるHSTは発芽胞子当たりpg~fgに達する。活性-構造相関研究とともに、HST生合成機構と病原性遺伝子の関係を分子遺伝学的に明確にすることが緊要である。

HSTの発見当初から、感受性植物側にHSTを識別する因子（毒素受容体）の存在が想定されていたが、その直接的証明はなかった。しかし、ここ数年、米国において、この分野の研究が急進展した。トウモロコシごま葉枯菌病レースTのHMT毒素の受容体はT型細胞質雄性不稔系統のミトコンドリアに特異的に生成される13KDペプタイドであるとの報告がなされ、エンバクVictoria blight病菌のHV毒素(victorin)受容体は感受性エンバクに存在する100KD蛋白質であると示唆された。

HSTの第一次作用点は細胞膜、葉緑体、ミトコンドリアと毒素の種類によって明らかに異なるが、病理学的には感染場面で宿主植物の病原菌受容化という共通した作用を果たしている。その作用過程を化学的修飾剤、阻害剤、光などの各種人為処理によって解剖的解析した結果、1) たといHSTの作用点は異なっても、その作用過程には宿主細胞膜の機能障害が誘起されること、2) HSTによる菌受容化には、宿主細胞の致死は不必要で、細胞膜の機能障害が重要であることを示した。

病原胞子はHST以外に、植物の抵抗反応を誘導する物質(inducer)も発芽液中に放出している。しかし、inducerによる抵抗性発現には少なくとも4~6時間を要する。一方、HST作用は殆ど瞬時に示される。例えば、AK毒素とinducerを同時にナシ葉に処理すると、抵抗反応の発現はみられず、菌の感染が誘発された。したがって、HSTの役割は宿主抵抗反応の発現停止にあり、そのようないわば麻酔状態下の宿主組織に菌は侵入し、感染が成立するものと考えられる。

HST認識から菌受容化に至る分子機構の解明が今後の重要課題である。

白石友紀・山田哲治・奥 八郎 (岡山大学農学部)

植物も、これを侵そうとする微生物に対して自身を守る機構を備えている。一つには先天的な保護組織や抗菌性成分の存在などの静的抵抗性といわれる性質であり、もう一つは微生物の攻撃を受けた際に発現される動的な抵抗機構である。抵抗性の主体は後者にあるものと考えられており微生物の行動やその生産物に反応した宿主が物理的・化学的な障壁を構築した結果、微生物の侵入・定着・発病の過程が抑止されるものと推定できる。植物に抵抗性を誘導する物質はInducerあるいはElicitor (以下E)と呼ばれている。1970年代になって、Eによって誘導される抵抗反応を抑制する物質(Suppressor、以下S)の検索がなされ、それ以降8種の病原糸状菌より発見された。Sの活性は、Eで処理された植物におけるファイトアレキシン(PA)や感染阻害物質生産の抑制、過敏細胞死の阻害、また非病原菌にたいする感染誘導能などで調べることができる。以下に、著者らがエンドウ - 褐紋病菌 (*Mycosphaerella pinodes*)の系を用いて行った研究を紹介する。

褐紋病菌は自然界では通常分生孢子で伝播・感染する。そこで、孢子によるEとSの生産の時期と量を調べた結果、病原菌といえども自らの宿主に作用するEを3時間後には生産した。一方、Sは病原菌だけが宿主と接触した直後から生産することから、Sの生産に特異性があることが判った。これらを精製したところ、Eは分子量約7万のグルコース・マンノースを含む多糖であり、またSは分子量6千以下の糖ペプチドであった。Sはプロテイナーゼで失活する。

E処理葉に於ける抵抗性の発現速度を生物検定により求めた結果、Eの処理が接種よりも1時間先行すると褐紋病菌の感染は顕著に抑制される事が判明し、さらにEによるこのような感染阻害作用(未同定の感染阻害因子が生成される)は、あらかじめSを添加しておくことと認められなくなった。エンドウの非病原菌にSを添加してマメ科植物に接種すると、褐紋病菌の宿主であるエンドウなど数種の植物に感染できるようになった。この結果は、Sが褐紋病菌の宿主特異性決定因子であることを強く示唆している。

次に、エンドウのPAであるピサチンの蓄積に及ぼすEとSの作用を調べた結果、Eの処理で1時間以内にピサチン合成系の律速酵素であるフェニルアラニンアンモニアリアーゼ(PAL)やカルコン合成酵素遺伝子の活性化→2-3時間でPALの活性増加→6-9時間でピサチンの蓄積が誘導されるが、Sはこの一連の発現系を一時的に(3-6時間)停止させる作用を有していることが判明した。この結果は、Sが宿主特異的毒素などの範疇には含まれない物質であることと、またEが非可逆的にエンドウに認識されることを示唆している。

以上の様に、Sはエンドウの抵抗性発現を遅延し、感染を誘導する作用を持つが、Sの作用が発現するためにはまず宿主エンドウの原形質膜(PM)に於いて受容され膜機能に何らかの変動を及ぼすことが必要であろう。そこで、エンドウ苗からPM画分を調製しプロテインキナーゼとATPaseの活性に対するSの効果を調べた結果、前者は影響されなかったが、後者は顕著に阻害されることが判明した。以上の結果から、SはPMにおけるATPase(恐らくH<sup>+</sup>ポンプ)の作動を抑制することで細胞の機能を全面的に低下させることが伺えた。この結果は、細胞化学的にin situでも確かめられた。このような事実からは、ある糸状菌は、特定の植物の異物認識から抵抗性発現に至る過程あるいはそれらを支える根本的な代謝系を抑止する能力を備えたことによって、その植物の寄生菌として適応したものと考えることができるであろう。

植物の増生病、いわゆる微生物の感染による植物のガン化機構には、根頭ガン腫病原菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) やオリーブこぶ病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi*)、などで共通する要因が多い。例えばアグロバクテリウムでは Ti、オリーブこぶ病菌では pIAA, pCYT と呼ばれるプラスミド上にオーキシシンやサイトカイニンを合成する遺伝子が存在し、感染によってこれらのホルモン合成遺伝子が発現することにより、宿主植物内で正常に保たれていたホルモンバランスが崩れ、感染局部細胞の異常増殖、即ち植物組織の腫瘍化が起こると考えられている。

オリーブこぶ病菌 (*P. savastanoi*) のオーキシシン (IAA; インドール酢酸) 合成に関与する遺伝子には *iaaM* と *iaaH* が含まれ、前者はトリプトファンをインドールアセトアミド (indole-3-acetamide, (IAM)) に転換するトリプトファン・モノオキシゲナーゼを、また後者は IAM を IAA に転換する IAM ヒドロゲナーゼをコードする。両遺伝子は少なくとも一つのオペロンを形成し *iaa* オペロンとよばれている。キョウチクトウ感染株では *iaa* オペロンは pIAA と呼ばれるプラスミド上に存在している。一方、根頭ガン腫病原菌ではこれらの植物ホルモン合成遺伝子が Ti プラスミド上の T-DNA と呼ばれる領域に存在する。オリーブこぶ病菌の *iaaM* に対応する遺伝子 *tms-1* と *iaaH* に対応する遺伝子 *tms-2* は、それぞれ独立したシストロンを形成しており、両遺伝子とも真核型遺伝子構造を持っている。

pIAA プラスミドのキュアリング変異株 (*P. savastanoi* 2009-3) は病原性を持たないが、本変異株に RSF1010 との共形質転換によって pIAA プラスミドを復活させた組換え体変異株 (*P. savastanoi* 2009-3 (pIAA)) はオーキシシン合成ばかりでなく病原性も復活する。*iaa* 遺伝子の発現が果して宿主植物の腫瘍形成にとって唯一の因子であるのかどうかという疑問に答えるため *iaa* オペロンを含む DNA 断片を広宿主範囲ベクター pRK415 に挿入した組換えプラスミド、pTET40 を *P. savastanoi* 2009-3 に接合伝達し、キョウチクトウでの腫瘍形成能をしらべたところ腫瘍は顕れなかった。pRK 系ベクターの安定性の問題は否めないが、この結果は *iaa* 遺伝子の発現以外になんらかの因子が腫瘍形成に必要であると考えられる。

この仮説を更に裏付けるために pTET40 の *iaa* オペロンと *hph* (ハイグロマイシン・ホスホトランスフェラーゼ) 遺伝子の融合オペロンを構築し (pTOM1)、アグロバクテリウムの野生株 (*A. tumefaciens* A208) と pTi のキュアリング非病原性変異株 LBA4301 に接合伝達し、組換え体アグロバクテリウムをトマトに接種することにより腫瘍化への影響の調べた。組換え体野生株 A208(pTOM1) では病原性が増したが、LBA4301(pTOM1) は病原性を示さなかった。これらの結果は *iaa* 遺伝子の発現は腫瘍形成を促進する働きを持つが、本遺伝子の発現のみが植物の腫瘍形成を誘導する唯一の因子ではないことを物語っている。

興味深い知見は、オリーブこぶ病菌の *iaaM* 遺伝子座に転移し、オーキシシン生産を調節する DNA 可動因子の一種、IS51 とオクトピン型根頭ガン腫病原菌に含まれる Ti プラスミド上の植物染色体上には転移されない Tc 領域の一部に高い塩基配列相同性が見られ、更にこの相同性部位に隣接する上流側と下流側領域には、根頭ガン腫病原菌自身の IS エlement、IS66 と根瘤菌、*Rhizobium leguminosarum* の IS エlement と考えられる遺伝子と非常に高い相同性を示す。これらの事実は、腫瘍形成としての病原性遺伝子はそれぞれの IS エlement を境界領域にもつトランスポゾンとして病原菌間を転移し、DNA の再配列を繰り返してきた結果であると予想される。

*iaa* 遺伝子はまた、各種の植物病原菌や共生菌にも広く存在する。エンドウつる枯細菌病 (*P. pisi*) や褐斑細菌病 (*P. syringae*) にはオリーブこぶ病菌の *iaa* 遺伝子とはほぼ一致する遺伝子をもっており、モモ穿孔病菌 (*X. mori*)、フジこぶ病菌 (*E. milletiae*)、毛根病細菌 (*A. rhizogenes*) などの植物病原細菌にも *iaa* との相同性領域が確認されている。更に数種の根瘤菌でも *iaaM* 遺伝子の存在が報告されている。これらの植物病原細菌や共生細菌における *iaa* 遺伝子の機能や役割については明かではないが、*iaa* 遺伝子の発現は植物細胞との相互作用でなんらかの重要な機能を果たしていると考えられる。

笠毛 邦弘 (農水省・食総研)

生体膜は環境情報の受容及び伝達という重要な働きがある。とりわけ原形質膜や液胞膜に内在するプロトンポンプは、それら情報刺激にいち早く反応するため、それら活性の変化は、生体膜の変化の一つの指標とみなされる。またプロトンポンプは膜の内外にプロトンの勾配を形成することにより、糖やアミノ酸などの物質の輸送ならびに細胞内の恒常性を維持する上で重要な働きをする酵素である。

本シンポジウムにおいては、このような重要な機能を持つ種々のプロトンポンプの現況を概説するとともに、我々が開発したプロテオリポゾームを用いての機能の解析、また生体膜を構成しているりん脂質の分子種間のプロトンポンプ活性ならびにプロトン輸送の調節についてのべる。またこれらプロトンポンプは低温や塩ストレスに対しても敏感に反応する。最近植物においてもホスファチジルイノシトール脂質の分解系あるいはプロテインキナーゼ等によるカスケード制御の存在も次第に明らかになりつつある。そこでこれらカスケード制御におけるプロトンポンプの調節機構についても簡単に述べてみたい。

武藤尚志、葛西身延、鎌田芳彰（東大・応微研）

植物は、光、温度、水分、栄養塩等の様々な環境因子の変動の下で、それに適応し恒常性を維持しながら生活し、また生長・分化を行っている。環境因子などの外部環境は、膜上の受容体によって受容され、情報変換素子によってセカンドメッセンジャーに変換されて細胞内に伝達される。セカンドメッセンジャーの情報は、酵素などの機能蛋白の修飾という形で生化学的な応答反応を引き起こす。機能蛋白の修飾は、更に蛋白合成の誘導、遺伝子発現をもたらすと推測される。

植物細胞はカルシウムイオン情報伝達系を構成する素子の全てを持っている。受容体、受容体からの情報変換を行うと想定されるG蛋白、 $[Ca^{2+}]_i$ 調節に関与するCaチャンネルおよびCaポンプとCa二次輸送体、 $IP_3$ の生成系、Ca受容蛋白（カルモデュリン）、カルモデュリン依存性諸酵素、Ca依存性プロテインキナーゼ等である。これらは多数の異なった植物材料から、その存在と諸性質が個々に明らかにされたもので、全てが一つの細胞に存在するという証拠はない。最近、孔辺細胞にABAを与えると、 $IP_3$ の生成を介して $[Ca^{2+}]_i$ が上昇し、その結果気孔が閉じるというシグナリングカスケードがMcAinshら、Gilroyらにより明らかにされた。カルシウムイオン情報伝達系が遺伝子の活性化とどのように連結しているかについては、現在のところ全くわかっていない。

大森正之 (東京大学・海洋研)

動物の環境応答機構におけるcAMPの作用機作に関しては、これまで非常に多くの研究がなされ、cAMPのセカンドメッセンジャーとしての重要性は十分に認識されている。しかしながら植物の環境応答機構にcAMPが関与しているか否かについては明確な解答は得られていない。特に陸上高等植物においてはcAMPの存在そのものを疑問視する研究者も多い。何故動物と植物とではcAMPを利用した環境応答機構、情報伝達機構にこのような相違が見られるのであろうか。

細菌では、cAMPは栄養環境の変化に対応した遺伝子発現の調節に関与していることが知られている。おなじ原核生物でも、光合成を行うラン藻では、光やpHなどの外部環境の変化に対応した早い細胞内cAMP濃度の変化が見られ、cAMPが外部環境の変化に対する短時間の代謝応答に関与している可能性が推定されている。緑藻においては、cAMPが光合成活性に影響を与える可能性が論じられており、またクラミドモナスなどでは、有性生殖過程にcAMPが重要な役割を演じていると報告されている。ユーグレナではcAMPの細胞内変化が生物時計的意味を持つとの説も提出されている。我々は最近、褐藻遊走子にはcAMPのみならずcGMPも含まれていることを見いだした。これらの事実は、藻類においてcAMPが環境応答に重要な働きを持つことを示唆している。藻類におけるcAMPの生理作用の研究は陸上高等植物における環境応答機構の本質を知る上でも重要である。

吉田 静夫 (北大・低温研)

熱帯や亜熱帯の低地に生育する植物の多くは低温に敏感で、0-10℃の低温を与えると細胞は著しい傷害を受ける。その原因を探る為、東南アジア原産のヤエナリ (*Vigna radiata* L.) を用いて研究を行っている。ヤエナリ実生の0℃における低温傷害の過程は、約30時間までの可逆的な初期段階とそれ以降の不可逆的な段階とに明確に区別される。初期段階では様々な生理活性が可逆的に阻害される。このような生理反応は、細胞が低温刺激を受容することによって引き起こされる初期応答反応と見ることが出来る。その後の解析によって、液胞膜に結合している2種類のプロトン輸送酵素の機能が低温で強く抑制される事と、H<sup>+</sup>-ATPaseが急速に失活する事が明かとなり、液胞膜が低温に対して最も敏感に反応する生体膜の一つであることが示された。ヤエナリの根から誘導された液体培養細胞を用いて低温による液胞膜生理機能の阻害と細胞質pH変化との関係を定量的に調べたところ、最も低温に敏感な対数増殖初期の細胞では低温処理(0℃)直後から細胞質pHが低下し始め、数時間後には細胞質の著しい酸性化が認められた。以上の結果は、液胞が細胞内pHの調節機構に直接関わっている事を示すとともに、細胞傷害と液胞膜プロトン輸送機能の低温による阻害が密接に関連していることを示すものと考えられる。

和田 元、 村田 紀夫 (基生研)

植物は、環境の変化をすばやく検知し、その情報をもとに一連の反応を自発的に引き起こし、それによって、不断に変化する環境においても常に高い生理活性を保ちながら生存し続けることができる。多くの環境因子の中で、温度（特に低温）は光、水供給とともに、植物にとって特に重要な環境因子である。植物は環境温度の変化に対して種々の応答を示すが、その中で最も顕著な応答は、低温に曝されたときに起こる膜脂質の脂肪酸の不飽和化である。この反応は、膜脂質の流動性の低下を補償するために起こる適応反応と考えられ、この不飽和化に関与している遺伝子の温度による発現の調節機構を研究することによって、植物の低温適応の分子機構解明の糸口が見い出されるものと期待される。

植物における脂肪酸の不飽和化は、小胞体と葉緑体に存在する不飽和化酵素によって担われ、その代謝経路はいくつかの植物において既に明らかにされている。しかし、不飽和化の機構の詳細は不明で、不飽和化酵素の実体もわかっていない。最近、我々は植物における脂肪酸の不飽和化を研究する上で有用なモデル系であるラン藻から、不飽和化活性を欠損した変異株を分離し、その相補を指標にして不飽和化酵素遺伝子をクローニングすることに成功した。本講演では、それらの遺伝子の構造および低温適応における機能についての分子生物学的な解析について紹介する。

加藤 栄 (東大・理・植物)

植物の光合成反応が、最初に文献に記載されてから200年以上経つが、その反応機構が明らかとなったのは最近の50年間のことである。当初は光合成反応系全体がブラックボックスで、光照射という原因と、 $\text{CO}_2$ 固定または $\text{O}_2$ 発生という結果の解析という生理学的研究が主流であった。Hillによる $\text{O}_2$ 発生を行なう葉緑体の分離と葉緑体チトクロームの発見は、このブラックボックスを解き明かすのに成功した最初の生化学的研究である。続いて光リン酸化反応、 $\text{NADP}^+$ の光還元反応が見いだされ、また種々の中間電子伝達体が発見された。一方、生物物理学的手法により、*in vivo*での反応の解析が進み、特に光合成細菌において最初に光化学反応中心の概念が確立した。これが最近の反応中心複合体の結晶構造の解明につながり、光エネルギー変換機構の理解に大いに貢献した。さらに近年は、分子生物学的手法の導入によって、エネルギー変換反応の研究は、タンパク質分子のレベル、さらには構成アミノ酸のレベルで進展してきている。ここでは、各時代でのブラックボックスと、その解明、そしてその結果新しく設定されるブラックボックスについて述べる。

藤田 善彦 (基生研・細胞生物)

植物が生活している場の多様な環境は、光合成の効率に様々な形で影響を与えている。これに対して、光合成系は、光エネルギー変換から有機物合成の過程に至るまで、環境に対応した調節能力を持ちその効率を維持している。ここでは、その研究の歩みを光環境との対応に注目した研究の展開について私なりに眺めてみたい。陽葉・陰葉という言葉から感じられるように、光環境と光合成の対応は、ずいぶん長い間むしろ生態学的な記述の世界にとどまっていた。しかし、1950年頃までの生理学的研究の展開、それに平行しながら、またその後更に急速に進められた生化学的研究の展開から光合成機構、そして機能因子の概要が明らかになると、その記述もより生理学的色彩を帯び、調節と言う概念が強く前面に出るようになった。光捕獲色素系から光化学系へのエネルギー分配の調節はその一つの例である。チラコイドの機能分子の実態が更に明らかになるにつれ、現象のより分子レベルへの記述が可能となり、光化学系の量比の調節、アンテナ量の調節の姿が今日論議されている。しかし、未だ記述の域を超える状態とは言えない。遺伝子発現にはじまる機能分子の形成機構の解析が急速に進んでいる。今後は、その一環としてその制御のしくみを解く研究展開へと変化することでより理解を深めて行くものであろう。

- (1) 20世紀の光合成C-代謝研究は、BerkeleyグループによるC-同位元素利用 ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ )にはじまった(Ruben/Kamen)。やがてそれが光合成 $\text{CO}_2$  - 固定経路 (Benson-Calvinサイクル)の発見へと開花した。またその後今日にいたるまで隆盛をきわめることになった Rubiscologyの源流もこの時期にさかのぼるのである (Calvin / Horecker)。高等植物細胞内で光合成反応を担う構造体—クロロプラスト—に関する研究もBerkeleyにおいて開始されたといつてよい (光燐酸化反応の発見—Arnon)。
- (2) RuBisCO についていえば、oxygenase の発見とそれが光呼吸に果たす役割を含めて、詳細な反応機構の解明がなされた (Lorimer/Ogren)。X-線回析法による RuBisCO の立体構造の解明は大きい landmark といわねばならない (Branden)。
- (3) 光合成 $\text{CO}_2$  - 固定反応は植物細胞、組織、個体における C(N)-同化産物の輸送、移動、分配機構と密接に結びついている。クロロプラストがミトコンドリアと同じく内、外2重膜に包まれていることは電顕的に確かめられていたが、それらを単離し、その性質、構造が生化学的に詳しく解明されたことは、光合成の細胞生物学研究の進歩の上で大きいステップとなった (Douce/Keegstra)。また光合成 C-同化産物の輸送に与る Pi/triose P トランスポーターが内包膜に存在することが発見されたことの意義もまことに大きい (Heldt/Heber)。
- (4) 通常光合成最終産物はデンプンであると考えてよい。このことは当然のことながら上記 (3)に記した物質の転流、つまり source-sinkの問題と関わる。そして、source- プラスチド (クロロプラスト) が独立した完全な光合成 unit (Arnon / Walker) ではなく、cytosol および sink プラスチド (アミロプラスト) との interaction, communication を考えなければならないことを意味する。このことを端的に示す例は、1956年 Gibbs/Kandler によって発見された緑葉における非対象  $^{14}\text{C}$  ラベリングという現象である。これまで不問に付されているこのテーマの謎は・・・さて!

渡辺 昭 (名古屋大学・農・生化学制御研究施設)

光合成をつかさどる細胞内の器官、すなわち葉緑体は、それ自身の持つ遺伝子と細胞核に存在する遺伝子によって形作られ、そのことがこのオルガネラをきわめて興味深い研究対象としている。1986年に葉緑体 DNA の全構造が明らかにされ、また、細胞核に存在する遺伝子群の構造も次々と知られるようになった。これらの遺伝子の構造から推定されるタンパク質の一次構造の情報は、生化学的、物理化学的な方法による光合成の機能単位の構造の解析に大きく寄与し、光化学系や RuBisCO の結晶解析の成功も相まって、複雑な機能単位の構造と機能の相関がつぶさに知られるようになった。そして、細胞核遺伝子の産物がどのようにしてこの二重の包膜に包まれた構造体の中に到達するのか、また、複雑な機能単位の構造にどのようにして組み込まれるのか、近年大きく進展した細胞生物学の重要な課題である。これらの遺伝子は、その発現量がきわめて大きいこと、さらに光によって調節されていることが知られ、その調節機構の研究は植物分子生物学のきわめて大きな分野を占めている。二つの異なった場所に分かれた遺伝子がどのように協調して発現するのか、これからの大きな問題を提示している。また、葉緑体はその細胞の分化にしたがってさまざまな機能を持ったプラスチドに変化する。このようなプラスチドの分化がどのような遺伝子によって規定されるのかも、きわめて興味深い問題である。

# 2pC-1

In Pursuit of the Photoreceptor for Phototropism.  
Winslow R. Briggs, Julie Palmer, Markus Porst, and Timothy W. Short  
Department of Plant Biology, Carnegie Institution of Washington  
Stanford, California, 94305, U. S. A.

Blue light induces a wide range of physiological responses in plants. Among these are phototropic curvature toward a unilateral light source and rapid inhibition of shoot elongation. We have been investigating a light-induced change in the phosphorylation state of a large plasma membrane protein from pea epicotyls (120 kD) and maize coleoptiles (116 kD). Photobiological studies lead us to hypothesize that this change lies early in the phototropic signal transduction chain. We are able to induce a phosphorylation increase in this protein by irradiating detergent-solubilized purified plasma membrane preparations prior to supplying radiolabelled ATP. Hence the photoreceptor, kinase, and substrate proteins are all present in individual detergent micelles. The protein becomes phosphorylated at numerous serine residues on illumination. This phosphorylation increase leads to a change in mobility of the protein on SDS gels, but no change in its subcellular localization. A similar light reaction has been detected in membrane extracts from tobacco, *Arabidopsis*, tomato, and sunflower shoots. When pea epicotyl sections or isolated maize coleoptiles tips are pre-labelled with inorganic phosphate prior to membrane extraction, to allow them to form endogenous labelled ATP, no label is detectable at 120 or 116 kD, respectively, unless the tissue sections have been irradiated. Hence the reaction is detectable both in vivo and in vitro. To date, it is not known whether this system involves one, two, or three or more polypeptides. Progress in biochemical characterization of the kinase activity, elucidation of the photobiological and photochemical properties of the solubilized system, and purification of the photoreceptor will be reported.

PETER H. QUAIL, PLANT GENE EXP. CTR., UC BERKELEY/USDA, ALBANY, CA, USA

To understand the molecular mechanism by which phytochrome regulates gene expression, we are pursuing a general strategy that is threefold: (a) examining the phytochrome molecule for clues to its mechanism of action; (b) studying genes under its control for DNA elements and regulatory factors involved in induction or repression of expression; and (c) characterizing potential mutants in transduction pathway components between the photoreceptor and the genes it regulates. Recent data that will be discussed include the following: To overcome the unavailability of phytochrome-polypeptide deficient mutants, we have overexpressed an oat *phyA* gene coding sequence in transgenic tomato and *Arabidopsis*. This overexpression induces a striking dwarfed phenotype in each case which we are now exploiting to dissect functional regions of the phytochrome protein through *in vitro* mutagenesis. We are utilizing the autoregulation of *phyA* gene expression in monocots as our model system for understanding phytochrome control of gene expression. We have implemented a microprojectile-mediated gene-transfer system for promoter analysis in intact rice seedling tissue in a transient expression configuration that requires only 24 h. Using this procedure, we have identified a series of *cis*-acting elements that are functionally important to *phyA* gene expression. In addition, we have cloned transcription factors that interact with some of these elements. One of these factors, designated GT-2, interacts in highly sequence-specific fashion with a GT-element identified by gene-transfer as a positive element in the rice *phyA* gene. This factor has a basic, helix-loop-helix domain implicated in dimerization and DNA binding as well as an acidic and a proline-glutamine rich domain, each possibly involved in transcriptional activation. We have isolated and mapped *Arabidopsis* mutants at a locus designated *cop1*, whose seedlings grow in the dark the same as wild type grown in the light (except that they are not green). These characteristics suggest that the mutation may represent a transduction pathway component that is "locked" in the "on" position in the absence of the light signal. Because these mutations are recessive, we conclude that the wild-type *cop1* gene product normally acts in darkness to repress genes involved in the photomorphogenic pathway and that regulatory photoreceptors, including phytochrome, act to reverse this action upon exposure to light.

GTP-binding proteins (G-proteins) are key components of many signal transduction pathways, coupling receptors to various effectors. While investigating the possible involvement of G-proteins in phytochrome-mediated light signal transduction processes in *Avena*, we detected significant GTP-binding activity in crude extract from etiolated seedlings. Further experiments indicated the GTP-binding activity was stimulated by red-light irradiation of the seedlings, while it was inhibited by the addition of the Pr form of 124-kDa phytochrome to crude extract from dark-grown seedlings. SDS-PAGE and autoradiography of crude extract incubated with [<sup>35</sup>S]-GTPγS revealed several labeled bands, including ones at ca. 58-, 24-, and 22-kDa. The 24-kDa protein was preferentially labeled following the addition of Pfr to the extract, was ADP-ribosylated in the presence of cholera toxin, and Western blotted with GA/1, an antibody that recognizes common α-subunits of GTP-binding proteins. The hypothesis that the phytochrome-mediated light signal transduction is mediated by the activation of a G-protein is supported by the effect of cholera toxin on the expression of *Cab* and *phy* genes. Cholera toxin elicited a positive expression of the former, whereas it down regulated the latter in the dark, thus simulating the red light-regulations mediated by phytochrome.

To search for a G-protein(s) directly involved in the phytochrome-mediated light signal transduction, we initiated isolation and purification of G-proteins from etiolated oat seedlings.

GTP-binding proteins were extracted from the membrane fraction of a 3.5 day old etiolated oat seedlings. Following detergent solubilization, the proteins were purified by ion-exchange chromatography, GTP-agarose affinity chromatography and gel filtration chromatography. Three fractions possessing GTP-binding activity were obtained. Two of the fractions were nearly homogeneous, as determined by SDS-PAGE, with bands at ca. 58- and 20-kDa, respectively. The third fraction contained two bands, at 24- and 23-kDa. The structures, nucleotide binding properties, GTPase activities, and immunological properties of these proteins are currently being investigated.

## 2pC-4

Transcriptional regulatory elements for the expression of the wheat Cab-1 gene. F. Nagy. Friedrich-Miescher Institute, P.O.Box 2543, CH-4002 Basel, Switzerland.

Recent studies has demonstrated that genes encoding the chlorophyll a/b binding proteins (Cab) are regulated by light and that their induction is mediated by phytochrome. In addition, it has also been established that the expression of these genes is further modulated by an endogeneous rhythm. We have shown previously that the expression of the Cab-1 gene is regulated at the level of transcription. To define cis and trans regulatory elements for the controlled expression of the Cab-1 gene we performed two complementary sets of experiments. First by analyzing the expression of a series of mutants and chimeric gene constructs in transgenic tobacco plants we identified cis regulatory elements which are necessary for maximum level, tissue specific, phytochrome regulated and circadian rhythm responsive expression. Using in vitro foot-printing and gel retardation assays we identified four different transcription factors which are involved in the regulated expression of this wheat gene. The relation to other known transcription factors and their relative contribution to the phytochrome mediated, circadian clock responsive expression will be discussed.

Eberhard Schäfer, Inst. Biol. II, Univ. Freiburg, FRG

The photoregulation of chalcone synthase transcript levels was analysed in parsley suspension cultures and mustard seedlings. Depending on the developmental state of the cell the gene can be controlled by phytochrome and/or blue light receptor and/or UV-B receptor. Cis acting elements necessary for photoregulation have been characterized. As a second approach to analyze signal transduction posttranslational modifications and intracellular localisation of phytochrome was investigated. Especially glycosylation and sequestering of phytochrome will be discussed.

A transgenic line of tobacco plants prepared by Keller *et al* 1989 (EMBO Journal 9:4543-4549) has been subjected to detailed photophysiological analysis. The existence and persistence of high levels of foreign PhyA in the plants leads to substantial modifications of photobiological phenomena compared to those of the wild-type(WT)plants. Germination, de-etiolation and R:FR ratio detection in particular have been shown to be modified. WT and transgenic seed both required light for germination and were inhibited by continuous FR. The degree of FR-mediated germination inhibition was, however, much less in the transgenics than in the WT. Dark-grown transgenic seedlings de-etiolated for 48th in white light retain substantial inhibition of hypocotyl extension by subsequent continuous FR; WT seedlings similarly treated showed no FR-mediated inhibition. Similar persistence of FR-mediated high irradiance response (FR-HIR) was observed for the induction of nitrate reductase. Immunoblot analysis showed that the destruction of the cereal PhyA in the transgenic tobacco seedlings was first order. WT plants exhibited large increases in internode and petiole extension in white light with a low R:FR ratio, compared to high R:FR ratio. Internode extension in the transgenic plants, on the other hand, was markedly depressed by low R:FR, this effect being particularly obvious at low total fluence rates.

The results are consistent with the view that PhyA (i.e. Type I phytochrome) is normally responsible for the classic FR-mediated HIR, and that its persistence in de-etiolated transgenic plants causes an HIR-type of inhibition of extension growth at low R:FR ratios. A corollary of this is the conclusion that, in the WT, removal of PhyA to very low levels by destruction and down-regulation of synthesis is necessary to allow for normal R:FR ratio perception and the induction of shade avoidance reactions, presumably by a different species of phytochrome.

Richard E. Kendrick, Agricultural Univ., Wageningen, NL

The relative roles played by different phytochromes in photomorphogenesis have been studied with the aid of physiological mutants. In etiolated seedlings, the *aurea* (*au*) mutant of tomato lacks at least 95% of the spectrophotometrically and immunologically detectable labile phytochrome (phytochrome I / phytochrome A). When grown under red light the de-etiolation process is retarded and the hypocotyl grows almost as long as in darkness. Regulation of hypocotyl growth, anthocyanin synthesis and gene expression of plastidic proteins in tomato are dependent on the coaction of cryptochrome and phytochrome. It is proposed that the *au* mutant only survives because blue-light activation of cryptochrome sensitizes the seedlings to a low residual level of phytochrome. However, white light-grown *au* seedlings have longer hypocotyls, yellow leaves and produce little if any anthocyanin compared to the wild type. Although the reduced chlorophyll levels and lack of anthocyanin in white light-grown *au* plants suggest a continued phytochrome deficiency, such *au* seedlings exhibit a normal end-of-day far-red light elongation response. Phytochrome is spectrophotometrically detectable *in vivo* and in extracts of white light-grown *au*-mutant plants, but is only about 50% of that observed in the wild type. It is proposed that the phytochrome regulating the end-of-day far-red light response is attributable to a stable phytochrome (phytochrome II / phytochrome B + C) pool and that this represents the phytochrome detectable in the white light-grown *au*-mutant plants. The long-hypocotyl (*lh*) mutant of cucumber appears to be complementary to the *au* mutant. This mutant possesses similar levels of phytochrome I and initiates de-etiolation, but gradually loses its responsiveness to red light and shows little response to end-of-day far-red light in white light-grown plants. The *lh* mutant lacks a phytochrome pool in white light-grown plants that is recognized by a phytochrome-B antibody in the wild type, presumably phytochrome II, which appears to regulate elongation growth after de-etiolation.

Joanne Chory, Lothar Altschmied, Terry Delaney, Punita Nagpal, Alan Pepper  
and Ronald Susek, Plant Biology Laboratory, The Salk Institute, San Diego, CA 92186.

The photoconversion of photoreceptors by light induces the diverse morphogenic responses which result in greening. Several regulatory photoreceptors are involved in the perception of light signals, but little is known of the transduction pathways that mediate light-regulated development. We are taking a combined genetic and molecular biological approach to identify potential components of the light signal transduction pathways. We have identified a class of *Arabidopsis thaliana* mutants that show many characteristics of light-grown plants even when grown in complete darkness. The mutants define at least 3 complementation groups, designated *det1*, *det2*, and *det3* (*de-etiolated*). Loss-of-function mutations in any of these 3 genes result in dark-grown seedlings that constitutively display many characteristics of light-grown plants, including the development of leaves and chloroplasts, and the accumulation of anthocyanins and mRNAs for several light-regulated nuclear and chloroplast genes. Mutations in the *DET1* gene are particularly interesting because they also affect cell-type-specific expression of light-regulated genes and chloroplast development. A second class of mutants have a long hypocotyl (*hy*) when grown in the light. Sixty-five mutant alleles have been analyzed by M. Koornneef and by our lab. These efforts have identified 7 complementation groups; 3 of these (*hy1*, *hy2*, and *hy6*) show deficiencies in photoreversible phytochrome activity, and are presumably signal perception mutants. Biochemical analysis of *hy1*, *hy2*, and *hy6* mutants indicates that these genes may encode enzymes in the chromophore biosynthetic pathway. We have constructed double mutants between the phytochrome-deficient *hy* mutants and the *det* mutants. The phenotype of the *hy1-det1*, *hy2-det1*, or *hy6-det1* double mutant is *det1*, indicating that *det1* is epistatic to *hy1*, *hy2* and *hy6*. Likewise, *det2* is epistatic to *hy1*, *hy2*, and *hy6*. These results are consistent with a model where formation of the active form of phytochrome results in a decrease in activity of DET1 or DET2, which in turn leads to the de-etiolation response. The phenotype of *det1-det2* double mutants is additive. This additive effect suggests that the DET1 and DET2 gene products do not interact, and thus implies that DET1 and DET2 function either in distinct pathways or in separate branches of a common pathway that affect downstream light-regulated genes. Further, these pathways are not utilized solely during early seedling development, but must also be required to regulate different aspects of the light developmental program during later stages of vegetative development. Clearly, it will be important to know the mechanisms by which *DET1* and *DET2* act. We are attempting to clone these loci by chromosome walking and complementation of the mutant phenotypes with the wild-type copy of the gene.

Since the phenotypes of regulatory mutations are often difficult to predict, a parallel molecular genetic approach using promoter fusions is also being pursued. The strategy involves fusing an *A. thaliana* light-regulated promoter (*CAB3*) to both selectable (hygromycin phosphotransferase) and screenable (GUS) marker genes, transferring these chimeric constructions into *A. thaliana*, and mutagenizing the transgenic line to identify mutations where the *CAB* promoter is aberrantly expressed. We are currently analyzing mutants where the *CAB* promoter is expressed inappropriately with regard to tissue-specific expression, light-dark expression, and in response to chloroplast signals. Characterization of these potentially interesting regulatory mutants will be presented.

下村正二 (農業生物資源研究所)

植物の発生、分化、生長のいずれの過程にも植物ホルモンが重要な調節因子として作用することが知られている。植物ホルモンによる生長調節は植物生理の根幹をなすことから、その調節の仕組みを明らかにするための研究が古くからなされてきた。しかしながら、細胞がどのようにしてホルモンを認識し、その情報が応答反応部位に伝達され、細胞のホルモン応答が生じるかについてはほとんど明らかにされていない。このようなホルモンの情報伝達機構を解析するためには、ホルモン受容体の同定が必要不可欠である。受容体を同定するために放射性標識ホルモンを用いたホルモン結合タンパク質の探索も古くからなされており、植物ホルモンの中ではオーキシンについての研究が進んでいる。しかし、オーキシンを特異的に結合するタンパク質は、細胞の可溶性画分に加え、原形質膜、液胞膜、小胞体、核、葉緑体などの種々の細胞内小器官にも広く分布することが明らかにされ、オーキシンの細胞内情報伝達機構解析をより複雑困難にしている。これらは受容体の他に輸送系やホルモンの合成分解に関与する酵素類も含まれているかもしれない。これらの機能を解明するためにはそれぞれを分離精製して性質を比較検討する必要がある。本シンポジウムでは、我々により精製されたトウモロコシの膜局在性オーキシン結合タンパク質の遺伝子構造とそのオーキシン受容体としての可能性について報告する。

進士秀明、宇佐美昭二、高木 優、福田裕二  
( 微工研、植物細胞 )

植物のキチナーゼ遺伝子は、発生・分化の過程と外部環境変化によってその発現が制御され、ストレス・ホルモンであるエチレン処理や、微生物・ウイルスなどの病原の感染に対応して、遺伝子発現が誘導される。植物のキチナーゼは微生物の細胞壁を分解してその生育を阻害するだけでなく、微生物の細胞壁多糖を分解してオリゴ糖エリシターに変換することによって、植物の生体防御遺伝子群の発現を誘導するものと考えられる。植物にはすくなくとも3種類のキチナーゼが存在し、それぞれ構造、発現様式と細胞内局在性が異なっている。塩基性キチナーゼは、そのN-末端側に約40個のアミノ酸から構成されるCysteine-richなドメインを有するが、酸性キチナーゼにはこのドメインは存在しない。

タバコ塩基性キチナーゼ遺伝子の発現制御に関与するDNA配列を明らかにするためトランスジェニック・タバコ植物と、培養細胞のプロトプラストのトランジェント発現系を用いたレポーター実験によって解析した。キチナーゼ遺伝子の5'-上流領域のGC-richな共通配列を含むDNA配列が、エチレンによる発現制御に関与していることが示唆された。

## 3aC-3

### ヒストン遺伝子の発現制御機構 — 転写調節因子HBP-1a 及びHBP-1bの構造と機能 —

中山卓哉、三上浩司、岩淵雅樹 (京大・理・植物)

ヒストンは染色体を構成する主要なタンパク成分の一部であり、細胞周期や遺伝子の発現をクロマチンレベルで調節するのに関わっていると考えられる。また、それ自身の発現も細胞周期に依存する。われわれはコムギヒストン遺伝子を材料に、細胞周期S期特異的遺伝子発現制御のメカニズムの解明を目指している。

5'側欠失変異遺伝子を用いた解析により、コムギヒストンH3遺伝子(TH012)は、転写開始点上流-185までしか持たないものでも細胞周期のS期に特異的な発現を示した。-185までの上流域について詳細に調べたところ、シス配列としてヘキサマー(ACGTCA)、オクタマー(CGCGGATC)、ノナマー(CATCCAACG)を同定した。そのうち、ヘキサマーには、コムギ核タンパク質HBP-1a、-1bが、ノナマーには、HBP-2が結合することが明らかとなった。サウス・ウェスタン・スクリーニング法により、HBP-1a及び-1bについては、それぞれのcDNAを得た。これらcDNAの構造解析及び大腸菌で発現させた両核タンパク質の性質を解析した結果、両タンパク質は共にロイシン・ジッパーを介してホモダイマーを形成し、ヘキサマー配列に結合することがわかった。また、同様な方法で、更にいくつかのHBP-1a型、-1b型のcDNAが得られ、これらはHBP-1ファミリーとでも呼ぶべき一群のロイシン・ジッパー型転写調節因子である可能性が示唆された。

金谷 潔、大野 豊<sup>1</sup>、内宮博文<sup>1</sup> (筑波大・生物科学、<sup>1</sup>北大・理・植物)

土壌細菌 *Agrobacterium rhizogenes* が植物に感染すると、その感染部位に毛状根と呼ばれる不定根が形成される。さらに根より再分化した形質転換体では矮化などの形態変化を示す。この現象は、本細菌の有する Ri プラスミドの T-DNA が植物ゲノムに組み込まれ、発現した結果である。TL-DNA のみが導入された形質転換タバコでは、*rolC* 遺伝子が、最も転写活性が高い。

*rolC* 遺伝子のみをタバコに導入した場合にも矮化などの様々な形態変化を示す。*rolC* 遺伝子は植物ホルモンのシグナル応答の機構に影響を及ぼすタンパク質をコードしているものと考えられる。

*rolC* プロモーターと  $\beta$ -グルクロニダーゼの構造遺伝子とを連結したキメラ遺伝子を導入したタバコおよびイネでは、*rolC* プロモーターが維管束細胞で特異的に発現する。ニンジン培養細胞では、カルスでは発現が非常に低い、不定胚で強い発現が見られる。*rolC* プロモーターは植物の組織特異的な発現をする遺伝子と同様の転写制御を受けているものと考えられる。

*rolC* の転写制御を明かにするために、プロモーター結合タンパク質の検出を試みた。*rolC* が発現しているタバコ毛状根、ニンジン不定胚、イネ実生の葉から抽出した核タンパク質中から、結合タンパク質が検出された。タンパク質の結合部位は、現在までに、複数ヶ所明らかになっているが、その中には、植物遺伝子プロモーターに存在する塩基配列も見いだされた。この事は、*rolC* 遺伝子が、植物の遺伝子発現に必要な構造を保有しており、植物進化における遺伝子発現調節を研究する上でも良いモデル系であるものと思われる。

## 3aC-5

植物遺伝子の転写開始増幅因子TGA1aによる転写増幅機構

○山崎健一<sup>1</sup>、片桐文章<sup>2</sup>、山口雄記<sup>1</sup>、Nam-Hai Chua<sup>2</sup>、  
今関英雅<sup>1</sup>。(1:名古屋大学農学部,2:Rockefeller Univ)

分子生物学の分野において試験管内転写系を利用する一般的な目的は、転写調節に関与する因子を生化学的に研究することである。1988年から、我々は、この様な系を植物材料を用いて作成するためにナムハイ=チュア博士のグループと共同研究を開始した。彼らのグループでは当時すでに植物ウィルス的一种であるカリフラワーモザイクウィルス (CaMV) 35S プロモーター上流のシスエレメント (as-1) が、このプロモーターのタバコ組換え植物体内の根での特異的発現に必須であることをつきとめており、この as-1 のコア配列である TGACG に特異的に結合する蛋白質 (TGA1a) をコードする遺伝子をもタバコ cDNA ライブラリーから取っていた。我々は、この cDNA を大腸菌発現ベクター系に組込み、TGA1a を大腸菌抽出液より精製し、我々の開発した小麦胚芽試験管内転写系に加えることにより、その転写増幅因子としての機能を生化学的に明らかにした。TGA1a は、as-1 をシスエレメントとして有する転写鋳型の場合にのみ、転写活性を 3-5 倍に増加させた。また、転写の開始反応と伸長反応を分離した実験系では、TGA1a は開始反応のみを促進し、伸長反応速度には全く影響を与えないことを証明した。さらに、TGA1a のヒト試験管内転写系への添加が 7-20 倍の転写増幅を示したことから、転写因子と転写装置との間で種を越えた会話が可能であることを示した。

一 般 講 演

第 1 日 3 月 28 日 (木)



一般講演

第1日 3月28日(木) 午前部

B会場 光化学系・細菌光化学系

C会場 遺伝子・細胞周期

D会場 糖代謝

E会場 光合成機能発現(I)

F会場 細胞培養

G会場 細胞壁

# 1aB01

高いNADP光還元能をもつ光化学系I粒子の単離と性質

○酒井幸三, 西川豊康, 先浜直子, 新 勝光  
(神戸大・理・生物)

ホウレンソウ葉緑体チラコイド膜をトリトンX-100で細分化し、DEAE-トヨパールカラムの吸着溶離とクロマトグラフィーによってPSI粒子を単離した。全工程に用いる緩衝液に5 mM MgCl<sub>2</sub>を、またチラコイド膜の細分化に至る初期工程では1 mMフェリシアン化カリをさらに加えた。MgCl<sub>2</sub>はPSI粒子からのペプチドの脱離の防止、フェリシアン化カリは光化学系の光失活の防止に役立つ。DEAE-トヨパールカラムからのPSI粒子の溶出には溶離用緩衝液のNaCl濃度を70, 110, 150 mMと段階的に増加させたが、それぞれの条件で溶出した粒子をPSI-1, -2, -3としてその性質を表にまとめた。今回得られたPSI粒子は、クロロフィル含有量からもわかるように、反応中心部ばかりでなく周辺部のペプチドをも失うことなく単離されたと思われる。またフェレドキシン-NADP還元酵素の存在は注目すべきことである。

	NADP光還元活性 (mmol NADP / μmol P700 · h)	Chl a/b	Chl/P700	構成ペプチド数	FNR/P700
PSI-1	26.2	2.4	175	14	0.12
PSI-2	42.2	3.5	210	16	0.02
PSI-3	47.5	3.5	245	21	0.68

# 1aB02

フェレドキシン-NADP還元酵素の高分子量型と低分子量型における機能的相違

○関戸敏博, 米山里佳, 先浜直子, 新 勝光  
(神戸大・理・生物)

ホウレンソウ葉緑体チラコイド膜に結合して存在するフェレドキシン-NADP還元酵素(以下FNRと略す)には高分子量型FNR(FNR-L)と低分子量型FNR(FNR-S)とがある。大橋ら(1)は、昨年度の本年会において、オオムギの緑化芽生えの葉緑体を用いてNADP光還元に関与するFNRはFNR-Lであることを証明したが、ホウレンソウ葉緑体においてはまだこのような明確な回答は得られていない。そこで今回我々は、ホウレンソウ葉緑体においても両FNRの機能的相違があるかどうかを調べた。ホウレンソウチラコイド膜からFNRを抽出除去すると、NADP光還元活性及びジアホラーゼ活性はともに低下する。このチラコイド膜に単離したFNR-L及びFNR-Sを加え、等張緩衝液中で2時間インキュベートする。FNR-L、FNR-Sともにチラコイド膜に結合するが、NADP光還元活性の回復はFNR-Lのみで観察された。以上の結果は、NADP光還元に関与するFNRはFNR-LでありホウレンソウFNRについてもFNR-LとFNR-Sとは機能的に異なることを示している。

(1) 大橋ら(1990)日本植物生理学会1990年度年会講演要旨集 p.353.

## 1aB03

高等植物の光化学系 I 複合体のサブユニット組成  
池内昌彦・井上頼直 (理研・太陽光科学)

我々は高等植物の光化学系 I 複合体のサブユニット組成を解析し、PSI-Jを見いだし<sup>\*</sup>、LHCIアポタンパク質を同定した<sup>\*\*</sup>。この過程で、さらに2種の未知タンパク質が見いだされたので報告する。ハウレンソウの系 I 複合体に強く結合している14kDaタンパク質はN末端がブロックされていたので、*Staphylococcus* V8プロテアーゼで切断して得られた5kDa断片のアミノ酸配列を決めた。得られた配列は最近オムギでクローニングされた *psaL* から推定されるタンパク質(PSI-L)のC末端に近い領域と高い相同性を示した。このタンパク質はLHCIを含まないコア複合体にも強く結合していたが、その含量はPSI-D, PSI-E, PSI-Fなどのほぼ半分であった。このPSI-Lは多くの藍藻でも見つかっているが、その含量は他のサブユニットの半分であった。もう一つの未知サブユニットは9kDa領域から見いだされた。9kDaにはすでにPSI-CとPSI-Gが確認されており、3番目のタンパク質としてアミノ酸シグナルの差引によって得られた。この配列はハウレンソウとエンドウでよく似ており、LHCIを含む系 I 超複合体に見いだされたが、LHCIを含まないコア複合体には見いだされなかった。この9kDaタンパク質と相同なタンパク質は藍藻では検出されずPSI-G, PSI-Hとともに高等植物の系 I 特有のものと思われる。

\* Ikeuchi M, Hirano A, Hiyama T, Inoue Y (1990) FEBS Lett 263: 274-278

\*\* Ikeuchi M, Hirano A, Inoue Y (1991) Plant Cell Physiol, in press

## 1aB04 藍藻 *Anabaena* sp. ATCC29413の光化学系 I 複合体のサブユニット組成

池内昌彦, K.J.Nyhus<sup>1</sup>, 井上頼直, H.B.Pakrasi<sup>1</sup>

(理研, 太陽光科学, <sup>1</sup>Biol.Dept., Washington Univ.)

我々はすでに好熱藍藻 *Synechococcus vulcanus* の光化学系 I 複合体のサブユニット組成とその部分アミノ酸配列を報告した<sup>\*</sup>。これによって藍藻の多くのサブユニットが高等植物と相同であることが明らかになったが対応しないものもあった。そこで本研究では他の藍藻として、*Anabaena* sp. ATCC29413 を選び、その光化学系 I 複合体のサブユニットを分析し、CPIアポタンパク質の他に10種のタンパク質を検出した。これらをプロブロット膜にブロット後N末端アミノ酸配列を決定し、次のように同定した:16kDa=PSI-D; 15kDa=PSI-L; 14kDa=PSI-F; 13kDa=PSI-L; 10kDa=PSI-C; 9kDa=PSI-E; 6.5kDa=PSI-K; 5.2kDa=?; 4.8kDa=PSI-J; 3.5kDa=PSI-I。このうち5.2kDaタンパク質は *S. vulcanus* の5kDaタンパク質に対応していた。PSI-Iは3.5kDaとして藍藻で今回初めて確認された。15kDaのPSI-LはN末端がブロックされていたが、13kDaはその分解産物であった。このほかに、30kDaのCPIアポ(PSI-B)分解産物も検出された。この結果、*S. vulcanus* で既に同定されたサブユニットのすべてが *Anabaena* でも確認された。また、*S. vulcanus* でPSI-Gではないかと推定した13kDaはPSI-Lであることが明らかになった。今後は、*Anabaena* で検出されたPSI-Iが *S. vulcanus* に存在するかどうかを確認する必要がある。

\*Koike H, Ikeuchi M, Hiyama T, Inoue Y (1989) FEBS Lett 253: 257-263

## 1aB05

光化学系 I 反応中心複合体サブユニットの N 末端アミノ酸配列

岩崎行玄, 日比野隆, 石川 浩, 高倍昭洋 (名城大・理工・化学)

光化学系 I 反応中心複合体 (PSI 複合体) サブユニットに対する遺伝子は、すでに 10 種類以上同定されている。このうち機能解析が進められているものは、P700 アポ蛋白質 (psaA, psaB), F<sub>a</sub>F<sub>b</sub> アポ蛋白質 (psaC), プラストシアニン・ドッキング蛋白質 (PsaF), フェレドキシン・ドッキング蛋白質 (PsaD) の合計 4 種類である。ところで、PSI 複合体に必須な最小単位のサブユニット構成を考える時、どのような活性を選択するかが問題である。活性測定は、人工基質を用いる方法と *in vivo* を反映させる方法 (NADP 光還元活性) に大別される。今回は、NADP 光還元活性に留意して PSI 複合体に含まれるサブユニットの N 末端アミノ酸構造解析を検討した。

1. PSI-120, PSI-80 の両者は、NADP 光還元活性を示し、その値はおおの 200 及び 350 ( $\mu\text{mol of NADPH} / \text{mg Chl} / \text{h}$ ) であった。
2. PSI-80 の P700 以外の 6 種類のサブユニットのうち 5 種類は、既知の遺伝子産物、psaD, psaE, psaF, psaH, psaC に対応することが明らかになった。
3. PSI-120 から PSI-80 を調製する際、LHCPI 以外に、4 種類のサブユニットが除かれた。このうちの 3 種類は、psaG, psaK, psaI に対応していた。

## 1aB06

系 I 反応中心複合体の小型サブユニットの再構成

園池公毅・加藤栄 (東大・理・植物)

系 I 反応中心複合体の熱や界面活性剤に対する安定性は、一般的に系 II などに比べてかなり高い。しかし、単離された系 I の鉄硫黄タンパク質が酸化に対して非常に不安定であることなどから、系 I の安定性はその複合体全体の構造に由来すると考えられる。系 I 反応中心複合体には、まだ役割の明らかになっていない幾つかのサブユニットが結合している。本研究では、その一部が複合体の安定性に寄与しているのではないかと考え、サブユニットの解体・再構成の手法を用いてこの可能性を検討した。材料としては、特に安定な系 I 反応中心を持つ好熱性ラン色細菌 *Synechococcus elongatus* から調製した標品を用いた。まず複合体から、電子伝達に直接関与する psaA, psaB, psaC 以外の小型サブユニットを解離する方法を検討した。その結果 psaF, psaL および 7 kDa 以下の低分子量サブユニットは尿素処理などに対しては安定であるが、イオン性、特に陽イオン性の界面活性剤によって選択的に解離溶出することが明らかとなった。この界面活性剤処理によって、系 I の電子伝達活性は影響を受けなかった。しかし、これらの標品に F<sub>a</sub>・F<sub>b</sub> を破壊する尿素処理を行なうと、界面活性剤処理標品においてのみ、F<sub>a</sub>・F<sub>b</sub> に加えて F<sub>x</sub> まで破壊された。また界面活性剤処理標品に小型サブユニットを再構成すると F<sub>x</sub> の安定性は部分的に回復した。これらの結果は小型サブユニットが F<sub>x</sub> の安定性に寄与していることを強く示唆する。

## 1aB07

### プラストシアニンとP700の反応に対するPsaF 遺伝子産物の役割

高倍昭洋, 岩崎行玄, 石川浩, 日比野隆  
(名城大・理工・化学)

光化学系I反応中心(PSI)複合体は, 光に依存してプラストシアニンからフェレドキシンへの電子伝達を司る蛋白質として定義される。この反応に必要なサブユニット組成については明かにされていない。今回, キウリからNADPの光還元能を有するPSI複合体のサブユニット組成について検討したのでその結果について報告する。

キウリ子葉からP7001分子あたり120分子, 80分子, 40分子のクロロフィルを含む標品(それぞれ, PSI-120, PSI-80, PSI-DEAE)を調製した。PSI-120およびPSI-80は高いNADP光還元活性を示したがPSI-DEAEはほとんど活性がなかった。PSI-80を界面活性剤で処理するとNADP光還元活性が減少した。NADPの光還元活性は, プラストシアニンからP700への電子移動速度とよい相関があることが明かになった。そこでこれら活性とサブユニット組成について検討したところ, 活性は18.5kDaのポリペプチドの含量と関係があることが明らかになった。N-末端アミノ酸配列, 架橋反応等の結果, 18.5kDaの蛋白質はプラストシアニンとクロスリンクするPsaF遺伝子産物であった。

## 1aB08

### 光化学系I反応中心周辺の蛋白サブユニットの構造と機能 檜山哲夫, 仲本 準, 大日向 光, 平岩裕美, 大矢武志, 小林慎一, 西城戸 司, 鈴木浩一(埼玉大・理・生化)

最近我々はホウレンソウ葉緑体から大型サブユニットのみからなる光化学系I反応中心標品(cpl)を収率よく調製する方法を発表した。この標品はP700あたり50-80分子のクロロフィルa, 4原子ずつのテツとイオウ, 1分子のビタミンK1を含む。アミノ酸分析から大型サブユニットが2分子であることも分かった。これらは葉緑体DNA上の二つの遺伝子(psaA, psaB)の塩基配列から推定されている一次構造の相同性の高い2種の大型サブユニット(PsaA, PsaB)と考えられているが, 未だ十分な証明はない。また一次構造の解析からチラコイド膜における高次構造の推定がおこなわれているが, 確証はない。今回は, まずPsaA, PsaBの分離精製を試み, 次にそれぞれの定量, N-末端及びC-末端の一次構造の確認のため, プロテアーゼ処理によるペプチドマッピングと断片の配列解析を行った。その結果, PsaAとPsaBはほぼ1:1に存在することが示唆された。またどちらの蛋白質もN-末端がブロックされているが, 遺伝子から推定されるN-末端に非常に近い断片が得られた。特にPsaAでは2番目のIleが確認され, N-末端はFormylMetと推定した。またPsaAのC-末端断片も得られたので, PsaAについては全一次構造が確認されたことになる。次にcplを未変性のままプロテアーゼ処理したところ, 光化学活性を保持したまま, 多くのペプチド断片を遊離することが分かった。これら断片の一次構造解析からcplの高次構造を推定した結果も合わせ報告する予定である。

# 1aB09

水銀処理により鉄硫黄センターBを破壊した光化学系Iの機能的再構成条件の検討

○井上和仁、楠元範明<sup>1</sup>、桜井英博<sup>1</sup> (神奈川大・理・応用生物、<sup>1</sup>早稲田大・教育・生物)

塩化第二水銀処理によって鉄硫黄センターB(F<sub>B</sub>)のみを特異的に破壊した光化学系I(PSI)標品に窒素気流下の嫌気条件で2-メルカプトエタノール、塩化第二鉄、硫化ナトリウムを加え20℃で一晩インキュベートするとF<sub>B</sub>が再構成される。この再構成法で、F<sub>B</sub>(g=1.92)のESRシグナルは約70%回復したが、NADP<sup>+</sup>光還元活性の回復は認められなかった。今回我々は、NADP<sup>+</sup>光還元活性も回復するようなF<sub>B</sub>再構成条件について検討した。

【結果】上述のF<sub>B</sub>再構成条件にプロテアーゼ阻害剤PMSFを1mM加え、更に、5mMのMg<sup>2+</sup>を添加することによりNADP<sup>+</sup>光還元活性が約40%回復した。なお、Mg<sup>2+</sup>が0mM、1mMではNADP<sup>+</sup>光還元の回復は起こらず、PSIの機能的再構成には高濃度のMg<sup>2+</sup>が必要であることが明らかになった。また、閃光分光から5mM Mg<sup>2+</sup>添加再構成標品のP700<sup>+</sup>の再還元速度は、未処理PSIとほぼ同じであったが、0mM、1mM Mg<sup>2+</sup>再構成標品ではP700<sup>+</sup>の再還元速度がかなり遅くなり、P700<sup>+</sup>とP430<sup>-</sup>間の電子の再結合が正常に行われていないことが示唆された。

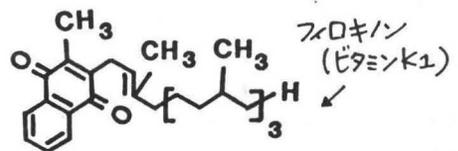
# 1aB10

光化学系I反応中心のキノンの機能と結合部位の構造

○<sup>1</sup>岩城 雅代・<sup>2</sup>Walter Oettmeier・<sup>1</sup>伊藤 繁  
(<sup>1</sup>基生研・<sup>2</sup>Ruhr Univ.)

光化学系I反応中心で電子受容体として働くフィロキノンは蛋白内で非常に強い還元力を示す(E<sub>m</sub>=約-850mV vs. SHE)。一方、光化学系II/紅色細菌型反応中心では同じようなキノンでも還元力が弱い(E<sub>m</sub>=0~-200mV)。これらのキノンの性質・反応性の違いは反応中心蛋白内部の構造の違いによると考えられる。このためにキノンの酸化還元電位とキノン結合部位の環境・構造との関係を調べた。

【方法】ハウレンソウ光化学系I粒子をジエチルエーテル処理しフィロキノンを抽出した後、合成キノン及びキノン類似化合物を再構成した。再構成標品について閃光照射後の吸収変化、極低温EPRを測定した。



【結果】①キノンの系I反応中心蛋白中の酸化還元電位(E<sub>m</sub>)は有機溶媒(dimethylfolmamide)中での酸化還元電位(E<sub>1/2</sub>)とほぼ平行関係にあり、E<sub>1/2</sub>が約-500mV以下のキノンが鉄硫黄センター(E<sub>m</sub>=約-700mV)を還元した。②キノンの構造と結合部位(Q<sub>φ</sub>部位)への結合力との関係からQ<sub>φ</sub>部位は紅色細菌反応中心のQA、QB部位に比べ電子密度の高い構造を持つと推定された。▼この構造のためキノンが電子を受取りにくくなり(キノンラジカルが不安定になり)、キノンの強い還元力が生じると考えられる。

## 1aB11

Heliobacterium chlorum膜標品のエーテル処理

°池上勇、小林正美<sup>1</sup>、E.J. van de Meent<sup>2</sup>、渡辺正<sup>1</sup>、  
J. Amesz<sup>2</sup> (帝京大・薬、<sup>1</sup>東大・生産研、<sup>2</sup>State  
Univ. of Leiden)

H. chlorumは、緑色光合成細菌と同様に光化学系 I とよく似た光化学系をもっている。池上らはホーレンソウやラン藻の光化学系 I 粒子をエーテル処理することにより、P700がアンテナ色素に対して著しく濃縮された標品を得ている。今回はH. chlorum膜標品のエーテル処理を行ない光化学系 I とその効果を比較した。

(1) H. chlorumにおける光合成色素BChl-gはエーテル中の水含量を増すに従い、より抽出される。しかしdry etherで抽出される量は全体の約20%で、ラン藻やホーレンソウの60%に比べ少なかった。

(2) 反応中心クロフィルP798はdry ether では殆ど抽出されないが、水分含量を増すに従って徐々に抽出された。しかしBChl-gより抽出され難いので、40% 水飽和エーテル(最適条件)ではBChl-g/P798 比がもとの約二分の一になった。

(3) エーテル処理後、P798の光酸化速度は著しく遅くなり、VK<sub>1</sub> analogを加えることにより回復した。これは、この光化学系に存在しているVK<sub>2</sub> が電子受容体として働いており、これがエーテルにより抽出されたためと考えられる。

(4) P798の初期電子受容体A<sub>0</sub>は670 nmに吸収を持つChl-a typeの色素である。この色素は、BChl-gやP798よりエーテルに抽出され難いことが示された。

## 1aB12

H. chlorum 光化学系中のバクテリオクロフィル g'

°小林正美、渡辺 正<sup>1</sup>、池上 勇<sup>2</sup>、小宮山 真、E. J.  
van de Meent<sup>3</sup>、J. Amesz<sup>3</sup> (筑波大・物工、<sup>1</sup>東大・生研、  
<sup>2</sup>帝京大・薬、<sup>3</sup>Univ. Leiden)

【目的】ヘリオバクテリアの反応中心はFe-Sセンターをもつことから系 I 型の反応中心だと考えられている。先に我々は、ブライム型色素が光化学系 I (Chl a') とヘリオバクテリアの光化学系 (BChl g') に存在することを見いだした。また、ホウレンソウの系 I 粒子にエーテル処理を行うと、Chl a' が濃縮されることを示した。本研究では、BChl g' を濃縮することを目的として、H. chlorum 膜標品のエーテル処理を試みた。

【方法】エーテル処理によってアンテナ色素を除去した膜標品から、残存する色素を冷アセトンを用いて抽出し、その色素組成を順相HPLCを用いて分析した。

【結果と考察】エーテル処理後の膜標品中のBChl g'/g値は、エーテル中の水分量が増すにつれて2/36から2/3まで増加した。後者の値は、系 I 粒子で得られた最高値 Chl a'/a = 2/16よりもはるかに高い。また、エーテル中でのBChl g ⇌ g'の平衡組成は、Chl a ⇌ a'のそれとほぼ同じで、BChl g'/g = 1/3であった。したがって、もしH. chlorum中にBChl g'が存在しないとすれば、たとえ操作中にBChl g → BChl g'が起こったとしても、BChl g'/g値が1/3を越えることはありえない。すなわち、エーテル処理によってBChl g'が平衡組成を越えたということは、BChl g'が確かにH. chlorum中に存在し、BChl gよりもエーテル抽出されにくいことを意味している。

## 1aC01

ニチニチソウの細胞周期特異的cDNAに相同な酵母遺伝子の解析  
伊藤正樹、安井明<sup>1</sup>、駒嶺穆  
(東北大・理・生物、<sup>1</sup>東北大・抗酸菌研)

細胞周期の制御機構の解明は、現在の生物学の最も重要なテーマの一つである。演者らは、ニチニチソウ培養細胞の二度のリン酸飢餓処理によって誘導される同調培養系を用い、高等植物の細胞周期における遺伝子発現の解析を行ってきた。既に、細胞周期特異的cDNAを複数種単離し、それらの構造解析、発現パターンの解析などを行い、報告してきている。

現在、演者らは細胞周期のS期に特異的に発現する遺伝子、*cyc07*に注目して解析を進めている。これまでの解析結果から、この*cyc07*は培養細胞においても、インタクトな植物体においても増殖の盛んな細胞において強く発現すること、ヒストンに匹敵する強い塩基性を持つタンパク質をコードしていることなどの知見が得られている。

この*cyc07*のcDNAの塩基配列を用いてデータバンクを検索したところ、有意なホモロジーをもつ塩基配列を見出すことができた。この塩基配列は出芽酵母 (*S. cerevisiae*) の*SIR3*遺伝子として登録されていた。*SIR3*遺伝子はShoreら(1984)によって、出芽酵母の接合能を持たない突然変異体を相補するゲノムDNA断片としてクローニングされ、塩基配列が決定されていたものである。しかし、*cyc07*とのホモロジーが検出された領域は、報告されている*SIR3*のmRNAの3'末端よりも更に下流に存在していた。従って、ホモロジーを有するのは、*SIR3*遺伝子自身ではなく、その近傍の下流に存在する*SIR3*とは異なる遺伝子であり、偶然にも彼らのクローニングしたDNA断片に含まれていたものであると考えられる。しかし、登録されていた範囲内にはこの遺伝子の5'側の一部しか含まれておらず、更に下流のゲノムDNAをクローニングする必要があった。今回はこの出芽酵母における*cyc07*の相同遺伝子の構造解析、およびその遺伝子発現について解析したので報告する。

## 1aC02

高等植物のプロテインキナーゼ遺伝子のクローニング

坂野弘美、村中俊哉<sup>1</sup>、森部豊輝、町田泰則 (名大・理・生物、  
<sup>1</sup>住友化学宝塚総研)

植物細胞は、植物ホルモンやその他の外界の刺激に対して、多様な応答を示すがその細胞内シグナル伝達機構は明らかにされていない。一方、動物や酵母の系では、シグナル伝達において、タンパク質の特異的なリン酸化が重要な機能を果たしていることが知られている。我々は、植物細胞のシグナル伝達機構を理解する一つのアプローチとして、植物のプロテインキナーゼのクローニングを行っている。既に動物や酵母では多くのプロテインキナーゼが見つかるが、それらのアミノ酸配列を比較すると、触媒領域にいくつかのよく保存されたアミノ酸配列が存在する。我々は、PCRのプライマーとして用いるために、これらのアミノ酸配列から推定される塩基配列を合成した。また、対数増殖期のタバコ培養細胞BY-2からmRNAを精製し、これに対するcDNAを合成し、これを鋳型としてPCRを行った。その結果、プロテインキナーゼ遺伝子の一部と思われる塩基配列をもつ5つのDNAクローンが得られた。プロテインキナーゼは、基質となるアミノ酸残基によりセリン/トレオニンキナーゼとチロシンキナーゼに大別されるが、塩基配列から推定されるアミノ酸配列の比較から、これら5つのクローンはセリン/トレオニンキナーゼ遺伝子の一部である可能性が高い。また、5つのクローンの内の1つのアミノ酸配列は*Saccharomyces cerevisiae* の*SNF1*蛋白質と高い相同性を示した。

## 1aC03

### シロイヌナズナのプロテインキナーゼ遺伝子群の解析

溝口剛<sup>1,2</sup>、林田信明<sup>1</sup>、篠崎和子<sup>1</sup>、小泉昌広<sup>1,3</sup>

篠崎一雄<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>理研・遺伝子解析、<sup>2</sup>筑波大・生物、<sup>3</sup>京大・理・植物)

外部からの刺激に対する植物細胞の応答反応は、数次に渡る情報伝達により構成されると考えられるが、未だ詳細は明らかにされていない。なかでも、リン酸化による蛋白質の活性の調節、制御は広く生物界に普遍的な制御様式であると考えられ、原核生物や動物では詳細な解析が進められているが、植物においては立ち遅れているのが現状である。そこで、植物細胞内の情報伝達機構を解析する上で重要な鍵と考えられるプロテインキナーゼ遺伝子をクローニングしその機能を解析することを目的として研究を始めた。蛋白質の共通構造をもとに合成オリゴヌクレオチドを作成し、これらをプライマーとして、シロイヌナズナのゲノミックDNAを鋳型としてPCRを行った。その結果得られたDNA断片をプローブとして、シロイヌナズナのcDNAライブラリーをスクリーニングした結果、数種のcDNAクローンを得た。それらのうちck64について解析を行ったところセリン/スレオニンプロテインキナーゼとの相同性みられた。ノーザンハイブリダイゼーション法により組織特異性について解析中である。またプロテインキナーゼ遺伝子の共通構造に対するオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、PCRを行った結果、プロテインキナーゼ遺伝子の一部と思われるDNA配列のクローンを得たので解析を進めている。

## 1aC04

### コムギヒストン遺伝子上流域に結合するシングル鎖特異的因子

高瀬尚文、高山しのぶ、中山卓哉、岩淵雅樹 (京大・理・植物)

われわれは、コムギヒストンH3遺伝子(TH012)をモデルにして、高等植物における転写制御機構の解析を試みている。これまでに、H3遺伝子上流-185bpまでに少なくとも3種のシス配列(ヘキサマー、オクタマー、ノナマー)を同定し、そのうち、ヘキサマー配列に結合する因子HBP-1aと-1b及びノナマー配列に結合する因子HBP-2を同定している。一方、他の植物ヒストンH3、H4遺伝子間の比較により、多くのヘキサマー配列とオクタマー配列が、共に保存性の高い領域に含まれていることがわかっている(タイプI植物ヒストン遺伝子群)。今回は、この保存性の高い領域に結合する因子を、あらたに2種同定したので報告する。

ヘキサマー、オクタマー配列を含む、H4遺伝子(TH011)の上流域32bpのDNA断片を用い、ゲルシフト法により因子の検索を行った。同定された2種の因子は、共にシングル鎖特異的結合性を示した。ひとつは、H3及びH4遺伝子のupper鎖上の配列に、もうひとつはlower鎖上の配列に、配列特異的な結合性を示した。メチル化干渉法で、結合部位を調べたが、オクタマー配列を認識して結合する直接的な知見は、得られなかった。

## 1aC05

コムギヒストンH3遺伝子のS期特異的発現と転写因子  
HBP-1a及びHBP-1bの機能解析

南 真樹、伊藤卓也、藤本宜充<sup>1</sup>、大坪憲弘、中山卓哉  
寺田理枝<sup>2</sup>、島本 功<sup>2</sup>、岩淵雅樹（京大・理・植物  
<sup>1</sup> 日本石油、<sup>2</sup> 植工研）

ヒストン遺伝子は、DNA合成と共に細胞周期S期特異的に発現する。われわれは、コムギヒストンH3遺伝子についてイネ形質転換細胞を用いて解析し、少なくとも上流-185bpまで持つと、細胞周期に依存した転写が見られることを確認した。この領域内には、すでにシス配列を同定しているが、GUS遺伝子をリポーターとしたtransient assay systemを用いて、更に詳細な解析を行ったので報告する。また、シス配列のひとつであるヘキサマー配列(ACGTCA)特異的に結合する転写因子HBP-1a及びHBP-1bのcDNAを用いて、植物組織における両因子の発現パターンを転写レベルで調べた。その結果、両因子の遺伝子はH3遺伝子と平行して、分裂の盛んな組織で発現することがわかった。更に、コムギの芽生えにおける両因子の遺伝子の発現パターンを見たところ、H3遺伝子のそれと平行して細胞周期に従って変動することがわかった。これらの結果は、HBP-1a、HBP-1bがH3遺伝子の転写因子であるというこれまでの考えを、強く支持するものであった。

## 1aC06

アラビドプシスのリボヌクレオプロテイン遺伝子の  
構造と発現

太田賢、李育慶、杉田護、杉浦昌弘（名大 遺伝子）

我々はタバコ葉緑体に核遺伝子産物である3種類のリボヌクレオプロテイン（28, 31, 33kd）が存在することを明らかにし、これらがポストトランスクリプトショナルな制御に関与することを示唆した<sup>1)</sup>。これらタンパクの植物間の比較解析を行うために、タバコ31kdタンパクのcDNAをプローブにしてアラビドプシスのゲノミックライブラリーをスクリーニングした。単離された5つのクローンは全て同一の遺伝子を含んでいた。塩基配列から推定されるアラビドプシスのリボヌクレオプロテインのアミノ酸残基数は314で、タバコ31kdタンパクの315残基とほぼ一致した。アミノ酸配列の相同性はタバコに対して66%であった。アミノ酸配列のドメイン構造はアラビドプシスでも3種類のタバコリボヌクレオプロテインと同様、N末端側からセリン、スレオニンに富み、全体として正の電荷をもつトランジット配列領域と、酸性アミノ酸領域、2つのRNA結合領域から成り立っていた。イントロンの数と位置はタバコと同じであるが、長さが短くなっていた。一方、33kdタンパクのcDNAをプローブにして単離した2つのクローンはそれぞれ異なった遺伝子を含むことを明らかにした。さらに、アラビドプシスにおけるリボヌクレオプロテインの遺伝子構成とその発現についても報告する。

(1) Li, Y. and Sugiura, M. (1990) EMBO. J., 9, 3059-3066

# 1aC07

## 植物サイクリン遺伝子のクローニング

○畑信吾・河内宏・鈴鹿巖<sup>1</sup>・石井哲郎<sup>2</sup>

(生物研・<sup>1</sup>家衛試・<sup>2</sup>筑波大)

サイクリン(分裂酵母 *c. d. c. 1.3* 遺伝子産物のホモログ)は、*c. d. c. 2* キナーゼの構成因子として、細胞周期(M期)の進行に重要な役割をになう一群の蛋白質である。これらは動物や分裂酵母に見いだされるが、植物ではその存在すら知られていなかった。我々は、2種のオリゴヌクレオチドプローブを用いてニンジンとダイズのcDNAライブラリーを検索し、それぞれからサイクリンのクローンを得た。既知のサイクリンとアミノ酸配列を比較したところ、ニンジンのクローンはA型に、ダイズのクローンはB型に類似していたが、典型的ではなかった。そのうえ植物のサイクリンは独特のアミノ酸配列も有していた。ニンジンのサイクリンmRNAは、培養細胞が不定胚を形成する過程で分裂が盛んになるにつれて、その発現が増加した。ダイズのサイクリンmRNAも、幼苗において細胞分裂が盛んな部位に局在して、発現していた。従ってこれらの遺伝子レベルは細胞増殖の頻度や部位を調べるための良いマーカーになると思われる。ダイズのサイクリンcDNAから合成したmRNAをアフリカツメガエルの卵母細胞に注入すると、海洋の無脊椎動物から単離されたサイクリン遺伝子と同じ効果が見られ、細胞が成熟して核膜が消失した。ダイズ染色体DNAのサザンブロットイング解析により、今回単離したサイクリン以外にも、別の型のサイクリン遺伝子があるかもしれないことが示唆された。

# 1aC08

## トランスジェニック植物におけるproliferating cell nuclear antigen (PCNA) 遺伝子の分裂組織特異的発現

### (1) シス制御領域の解析

○小杉俊一・鈴鹿巖<sup>1</sup>・大橋祐子<sup>2</sup>・村上高<sup>2</sup>・新井勇治

(筑波大・応生,<sup>1</sup>農水省・家衛試,<sup>2</sup>農水省・生物研)

Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) は、分裂細胞の核中に見いだされ、DNA複製の際にleading鎖の合成を担うDNA polymerase  $\delta$  の補助蛋白質であることが最近見いだされた。PCNA 遺伝子は真核生物中で広く保存され、イネPCNAは、ラットPCNAとアミノ酸にして約60%の相同性を示す。

我々は、イネゲノムより単離したPCNA遺伝子の5'上流領域の構造を明らかにし、発現制御機構の解析をおこなった。本遺伝子の5'上流領域を段階的に削りこんだDNA断片を $\beta$ -グルクロニダーゼ(GUS) レポーター遺伝子に融合し、アグロバクテリウム感染によりタバコに導入した。得られたトランスジェニック植物体のGUS発現パターンを調べたところ、根端部、茎頂部や未熟葉などの細胞分裂の盛んな部位に特異的にGUSの強い発現が認められた。また成熟葉の葉切片をカルス誘導の条件に置くと、葉切片の切断面に特異的に強いGUS活性の誘導と高い[<sup>3</sup>H]thymidineの取り込みが認められた。さらにトランスジェニックタバコを用いた上記の実験により、イネPCNA遺伝子の分裂組織特異的発現に必要なシス制御因子は、本遺伝子の5'上流約0.3 Kbp以内の領域に存在することが示唆された。

## 1aC09

トランスジェニック植物における proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 遺伝子の分裂組織特異的発現

### (2) 組織化学的解析

村上高・小杉俊一<sup>1</sup>・大橋祐子・鈴鹿巖<sup>2</sup>・榎本末男・新井勇治<sup>1</sup>(農水省・生物研,<sup>1</sup>筑波大・応生,<sup>2</sup>農水省・家衛試)

イネ Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 遺伝子の5'上流領域(2Kb)とβ-グルクロニダーゼ(GUS)レポーター遺伝子の融合遺伝子をタバコに導入し、得られたトランスジェニック植物体を用いて組織化学的にGUSの発現パターンを分析した。GUSの発現は、茎頂部では生長点の他に篩部に観察され、また根端部では分裂帯に特に活性が強く、根冠にも検出された。中心柱、皮層部等にはその活性はきわめて弱かった。一方、未展開葉を含むごく若い葉身では、葉肉組織にGUS活性が特異的に強かったが、成熟葉では活性は全く検出できなかった。PCNA遺伝子の発現と、DNA合成との関連を調べるため、<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みを茎頂部と若い葉の切片を用いて組織化学的に検出したところ、GUSの発現部位とDNA合成の盛んな部位が一致していることが示された。一方、PCNA(2Kb)-GUS遺伝子を導入したレタス(キク科)のカルスからの葉の形成過程においても同様の結果が示唆された。これらのことは、茎頂部では、生長点はもちろん篩部組織も胚的細胞からなっていることを意味しており、また未熟な若い葉では、葉肉組織で細胞分裂が盛んであることを示唆している。

以上の結果は、イネPCNA遺伝子が、ナス科やキク科の植物中でもDNA合成と密接に関連して発現することを示した。このことから、PCNA-GUS融合遺伝子は、植物体やカルスでの細胞分裂の旺盛な細胞群を検出するためのマーカー遺伝子として利用できる可能性も示唆される。

## 1aD01

メロン果実の酸性インペルターゼの精製と性質について  
岩坪友義、中川弘毅、小倉長雄、今関英雅<sup>1</sup>

佐藤隆英(千葉大・農化・<sup>1</sup>基生研)

アムスメロンは受粉後、約38日で重量の増加が止り、約50~60日で食べ頃になる。生育中には主な甘味成分であるショ糖の蓄積などが報告されている。本報告では、糖代謝に大きく関連していると思われる酸性インペルターゼ(EC 3.2.1.26)活性の生育中における変化と併せて部分精製した酸性インペルターゼの性質についても検討を加えたので報告する。

アムスメロンの果実における酸性インペルターゼはほとんど可溶性インペルターゼでその活性は果実の熟成につれて変化し、受粉後活性が上昇し9日をピーク低下した。受粉後10日目の果実より、DEAE-celluloseならびにCon A Sepharoseにより部分精製を行なった。可溶性インペルターゼの至適PHは5.5、SucroseならびにRaffinoseに対するKm値はそれぞれ4.2、20mMであり、HgCl<sub>2</sub>(3μM)ならびにAgNO<sub>3</sub>(30μM)などにより96%、42%活性が阻害された。また、メロン果実の可溶性インペルターゼはトマト果実の細胞壁結合インペルターゼ抗体ならびにマングビーンの芽生えの可溶性インペルターゼ抗体と反応した。その分子量はImmunoblotting法により約70,000であった。これらの結果より、可溶性インペルターゼも細胞壁結合インペルターゼも免疫的には類似構造をもっているのではないかと推察される。

## 1aD02

ヤエナリ ショ糖合成酵素及びインペルターゼの cDNA  
クローニング

○新井雅雄<sup>1,2</sup>、森 仁志<sup>2</sup>、今関英雅<sup>1,2</sup> ( <sup>1</sup>名大・農・  
生化学制御、<sup>2</sup>基生研・情報制御)

ヤエナリ (*Vigna radiata*) 芽生えの各器官は、子葉の供給するショ糖をショ糖合成酵素 (SS) と酸性インペルターゼ (AI) により分解し生長に利用しており、両酵素の活性は器官の生長速度に対応して変化している。本研究では、この二つの酵素の誘導と制御の解析を目的として両酵素の cDNA クローニングを行なった。

発芽二日目の黄化芽生え下胚軸より調製した poly(A)<sup>+</sup>RNA を鋳型とし pTTQ18 をベクターとしてベクタープライマー法で cDNA ライブラリーを作成し、SS に対する特異抗体でスクリーニングを行なった。その結果、2.6kbp のインサートを持つ SS の cDNA クローンを得た。AI は、精製したタンパク質標品が二つの成分 (38kDa, 30kDa) で構成されていたが、このうちの 38kDa 成分の N 末端アミノ酸配列をもとに PCR 法によって作成したプローブを用いて cDNA ライブラリーのスクリーニングを行ない、1.5kbp 及び 2.6kbp のインサートを持つ二つの cDNA クローンを得た。この二つのクローンの制限酵素地図は一致し、2.6kbp のインサートは 1.5kbp の 5' 側が伸びたものであった。また、プローブの配列は 1.5kbp の 5' 側に見出された。このことから、AI 精製標品の二つの成分は一つのポリペプチドとして生合成されたものであることが考えられる。

## 1aD03

マメ科発芽種子  $\alpha$ -アミラーゼの酵素学的特徴

○南森 隆司、河野 昭子<sup>1</sup> (神戸大農化、<sup>1</sup>大手前栄専)

$\alpha$ -アミラーゼは微生物、動物、植物を問わず広く生物の保有するデンプン分解系の酵素であり、デンプンの  $\alpha$ -1, 6 結合を水解し、グルコース、マルトース、マルトオリゴ糖を生成する点では共通の性質を有しているが、等電点、分子量、各種オリゴ糖に対する反応性などの点では、個々の  $\alpha$ -アミラーゼの特色が見られる。我々は、マメ科植物アルファルファ (*Medicago sativa* L.) 種子中の  $\alpha$ -アミラーゼの存在様式に関する研究過程で、この植物の  $\alpha$ -アミラーゼの電気泳動的特性 (イモビラインゲルでは泳動しない事) を発見した<sup>1</sup>。さらに、この特性は、多くのマメ科の  $\alpha$ -アミラーゼに共通する事が判明した<sup>2</sup>。本研究において、イモビラインゲルを用いた電気泳動条件を種々検討し、多くのマメ科  $\alpha$ -アミラーゼの泳動的特性についての結論を得た。次に、アルファルファ、緑豆、大麦、脾臓の  $\alpha$ -アミラーゼをそれぞれ精製し、各種マルトオリゴ糖に対する水解生成糖パターンや  $K_m$  値を測定し、マメ科の  $\alpha$ -アミラーゼに関して次のような興味ある結果を得た。1) マルトトリオースを分解しない。2) マルトテトラオースに対する  $K_m$  値が比較的大きい。3) 可溶性デンプンを基質とした場合の  $K_m$  値が比較的小さい。4) イモビラインゲル中では泳動しない。つぎに 4) の原因を考察した。

1, PCP in press      2, 生化学 62 No.7 p.697 (1990)

## 1aD04

サツマイモ塊根からのBranching Enzyme (QE)の性質と精製

○中山繁樹・中村保典 (農業生物資源研)

Branching Enzyme(以下QE)は、デンプン生成過程のキ酵素の一つであり、デンプン分子に $\alpha$ -1,6分岐構造を導入する。前報(1990年度年会講演要旨集 P218)において、登熟中のイネ種子(品種フジカ)に構造の異なる2種類のQE(QE I、QE II)が存在していることを明らかにしたが、今回サツマイモ塊根(品種コガネノガ)のQEを精製し性質を調べたので報告する。QE活性はウサギ筋肉のPhosphorylase a共存下において、グルコース-1-リン酸から生成されるデンプン量をヨウ素呈色反応で検出した。

1) native-PAGE/活性染色法による分析で、サツマイモのQEは、イネの主成分である易動度の遅いバンド(QE I)が殆ど見られず易動度の早いバンド(QE II)が大部分を占めた。2) 精製は、サツマイモ塊根を氷冷しながら糸状にし、30%-45%硫酸沈澱分画した後、Sephadex G-25、(以下HPLC) DEAE-5PW、Ether-5PW、G4000PWの各種クロマトグラフィーを用いて行った。その結果、SDS-PAGEにおいて分子量約85Kのほぼ単一のバンドとなるまで精製することができた。これはイネのQE IIの分子量と同程度であった。3) この精製したQEを抗原としウサギ抗血清を得た。これは粗抽出タンパク質のウェスタンブロッティングにおいてQEと特異的に結合した。この抗血清を用いてサツマイモQEについて更に検討を加えた。

【この研究を進めるにあたり農業研究センター中谷誠博士から材料の提供を受けた。ここに記して謝意を表する】

## 1aD05

イネ葉からのショ糖リン酸シンターゼの精製

武市哲郎、村田孝雄 (農業生物資源研)

ショ糖リン酸シンターゼ(SPS)はUDPグルコースからフルクトース-6-リン酸にグルコース残基を転移することによりショ糖-6-リン酸を合成する酵素であり、ショ糖合成の主要経路に位置し、リン酸による阻害やグルコース-6-リン酸による活性化を受ける鍵酵素であると考えられている。今回、イネ(アキヒカリ)葉を材料として、この酵素の精製を試みたので報告する。

5~6葉期の幼葉を液体窒素中で破碎した後、バッファー中でホモゲナイズして粗抽出液とし、60%硫酸沈澱分画より精製を開始した。ゲル濾過及びDEAEイオン交換クロマトグラフィーにおいてSPS活性は明瞭な単一のピークを示し、これらの繰返しは有効であったが、可溶性蛋白の大部分を占めるRuBisCOからは分離できなかった。さらに疎水クロマトグラフィーとQ-SepharoseあるいはMono Qによるイオン交換クロマトグラフィーを行うことにより、酵素活性は不安定化したものの、高度の精製が可能であった。今のところ6段階のクロマトグラフィーにより比活性で289倍の精製標品が得られており、SDSポリアクリルアミド電気泳動によりSPSサブユニットと考えられる分子量約9万の単一バンドが認められている。

## 1aD06

アミロプラストのadenylate translocator とデンプンの生合成

Javier Pozueta-Romero, Fernando Ardila, ○赤沢堯 (名古屋大学・農・生化学制御)

Adenylate translocator はミトコンドリア内膜に局在する主要タンパク質である。一般に、クロロプラストの ATP 透過能はそれほど大きくはないと考えられている。ATP 生成能を持たないアミロプラスト包膜は、デンプン合成の素材であるところの ADPG 合成のために cytosol から ATP をとり込まねばならず、内膜に adenylate translocator を持っているに違いないとの考えからこの研究が始められた。

ATP/ADP/AMP のみならず ADPG が直接とり込まれること、そしてそれがデンプン生合成酵素の働きと効率よく共役していることが明かとなった。Cytosol において、ADPG はスクロース合成酵素によって作られるものと考えられる。Adenylate translocator による ADPG 輸送機構はアミロプラストにとどまらず、その他のプラスチド、例えば、プロプラスチド(タバコ)、クロロプラスト(ホウレンソウ)、ミトコンドリア(シカモア)の内膜に普遍的に存在し、いずれも CAT によって阻害される。Adenylate translocator が植物細胞の C-化合物の同化、分配機構に果たす重要な役割を論じたいと思う。

## 1aD07

コマユミの葉からの UDP-キシロース: フラボノール 3-O-キシロシルトランスフェラーゼについて  
楊 志慶、石倉成行(熊本大・理・生物科学)

フラボノールの 3 位の水酸基での配糖化を触媒する酵素は、これまでに多くの植物から報告されているが、そのほとんどはグルコースないしはラムノースの転移酵素である。今回、われわれはコマユミ(ニシキギ科植物)の葉から、新たに UDP-キシロース: ケンフェロール 3-O-キシロシルトランスフェラーゼ (F3XT) 活性を見出したので、その性質について報告する。

コマユミの幼葉からの F3XT 抽出液は、硫酸分画、セファデックス G-100 および DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーにより、約 16 倍にまで純化できた。F3XT はゲル濾過法により、分子量が約 50,000 と推定された。また、活性は 1 mM の  $\text{Ca}^{2+}$  および  $\text{Zn}^{2+}$  により、著しく阻害された。1 mM のパラクロロ安息香酸第二水銀 (PCMB) によっても強く阻害されるが、スーメルカプトエタノール (14 mM) の同時添加により、その阻害を解除できた。最適 pH は、トリス-塩酸緩衝液では 7.0、イミダゾール-塩酸緩衝液では 7.5 であった。F3XT のケンフェロールに対する  $K_m$  値は 0.83  $\mu\text{M}$ 、UDP-キシロースに対しては 25  $\mu\text{M}$  で、いずれも高い親和性を示す。なお、コマユミの葉には、F3XT のほかに、複数の UDP-グルコース: ケンフェロール O-グルコシルトランスフェラーゼ活性も見出されたが、それらの酵素は、イオン交換フロマトグラフィーにより、F3XT から明瞭に分離することができた。

## 1aD08

ジャガイモ塊茎UDPグルコースピロホスホリラーゼ：  
cDNAのクローニング、塩基配列の解析および大腸菌  
での発現

勝部拓矢、数田恭章、谷沢克行、福井俊郎（阪大・産研）

UDPグルコースピロホスホリラーゼは、UTPとグルコース-1-リン酸との間の可逆的なウリジリル基転移反応を触媒する酵素で、多様な糖代謝における重要な中間体であるUDPグルコースの生成と分解を司っている。本酵素の部分アミノ酸配列に基づき合成したオリゴヌクレオチドをプローブとして用いることにより、未熟ジャガイモ塊茎より調整したcDNAライブラリーから、本酵素タンパク質をコードするcDNAを単離した。得られた最長のcDNAは、完全長の本酵素タンパク質のメッセージ(1431塩基対)をコードしていた。本酵素モノマーの計算分子量は51,783で、SDS-PAGEによる測定値とほぼ等しかった。

次いで、DNAポリメラーゼ反復反応(PCR)法を用いて、cDNAから本酵素の構造遺伝子部分を増幅し、プライマー中に導入した新規制限酵素切断部位を利用することにより、発現ベクターpTV118-N中に増幅DNA断片を組み込んだ。得られた発現プラスミドpTUGを大腸菌にトランスフォームし、この組換え株をIPTG添加培地で培養した結果、全可溶性タンパク質の約5%に相当する本酵素が大腸菌細胞内で生産された。本酵素は、2段階のカラムクロマトグラフィー操作により大腸菌から容易に精製することができた。均一に精製した本酵素は、アミノ末端残基のアセチル化の有無を除いて、ジャガイモ塊茎から精製した酵素と構造的にも触媒機能的にも同一であった。

## 1aD09

ステビオールへの配糖体化酵素

柴田 均、岡家 暁、佐谷圭三、落合英夫、西橋秀治<sup>1</sup>、  
山田正治<sup>1</sup>（島根大・農・生物機能学、<sup>1</sup>大日本インキ中央研）

天然甘味剤ステビオサイド類のアグリコン、ステビオールへの配糖体化酵素について検討した。ステビア葉 (*Stevia rebaudiana* Bertoni) の粗抽出液を、50 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) で平衡化した DEAE-Toyopearl のカラムにかけると UDP-glucose (UDPG) 依存のステビオールへの配糖体化酵素は素通りした。さらに、KCl濃度勾配溶出による DEAE クロマトや、Toyopearl G-3000 SW によるゲル濾過などによってこの酵素を 320 倍に精製した。SDS-PAGE で一本のバンドとして検出され、その分子量は、24 kd と決定された。ステビオールと UDPG に対する  $K_m$  値は、それぞれ 71.4  $\mu$ M , 0.36 mM であった。この酵素はステビアの 13 位へのグルコース転移を触媒する他に Kaempferol や Quercetin をもアグリコンとして利用し、とくに Kaempferol への活性はステビオールに対する活性よりも 3.9 倍も高くステビオール専用の酵素とは考えられなかった。ハウレン草、バセリ、ヒガンバナの花弁、タバコ培養細胞、ステビアのカルス、ブロッコリーからの抽出液中にも Kaempferol や Quercetin に配糖体化する活性と共にステビオールにも配糖体化する活性が検出された。ステビオサイド類は、*Stevia rebaudiana* 種のみ蓄積されると考えられているが、アグリコンに配糖体化させる活性は、広く植物界に存在する基質特異性の広い酵素で 13-O-グルコシルステビオールへと変換されると考察される。

## 1aD10

高等植物のアスコルビン酸生成における中間体としての  
グルコソソについて

斉藤和実、Frank A. Loewus<sup>1</sup> (京大RTセンター、ワ  
シントン州立大)

高等植物におけるグルコースからのアスコルビン酸(以下AA)生成では、それぞれの1位から6位の炭素原子が相互に対応することが知られているが、それを説明する生合成経路は未だ明かではない。我々は、D-グルコソソがAA生合成経路における中間代謝産物である可能性を検討するために、各種標識グルコソソを合成し、高等植物におけるその代謝を調べた。

まず、D-[6-<sup>14</sup>C]グルコソソをホウレンソウに与えた場合に生成する標識AAは、1)D-[6-<sup>14</sup>C]グルコースを与えた場合に生成する標識AAの約7倍であり、2)その6位の炭素原子中に98%の<sup>14</sup>Cを保持しており(同様の結果はゴガツササゲにおいても観察された)、3)植物組織中に非標識のグルコースを予め与えることにより、無処理の場合の約8%に減少することが認められた。

次いで、AAを蔞酸と酒石酸に代謝するペラルゴニウムに各種標識グルコソソを与えた場合、グルコソソの1位と6位の<sup>14</sup>Cは蔞酸と酒石酸中にそれぞれ取込まれたが、5位の<sup>3</sup>HはAA、蔞酸、および酒石酸には取込まれなかった。

これらの事実は、グルコソソが高等植物におけるAA生合成経路における中間代謝産物である可能性を強く示唆するものである。

## 1aE01

クロロフィライドのフィチレーションに対する金属キレ  
ーターの阻害効果

田中義人・田中 歩・辻 英夫(京大・理・植生研)

7日間暗所で育成させたキュウリ黄化芽生えから子葉を切り取り、4時間暗所で5mM  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl(DP)処理すると、光照射後のクロロフィライドのフィチレーションが阻害された。阻害は、黄化子葉を5mM ZnCl<sub>2</sub>で処理すると回復したので、DPは金属キレーターとして作用していると考えられる。この阻害機構を明らかにするために、無細胞系を用いた実験を行なった。

暗所中でキュウリ子葉を穏やかに破碎し、200xg遠心上清を2,000xg遠心した沈殿を葉緑体画分とし、これを0.4M sucrose, 50mM Hepes(pH 8.0), 20mM MgCl<sub>2</sub>, 20mM ATP, 0.2% BSAを含む反応液に懸濁した。このサンプルを1分間光照射してから60分間暗所でインキュベートした後、クロロフィルおよびクロロフィライド類を定量した。キレーターで前処理していない子葉から得た葉緑体画分では、反応液にphytolを加えない場合でも、フィチレーションが観察された。また、反応液に2mM DPを加えても、フィチレーションは観察された。キレーターで前処理した子葉から得た葉緑体画分では、反応液にphytolを加えない場合は、フィチレーションは全く観察されず、0.5mM phytolを加えた場合には、キレーターで前処理していない場合とほぼ同様にフィチレーションが観察された。このことから、DPは、diterpene (phytolまたはgeranylgeraniol)の供給を阻害していることが示唆された。

# 1aE02

## 光合成細菌の光合成色素蓄積阻害の光作用スペクトル

高宮 建一郎 (九州大・理・生物)

【序論】 我々は 1988 年度の本年会で、光合成細菌を好氣的条件下で光を照射して培養すると、バクテリオクロフィル (Bchl) やカロチノイドが膜に蓄積しないことを示した。さらに我々は、この色素蓄積阻害の作用スペクトルを測定することによって、阻害には青紫色光が有効であることを示した。他方、高い酸素分圧は光合成色素生成を阻害することが従来から知られているので、青紫色光の阻害作用が嫌氣的条件下でも観察されるかどうかは興味のある問題である。今回は、好氣性光合成細菌では嫌氣的条件下でも同様な光阻害を示す結果を得たので報告する。

【方法】 好氣性光合成細菌 *Roseobacter denitrificans* (従来の *Erythrobacter* OCh 114) を嫌氣的条件下でトリメチルアミン N-オキシド存在下で生育させ、生育速度、Bchl やカロチノイドの含量に対する光照射の影響を調べた。

【結果・考察】 トリメチルアミン存在下・嫌氣的条件下では、生育速度は光照射の影響を受けなかった。暗所生育菌は少量の Bchl およびカロチノイドを含んでいたが、明所生育菌はそのいずれも殆ど含んでいなかった。暗所生育菌に途中で光を照射すると、照射中の光合成色素含量は増加せず一定であった。光合成色素蓄積に対する光阻害には 420 nm をピークとする青紫色光が有効で、長波長の光は効果が無かった。この光阻害作用は硝酸塩の存在下・嫌氣的条件下での生育 (脱窒条件) においても観察された。これらのことから、少なくとも *R. denitrificans* では、好氣・嫌氣両条件下で青紫色光は光合成色素の蓄積を阻害し、光受容色素と阻害の機構はおそらく同一であろうと考えられる。

# 1aE03

## 好氣・明条件下における *Rhodobacter sphaeroides* 色素タンパク遺伝子の発現の光波長依存性

島田裕士・射場厚・高宮建一郎 (九大・理・生物)

紅色非イオウ細菌 (purple nonsulfur bacteria) である *Rhodobacter sphaeroides* において光合成に関与している色素タンパク複合体の合成・蓄積は、光や酸素分圧によって著しく影響を受けることが報告されている。前回の学会で好氣的条件下で光 (特に白色の強光) を照射して生育した菌は好氣的条件下で暗所生育させた菌と異なり、遊離のバクテリオクロフィルやカロチノイドが存在しないこと、集光性バクテリオクロフィルタンパク複合体 I と II (それぞれ LH I と LH II と略す) のアポタンパクの遺伝子の mRNA が存在しないことを報告した。今回の実験から、光を照射した時には LH II のアポタンパク遺伝子の mRNA は LH I のそれよりも短時間で見られなくなることが示された。つぎに、LH I と LH II のアポタンパク遺伝子の転写阻害に影響を与える光の波長依存性を調べるために、420nm, 530nm, 770nm に透過率のピークをもち、透過する波長域が広いバンドパスフィルターをもちいて転写阻害のおおまかな波長依存性を調べた。一番短波長側である 420nm の光がそれぞれの遺伝子の転写を一番よく阻害することがわかった。さらに、450nm から 620nm の間においてそれぞれ単波長を照射して同様な実験を行なったところ、この場合も一番短波長側である 450nm の光を照射したときがそれぞれの遺伝子の転写を一番よく阻害していることがわかった。現在、より長波長側での同様な実験を行っており、既に射場らによって報告されているバクテリオクロフィルとカロチノイドの光照射による蓄積阻害の光波長依存性<sup>(1)</sup>との関連性を報告する。

(1) : Iba, K and K, Takamiya (1989) Plant Cell Physiology. 30:471-477

## 1aE04

超強光下で生育した *Synechocystis* PCC6803 の  
膜ペプチド組成

相澤 克則 ・ 藤田 善彦 (基生所・細胞生物)

藻類等の細胞の光化学系 (PS) は超強光の照射により損傷を受ける。ラン藻 *Synechocystis* PCC6714 ではこの場合に PSIIの失活が急速に起こるが PSI の方は比較的安定である事を既に報告した。今回は超強光下での膜ペプチド組成の変化を調べたので報告する。

*Synechocystis* PCC6803 を弱光 ( $5W/m^2$ ) で培養し次に超強光 ( $300W/m^2$ ) を照射し経時的に細胞を回収した。これから調製した膜ペプチドを LDS-PAGE で分離し CBB 染色性等で分析した結果: (1) クロロフィルの細胞含量は経時的に低下した。(2) 47, 34, 27, 23, 18.5kDa の分子量を示すペプチドの細胞含量の低下は顕著で、超強光照射 6 時間でも変化が認められた。これに対し (3) P700 値の低下と PSI コアペプチドに対応する 60-70kDa ペプチドの含量低下は (2) に比べて遅く、PSI が超強光下でも比較的安定な事が、ペプチド含量の面からも確認された。また 15.5, 10, 8.5kDa ペプチドの含量低下も緩やかであった。更に (4) 含量変化が超強光照射 24 時間でもみられない 21kDa 等のペプチドも存在した。これらは同細胞を用いて報告した光質 (PSI や PSII 光) の変化に伴って起こる膜ペプチド含量の変化パターン即ち、PSI に関連すると推定されるペプチド含量が変化する場合とは明かに異なっていた。以上の知見を示すとともに超強光照射条件下での膜ペプチド組成の変化及び同組成への光質効果との差異について論議を行なう。

## 1aE05

光照射により誘導される psbD-psbC 遺伝子転写産物とその誘導機構

川口博、金山満彦、椎名隆、豊島喜則 (広大、総合科)

葉緑体 DNA にコードされた光化学系 II (PSII) 関連遺伝子として現在のところ psbA から psbN までの 14 個が知られているが、それらの翻訳産物の多くは小麦のエチオプラストでは蓄積しておらず、光照射により発現してくる。

既に一部の PSII 関連遺伝子の転写産物の緑化中の変化については報告したが、今回は psbA から psbN までの全ての転写産物の発現パターンについて検討した。緑化中の各時間の小麦葉からプラスチド RNA を抽出し、ノザンハイブリダイゼーションを行ったところ、全ての PSII 遺伝子がエチオプラストでも転写されていた。psbA, B, C, D, H 遺伝子の転写産物のパターンは光照射により顕著に変化した。一方、エンドウでは光照射によりその転写産物の増加の見られる psbN を含めて上記以外は大きな変化を示さなかった。psbD/C 遺伝子群には少なくとも 6 種の転写産物が存在し、その内、5.4, 4.5, 4.0, 3.0, 2.6kb の転写産物は psbD の上流 -159 ~ -1060 の間に 5' 末端が存在し、光照射により増大する 4.0, 3.0kb の転写産物の 5' 末端は 2 種とも psbD の上流約 -680 であった。さらに、この末端が転写開始部位か、プロセッシング部位かを *in vitro* capping 法により調べたところ、この 5' 末端は転写開始部位であることが判明し、psbD/C 遺伝子の光誘導性の転写産物は光による転写活性の促進により増加したことが明らかになった。

## 1aE06

*lacZ*-fusion による光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* におけるフェレドキシン発現制御の解析

○末次由実、佐伯和彦、松原 央（阪大・理・生）

紅色無硫黄細菌 *R. capsulatus* は光合成や呼吸、嫌気呼吸等の多様な条件下で生育できる。我々はこれまでに、この細菌から2種のフェレドキシン (Fd I、Fd II) を精製し、一次構造解析を行ってきたが、他の細菌のフェレドキシンとの構造比較からこれらがフェレドキシンの分子進化において異なるグループに属し、異なる機能を担うと考えている。本実験ではこれらのFdの機能分化を明らかにするために、各々の構造遺伝子 (*fdxN*, *fdxA*) と、大腸菌の *lacZ* 遺伝子との融合遺伝子の発現を調べた。まず融合遺伝子を含むプラスミドを接合によって野生株に移し、得られた菌体を様々な条件下で培養した。菌抽出物のβ-ガラクトシダーゼ活性を測定した結果、*fdxN-lacZ* は、ニトロゲナーゼ系遺伝子群 (*nif* 遺伝子群) と同様の制御を受けていた。また *fdxN* の上流には、植物のフェレドキシンに相同性を持つ遺伝子 (*fdxC*) が存在するが、*fdxC-lacZ* も、*fdxN-lacZ* と同じく窒素固定条件下で発現した。一方、*fdxA-lacZ* は窒素固定条件下とは関係なく、呼吸やジメチルスルホキシドを用いた嫌気呼吸、培地中の炭素源を乳酸または酢酸に限定した光合成による生育などの生育条件下でも、発現量はほぼ一定で、常に発現していた。このことから、FdxN (Fd I) は窒素固定に関連して機能するが、これに対し、FdxA (Fd II) は窒素固定とは関係なく恒常的な機能を持つと考えられた。

## 1aE07

光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* におけるフェレドキシンの機能分化：遺伝子破壊と相補性試験を用いた解析

○佐伯和彦、徳田賢一郎、松原 央（阪大・理・生物）

*R. capsulatus* には従来から2種のフェレドキシン (Fd I と II) が含まれることが知られていたが、我々はこれらのFdの構造遺伝子 (*fdxN* と *fdxA*) のクローニングと塩基配列の決定を行ない、*fdxN* のすぐ上流に葉緑体型Fdをコードする遺伝子 (*fdxC*) が存在することを明らかにしてきた。Fd間の機能の差異を明らかにするために、*fdxN*, *fdxC* 及び *fdxA* の破壊実験そして破壊株の相補実験を行なった。まず、*fdxN* と *fdxC* のいずれかあるいは両者の一部分を除去して薬剤耐性因子と置換したプラスミドを用い、相同組換えによる各Fd遺伝子の破壊を行なった。得られた破壊株はいずれも窒素固定によって生育することができず、これらのFd遺伝子または下流に存在する未知遺伝子の産物が窒素固定に必要なことを示した。そこで、*fdxN* 下流部分を3'側から段階的に欠失させた断片などを含む各種のプラスミドを変異株に導入して窒素固定能の回復を調べたところ、FdxN と FdxC いずれもが窒素固定に必須であることが判明した。*fdxA* についても同様の方法で、呼吸、嫌気呼吸を含む種々の条件下で検索を行なっても破壊株は得られなかったが、*fdxA* の下流に薬剤耐性因子を挿入したところ容易に耐性株が得られた。従って、Fd II の喪失は致死的であると考えられた。以上の結果から、FdxN (Fd I) と FdxC の両者が *R. capsulatus* の窒素固定に不可欠な異なった機能を果たしていること、そして、FdxA (Fd II) がこの細菌の恒常的な機能に不可欠であることが示唆された。

## 1aE08

*Anabaena variabilis* におけるプラストシアニンと

チトクローム *c*-553の銅による発現調節

密 武嗣, 中村真樹, 吉崎文則, 杉村康知 (東邦大・理・生物)

ラン藻 *Anabaena variabilis* では、培地中の銅含量を増やすと光合成電子伝達系のプラストシアニン (PC) が増加するとともにチトクローム *c*-553 (*c*-553) が減少し、銅含量を減らすとその逆の現象がみられることが Sandmann らにより報告されている。この調節段階を調べるために、*Anabaena variabilis* NIES-23よりPC及び*c*-553を精製し、それぞれに対するウサギ抗血清を得て、ウェスタンブロットを行った。PC抗血清では、銅添加培養した藻体の粗抽出液で精製PCに対応するバンドがみられたが、無添加培養した藻体の粗抽出液ではみられなかった。*c*-553抗血清では、無添加培養した藻体の粗抽出液で精製*c*-553に対応するバンドがみられたが、銅添加培養した藻体の粗抽出液ではみられなかった。前駆体に対応するバンドはいずれの場合もみられなかった。これは、PC発現と*c*-553発現の銅による調節が、共に翻訳よりも前の段階で行われている可能性を示している。

ラン藻の*c*-553発現の銅による調節段階についての報告はない。PC発現は、*Synechocystis* sp. PCC 6803 では翻訳またはそれ以後の段階、一方、*Anabaena* sp. PCC 7937 では転写段階で調節されていることが報告されている。今回の結果は後者に近い。現在、銅添加及び無添加で培養した藻体でのPC及び*c*-553の翻訳可能なmRNAの有無を、無細胞翻訳産物の免疫沈殿の実験で調べている。

## 1aE09

ランソウ光化学系 I *psaA*, *psaB* 遺伝子のクローニング

清水徳朗、檜山哲夫、池内昌彦<sup>1</sup>、井上頼直<sup>1</sup> (埼玉大・理・生化、<sup>1</sup>理研)

好熱性のランソウである *Synechococcus vulcanus* DNAをラムダファージベクター *λ*-Dashに組み込んだライブラリから、光化学系 I の2つの大サブユニットをそれぞれコードする遺伝子、*psaA*, *psaB*のクローニングを行った。プローブには、名古屋大学遺伝子実験施設杉浦昌弘教授より分譲を受けたタバコ *psaA*, *psaB* 遺伝子を組み込んだDNA断片を<sup>32</sup>Pで標識したものをを用いた。ポジティブなクローンをいくつか拾い、そのラムダファージDNAから *psaA*, *psaB* 遺伝子が入っているDNA断片をファージミッドベクターにサブクローニングし、ExoIII / Mung bean nuclease で欠損体を作製してサンガー法で塩基配列を決定した。

その結果、*psaA*, *psaB* 遺伝子間の距離は23bpで、すでに報告されている他のランソウ *Synechococcus* sp. PCC 7002 の173bpと比べて非常に短い上に、その部分に報告されている様なORFは存在せずむしろ高等植物のものに近いことがわかった。さらに、*psaA*のN-末端のアミノ酸配列も、高等植物のそれに類似しており、全体として葉緑体型の配列に近いものであると考えられた。

塩基配列から予想されるアミノ酸配列は高等植物およびランソウ PCC 7002 のものと高い相同性を示すが、*psaA*に5個、*psaB*には3個のシステイン残基が存在することが特徴的である。

## 1aE10

光化学系 I *psaC* 遺伝子の大腸菌での発現とその解析

清水徳朗、橋本光広、檜山哲夫（埼玉大学・理・生化）

好熱性ランソウ *S. vulcanus* からクローニングした、光化学系 I 9kDa サブユニット (subunit VII) の遺伝子 *psaC* を、T7 プロモーター/ターミネーターの間に入るようにベクターに組み込み、T7 RNA ポリメラーゼを IPTG で誘導合成することの出来る大腸菌 JM109 (DE3) 株に導入した。この菌株を 0.5mM IPTG 処理した後、フレンチプレスで菌体を破碎・低速遠心で沈澱してくる画分を回収したところ、遺伝子産物はこの画分に含まれていて、電気泳動上で光化学系 I の 9kDa サブユニットと同じ位置に泳動されることが、ウェスタンブロットの結果から判明した。次に嫌気的な条件下でこの沈澱を 0.5% Triton X-100 で可溶化し、直ちにホウレンソウ C P I 標品 (大サブユニットのみの反応中心) と混合して再構成をおこなわせた。その結果、メチルピオローゲン非存在下における、430nm での閃光照射後の P700 再還元の後半減期は 18ms から 100-150ms となり、室温で放置した場合の安定性も増大した。低温 EPR 測定により、遺伝子産物に一種の鉄イオウシグナルが認められたが、再構成したものでは center-A, B の存在を示す  $g=1.94, 1.92, 1.89, 1.86$  の位置にシグナルがあらわれた。このことから大腸菌で *psaC* 遺伝子産物は鉄イオウクラスターを配位した形で合成されていることが分かった。(EPR 測定にご協力頂いた理化学研究所の井上頼直・小野高明両先生に感謝いたします。)

## 1aE11

プラストシアニンとその "fusion" 蛋白質の大腸菌における発現

日比野隆、岩崎行玄、石川浩、高倍昭洋

(名城大・理工・化学)

プラストシアニンの遺伝子は核ゲノムに支配され、分子サイズが 16.6 kDa のプレカーサーとして合成された後、2段階のプロセスを受けてチラコイド膜のルーメン側に輸送される (1)。我々は昨年 of 年会で、プレカーサープラストシアニンが大腸菌で発現されること、大腸菌で発現し部分精製したプレカーサープラストシアニンは *in vitro* の系で mature プラストシアニンにプロセスできることを報告した (2)。今回、さらに銅のアポ蛋白質への取り込みといくつかの "fusion" 蛋白質の作成について検討したのでその結果について報告する。

プレカーサープラストシアニンの DNA は *Silene pratensis* から単離したものをを用いた。プラストシアニンの検出はウェスタンブロットングにより行ない、蛋白質に銅が取り込まれているかどうかは 597nm の吸収、ESR スペクトルにより検討した。N-末端領域の欠落したプレカーサープラストシアニン、mature プラストシアニン、アズリンのシグナルペプチドをもつプラストシアニンについて検討した。これらの結果について報告する。

(1) Smeekens, S. et al. (1986) Cell, 46, 365-375

(2) Hibino, T. et al. (1991) Biochim. Biophys. Acta, submitted

## 1aE12

光化学系IIの酸素発生系に関与する33-kdタンパク質の構造解析への試み—33-kdタンパク質の大腸菌内での大量発現  
周勁松、小西智一、和田敬四郎<sup>1</sup>、渡辺 昭(名大・農・生化学制御、<sup>1</sup>金沢大・理・生物)

光化学系IIの酸素発生系に関与する 33-kd タンパク質は結晶化されにくいいため、X線回折による構造の解析が難しい。そこでわれわれは NMR 法によって高次構造の情報を得るために、<sup>15</sup>N 標識したタンパク質を合成することを考えた。このためには大腸菌でこのタンパク質を合成させることが必要であり、ここでは、発現ベクターを使ったこのタンパク質合成系の作製を中心に報告する。

アラスカエンドウの 33-kd タンパク質の cDNA を鋳型にして、成熟タンパク質部分のみをコードする配列 (S) と通過ペプチドの一部分も含む配列 (L) を PCR によって増幅した。これらの産物を T7 プロモーターを持った pET2c に組み込み、T7 RNA ポリメラーゼを産製する大腸菌に導入した。多量の 33-kd タンパク質の発現が SDS-PAGE およびウエスタンブローディングによって確認された。また、大腸菌で合成されたこれらのタンパク質の移動度は、葉緑体 33-kd タンパク質と同じことが示された。さらに、大腸菌で発現させた 33-kd-L はペリプラズムで、33-kd-S は細胞内で、いずれも不溶体となっていることが観察された。現在、このタンパク質の精製を試みている。

## 1aE13

ユーグレナの酸素発生系 30 kDa タンパク質前駆体の同定

黒田育生、稲垣純子、山本泰 (岡山大・理・生物)

高等植物の光合成酸素発生に関与する光化学系IIの膜表在性タンパク質 (33, 24, 18 kDa) は核 DNA にコードされ、細胞質で合成された前駆体は葉緑体膜、チラコイド膜を通過したのち、成熟型になることが知られている。最近、ユーグレナで同じく核支配タンパク質である LHC の前駆体が mRNA の翻訳産物より同定され、この前駆体は成熟型 (27 kDa) に比べて非常に分子量が大きい polyprotein (207, 161, 122, 110 kDa) であることが示された<sup>1)</sup>。そこで我々はユーグレナの酸素発生系の 30 kDa タンパク質について高分子前駆体の存在の可能性を検討した。まずユーグレナ細胞より poly(A)<sup>+</sup>mRNA を分離精製し *in vitro* で翻訳させた。続いて、ホウレンソウの 33 kDa タンパク質の抗体を用いた免疫沈殿とフルオログラフィーにより前駆体の検出を試みた。その結果、分子量約 45 kDa の前駆体を同定することができた。これは成熟型に比べてかなり高分子ではあるが LHC の前駆体のような超高分子前駆体ではない。また、ユーグレナの 30 kDa タンパク質の mRNA は暗条件生育細胞でも明条件生育細胞でもその量に大きな変化がないことが同様の *in vitro* 翻訳-免疫沈殿の手法で明らかになった。現在、細胞のパルスラベル実験により、30 kDa タンパク質の前駆体の同定と前駆体の成熟型への移行のプロセスの検討を行なっている。

1) Rikin, A. and Schwartzbach, S. D.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 5117-5121 (1988)

# 1aF01

イネ培養細胞における植物体再生に及ぼす培養諸要因の影響

塚原正義、廣澤孝保（株）ナーサリー・テクノロジー

演者らは、優良形質を持つイネのクローン苗の大量生産を目的とし、イネ懸濁培養細胞からの効率的植物体再生系の開発を行っている。先に固体培地上での再分化に及ぼす諸要因の影響について報告している(77回育種学会)が、今回はより効率的な植物体再生系として期待される液体培地での再分化系の確立を試みた。

イネ培養細胞の誘導及び継代維持は松野ら(76回育種学会)の方法を若干改変し行った。すなわち、イネ品種ササニシキ(*Oryza sativa* L. cv. sasanishiki)の完熟種子の胚盤部分より生じたカルスから懸濁培養細胞を誘導し、1週間毎に継代し維持した。継代時には細胞塊の肥大を抑制するためナイロン篩を用いて物理的に細胞塊を破碎し、1000 $\mu$ 径以下の細胞塊を移植した(1g cell clusters/100ml medium/500ml flask)。分化の誘導は200-1000 $\mu$ 径の細胞塊を用いた(20mg cell clusters/20ml medium/100ml flask)。再分化培地中の成分及び培養条件を改変し分化に及ぼす影響を調べ、以下のような知見を得た。

- ①再分化培地中の成分として分化に対する影響の大きかったものとして、auxin $\times$ cytokinin、sucrose、 $\text{NO}_3 \times \text{NH}_4$ 、浸透圧調節剤(sorbitol, mannitol)であった。継代維持に用いている培地のauxin(2,4-D)濃度を低下させることにより再分化が認められたが、auxinとしてNAA及びkinetinを添加することが有効であった。2%以上のsucroseは分化を阻害した。 $\text{NH}_4$ 塩は阻害的であり、高 $\text{NO}_3$ ・低 $\text{NH}_4$ が分化を促進した。sorbitolの添加は分化に有効であるが、異性体であるmannitolでは阻害的であった。
- ②培養条件としては培地量/フラスコ容量が重要であり、20ml/100ml flaskに比べ20ml/300ml flaskが有効であった。
- ③分化誘導後1~2週間で細胞塊の肥大、緑化が見られ、3~4週間で1mm程度の茎葉の出現、5~6週間で10mm程度の幼植物体が認められた。

以上のような検討結果から液体培地中においても固体培地での再分化率(ca.100 plantlets/20mg cell clusters)と同等の再分化系が得られた。

# 1aF02

低細胞密度下での植物培養細胞の増殖阻害

— コンディショニング効果の機構

坂野勝啓・松本万紀子・清田誠一郎・矢崎芳明

(農水省・生物研)

ニチニチソウ培養細胞の低細胞密度下における細胞分裂・増殖阻害の形態的特徴の一つは、増殖初期における細胞のバーストである。培地のリン酸濃度を高めることによって同様のことが高細胞密度下でも起きることが明らかになったので、細胞増殖に対する細胞密度・リン酸濃度の関係を調べた。ニチニチソウ培養細胞はMS培地25ml中で7日毎に3mlを植えつき、この時の初期細胞密度(約 $4 \times 10^{-5}$ /ml)を基準密度とした。実験で細胞密度を下げる時はその1/2, 1/4, 1/8とした。リン酸濃度はMS培地中の濃度1.25mMを標準とし、その2, 4, 8倍を高リン酸処理区とした。細胞の増殖は植えき後経時的に一定量の細胞懸濁液を採取し、プロトプラストとしてから血球計算板上で計数して増殖曲線を描き、これを基に判定した。リン酸を標準濃度として細胞密度を低下させると1/4, 1/8の細胞密度で著しい増殖阻害がみられた。初期細胞密度を基準密度としてリン酸濃度を増加させたときには濃度の増加にともなってlag期が長くなった。しかし細胞密度を下げたときの増殖阻害はそれに合わせてリン酸濃度を下げることによってほぼ完全に克服することができた。したがって、リン酸は"負の"コンディショニングファクターであると考えられるが、これが唯一のファクターであるかどうかは現在のところ不明である。

## 1aF03

### 培養細胞におけるシキミ酸経路 II.

#### —二次代謝との相関—

作田正明, 山田菜穂, 清水碩 (お茶の水大・理・生物)

植物において, シキミ酸経路はタンパク質合成のみならず二次代謝系への芳香族アミノ酸供給系として重要な意味を持つ. このことよりヨウシュヤマゴボウ培養細胞を用い, 培養期間におけるシキミ酸経路の代謝変動について二次代謝との相関という観点より検討を加えた. 継代後, 同経路の鍵酵素であるDAHPsynthase(3-deoxy-D-arabino-heputurosonate-7-phosphate)の各アイソザイム(DS-Mn, DS-Co)およびCM (chorismate mutase)の活性を経時的に測定した. その結果, DS-Coの生重量および細胞当りの活性は共に対数増殖期の4日目と初期定常期の8日目の両者にピークがみられるのに対し, DS-Mn活性は8日目のみにピークがみられた. またCMは定常期において活性の上昇がみられた. さらに, 細胞内の遊離芳香族アミノ酸量を測定したところ, Phe, Trpに比べTyr量は定常期においては極めて高いレベル( $4\mu\text{mol/g FW}$ )にあるが, 対数増殖期では著しく減少し( $0.14\mu\text{mol/g FW}$ ), Pheとほぼ同レベルであった. これらの結果より, ベタシアニンおよび他の二次代謝産物の生成とシキミ酸経路の代謝変動との相関について考察する.

## 1aF04

### 培養細胞系におけるシキミ酸経路 III.

#### —植物ホルモンの影響—

山田菜穂, 作田正明, 清水碩 (お茶の水大・理・生物)

ヨウシュヤマゴボウ培養細胞を用い, DAHP synthase, chorismate mutase活性におよびす植物ホルモンの影響について検討を加えた. 通常の培養条件(2,4-D  $5\mu\text{M}$ )から2,4-Dを除いた場合(-2,4-D)及び, 2,4-D存在下で $\text{GA}_3$ ( $10\mu\text{M}$ )を加えた場合(+ $\text{GA}_3$ )の各条件下で培養を行い, 各ステージ(1,4,8日後)におけるDS-Co, DS-Mn及びCM活性を測定した. -2,4-Dでは, DS-Coの活性は殆ど影響を受けなかったが, DS-Mn活性は, 4日目ではコントロールの約1.5倍であった. また, CM活性も4日目には1.3倍に増加した. + $\text{GA}_3$ では, 細胞の肥大により, 生重量当りの酵素活性は減少するが, タンパク質, 細胞数当りの活性に注目すると, DS-Co活性には各ステージとも, 顕著な影響はみられなかった. これに対し, DS-Mn活性は, 8日目に80%以下に減少した. CMは, 4, 8日目に活性が増加し, さらに各ステージにおいてTrpによる活性化率に大きな差異があったことより, 二つのアイソザイム(CMI, CMI I)のうち, 特にCMIが $\text{GA}_3$ により, 影響を受けることが推定された.

DS-Mnは2,4-D,  $\text{GA}_3$ により, CMIは $\text{GA}_3$ により, その活性が変動することより両酵素ともにplastidに存在するアイソザイムに対し, 植物ホルモンが影響を及ぼしている可能性が示唆された.

## 1aF05

ブドウ培養細胞におけるPAL、CHS mRNAの発現

掛川弘一、駒嶺 穆（東北大・理・生物）

高等植物における二次代謝の発現は一般に細胞増殖とは背反する現象であるといわれている。これまでに演者らは細胞増殖の停止とともにアントシアニンを蓄積するブドウ培養細胞系を用いて研究を行い、細胞増殖の停止にともなう細胞内フェニルアラニンプールの増大がトリガーとなってPAL、CHSといったアントシアニン合成系の酵素活性の上昇を誘導し、アントシアニン合成を引き起こすという仮説を提示した。今回、我々はブドウ培養細胞系のアントシアニン蓄積に先立つPAL、CHS活性の上昇がどのような段階で調節を受けているのかを明らかにするためにPAL、及びCHS mRNAに対するcDNAをプローブとしたノザンハイブリダイゼーションを行い、それぞれのmRNAの蓄積量を経時的に調べた。その結果、通常の継代培養時、リン酸飢餓処理時に見られるアントシアニン合成に関連した酵素活性の上昇はmRNAの蓄積量の増加をともなっていることが明らかになった。さらに、継代後4日目に培地中にフェニルアラニンを添加し、アントシアニン蓄積を誘導した場合についてもPAL、CHSの活性上昇はmRNAのレベルで調節を受けていることが示された。これらの結果から、ブドウ培養細胞系におけるアントシアニン蓄積は細胞内フェニルアラニンプールの増大によって誘導されるPAL、CHS mRNAの蓄積とそれに続く酵素活性の上昇によって引き起こされるということが示唆された。

## 1aF06

ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化に特異的なベルオキシダーゼアイソザイムの解析

佐藤 康・杉山宗隆・駒嶺 穆（東北大・理・生物）

管状要素分化のマーカーであるリグニンの合成過程の最終段階のヒドロキシシンナミルアルコール類の重合を触媒すると考えられるベルオキシダーゼアイソザイムの特定を試みた。研究にはヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化実験系を用い、まず管状要素分化特異的ベルオキシダーゼアイソザイムの特定を行い、そのアイソザイムの諸性質を解析しリグニン合成への関与の可能性を探った。

細胞壁から3M NaClで抽出されるイオン結合性ベルオキシダーゼ画分において分化に伴った顕著な活性上昇が認められた。そのアイソザイムパターンをCathodic native PAGEにより解析した。経時変化及びホルモン条件を変えた実験から、対照培地で培養した場合に検出されるP1～P3の3種のアイソザイムに加え、分化誘導培地ではさらにP4、P5の2種のアイソザイムがリグニン沈着の起きる時期に検出された。またPercollを用いた段階的な遠心分離により未分化細胞を排除し管状要素を集めアイソザイムパターンの解析を行った結果、P1、P2、P5が管状要素に存在することが示された。これらの結果からP5が分化特異的アイソザイムとして特定された。さらにP1～P5の諸性質を活性染色により調べた結果、コニフェリルアルコールに対する反応性はP1、P3が高くP5は低いことが示された。これらの結果から、ベルオキシダーゼアイソザイムP1、P5がリグニン合成に関与する可能性について考察する。

# 1aF07

## 温度処理によるイネ培養細胞の同調化

野村港二、高橋清子、井上正保、増田清  
(秋田県立農業短期大学・生物工学部)

培養細胞を用いた同調培養系は細胞周期や分裂機構の解析、染色体レベルでの研究などに不可欠であるが、それらの研究に用いる同調培養系は、操作がシンプルな事、培養のスケールアップが容易な事、同様に培養している複数の cell line間で再現性がある事などの点を満たしていなければならない。そこで、イネ培養細胞を用いてそのような同調培養系の確立を試みた。

イネ (*Oryza sativa* L. cv. Blue Bonnet) の懸濁培養細胞は 0.2% casein hydrolysate、1mg/l 2, 4-D を含む RMS 培地で、25°C で  $3\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$  の連続照射下、90rpm の巡回培養器を用いて培養し、8日毎に 100ml の三角フラスコに 30ml の培地で継代維持しているものを用いた。同調培養を行なう一代前の継代時に 300ml のフラスコで培地量を 90ml として培養した。継代後 8日目の細胞をステンレス篩で段階的に濾過することで細胞塊のサイズを揃えた後、packed cell volume で 1.5ml の細胞を 90ml の培地に懸濁した。細胞は始め 37°C という高温条件下で振盪培養した後、25°C で培養を続けた。細胞塊のサイズと高温処理の時間について検討したところ、177 から 250 $\mu\text{m}$  の細胞塊を用い 24 時間の高温処理を行なうことで二段階の同調分裂が見られることが明かとなった。

# 1aF08

## イネ属懸濁培養細胞系における不定胚形成に伴うポリペプチドパターンの変動

・小沢憲二郎・Ling, Ding-hou<sup>1</sup>・駒嶺穆 (東北大・理学部・生物、<sup>1</sup>中国科学院華南植物研究所)

イネ科植物の培養細胞を用い胚形成のメカニズムを研究するには、不定胚を高頻度で大量にまた同調的に誘導する必要がある。その為には小さい細胞塊から不定胚を誘導させることが重要であるが細胞塊が細かく、かつ高い不定胚形成能を有する培養系を確立することはイネ科植物では困難であった。我々は約 200 $\mu\text{m}$  以上の細胞塊から液体中で不定胚を誘導できるイネ培養細胞系を確立しているが、今回はより高頻度にまた、より多量に不定胚を得るために 200 $\mu\text{m}$  以下の小さい細胞塊から不定胚を誘導した。

高い分化能を持つことが判っているイネ科植物の種間雑種 (*Oryza sativa* × *Oryza latifolia*) の培養細胞を用い、細胞塊が細くなる条件を検討した。ついでこの条件で培養した時の分化能を調べた。通常の N6 培地に対して  $\text{KNO}_3$  を 1/3 (943mg/l)、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  を 2 倍 (926mg/l) 含む N6 培地に、2, 4-D (1mg/l)、カゼイン加水分解物 (300mg/l)、プロリン (1150mg/l)、sucrose (30g/l) を加えた培地で培養すると、10% 以上の細胞塊が 200 $\mu\text{m}$  以下になった。この 200 $\mu\text{m}$  以下の細胞塊を集め NAA (0.01mg/l)、4-PU (0.5mg/l)、sucrose (30g/l) を含む N6 培地に移し、不定胚分化を誘導したところ約 60% の分化率を示した。このようにイネ種間雑種の小さい培養細胞塊から高頻度で多量に不定胚を誘導することに成功した。

この系及び演者がすでに報告しているイネ *Konansou* の培養細胞の不定胚分化時のポリペプチドの発現の変化について二次元電気泳動を用いて調べた。その結果、分化に伴い発現してくる 49kD のポリペプチドがあることがわかった。このポリペプチドは 2 つの培養系で共に分化誘導後 7 日目に検出され、分化が誘導されない培養条件では検出されなかった。またこれは *Konansou* の未熟胚でも検出された。このことからこのポリペプチドはイネ属植物の不定胚分化の分子マーカーである可能性が示唆された。

# 1aF09

## ニンジン不定胚形成にともなう核蛋白の変動

増田 清・野村港二・清水真由美・井上正保

(秋田県立農業短大・生物工学研)

ニンジン(*Daucus carota* L.)の不定胚形成過程で核蛋白の分子種組成が変動することが示唆されているが、その詳細な解析は未だなされていない。その一つの理由として胚分化を同調化することによって材料に量的な制約をうけるため、純度の高いクロマチンあるいは核の単離が困難であったことがあげられる。私達は、これまでに多くの動植物で行われている核単離法を、少量(細胞容積 0.5-1.0 ml)のニンジン不定胚に適用できるように改良し、得られた核の蛋白組成について電気泳動法によって解析したので報告する。ニンジンの細胞培養と胚分化の同調化は通常の方法によった。核は、細胞壁分解酵素による処理、均質化と濾過、Triton X-100を含む緩衝液による洗浄、分画遠心、Percoll 密度勾配遠心などの手法により精製した。核の回収率は約 60%であった。核蛋白は、塩基性のものについては希硫酸抽出後、一次元を酢酸-尿素-Triton X-100、二次元めを SDSを含む PAGEで展開し、酸-中性のものは IEF(pH 4.0-7.0)-SDS 二次元電気泳動によって分離し、比較検討した。その結果、不定胚から得られた核蛋白の泳動像は、2,4-D 存在下で胚分化を抑制して培養した細胞塊からのものと酷似していたが、いくつかの微量成分に量的な差異が認められた。

# 1aF10

## 体細胞雑種のミトコンドリア DNA

本田秀夫, O 平井篤志(名古屋大・農・生化学制御)

ミトコンドリアの遺伝情報は通常母性遺伝を行い、母親の DNA がそのまま子に伝わる。そこで細胞融合により人工的に 2 種のミトコンドリア DNA が存在する細胞を作り、その細胞がカルス、植物体に生育する過程でミトコンドリア DNA がどのような変化をするかを追跡することを試みた。

材料にはタバコ属植物である *Nicotiana glauca* と *N. langsdorffii* を用い、細胞融合を行い、その雑種カルスと雑種植物を得た。微量の組織で解析するために、全 DNA を抽出し、ミトコンドリア遺伝子をプローブにして、サザン法によりミトコンドリア DNA を解析した。

その結果植物体では親の DNA をそのまま保持するのが多かったが、カルスでは 2 種 DNA 間で組替えを起こした DNA を持つものが多かった。

atpA をプローブにその付近のミトコンドリア DNA を調べると、*N. glauca* では 1 遺伝子だが、*N. langsdorffii* では atpA 上での組替えによる 4 種類の断片が得られた。そこで雑種カルスを調べると *N. glauca* 由来の断片と *N. langsdorffii* 由来の断片が atpA 上で組替えを起こしていることが明らかになった。これは細胞融合により、異種ミトコンドリアが融合すること、正常な植物でミトコンドリア DNA が組替えを起こす場所で、雑種 DNA も同じように組替えを起こすことを示している。

# 1aF11

## 花粉プロトプラストの培養と発芽

西原昌宏, 伊藤道夫<sup>1</sup> (名古屋大・理・生物、<sup>1</sup>静岡大・理・生物)

テッポウユリ花粉プロトプラストは培養すると細胞壁を再生し、花粉としての機能(花粉管伸長, 生殖細胞分裂)を発現することがわかっている。本研究では分離した花粉プロトプラストを培養し、*in vitro*での正常な発芽を高率に誘導する条件について詳細に検討した。培地の浸透圧, ほう酸,  $Ca^{2+}$ などの濃度を変化させ、細胞壁再生, 成長の様相を観察し、発芽に対する影響を調査した。また、いくつかの被子植物種の花粉から分離したプロトプラストの培養法を検討し、発芽を誘導することを試みた。その結果、花粉プロトプラストの培養, 発芽には、浸透圧条件が重要な要素であることがわかった。浸透圧が適当でない培地では、液胞を発達し、異常成長を示すプロトプラストが多くみられた。テッポウユリでは、わずかな浸透圧変化(0.5M→0.45M, 0.55M→0.5M)に対応して花粉管を伸長させた。また、再生花粉の発芽は、正常花粉の発芽と同様、ほう酸,  $Ca^{2+}$ 濃度に影響され、適当な濃度で発芽および花粉管伸長に促進作用がみられた。テッポウユリ以外の花粉プロトプラストの培養では、適当な浸透圧の発芽培地で花粉管を伸長する種と液胞を発達させ異常成長を起こす種の両者が観察された。いくつかの種では、生殖細胞の分裂が高率で起こり、2つの精細胞の形成がみられた。

# 1aF12

## ヤグルマギク培養細胞に含まれる非抱合型 プテリジンについて

武田 幸作・平野 明子(東京学芸大学・生物)  
末岡 照美・加藤 節子(明海大・生化学)

プテリン化合物は、動物では昆虫などの体色発現に関与しているほか、芳香族アミノ酸のモノオキシナーゼ反応にかかわる補酵素として作用するなど重要な役割を持っていることが知られており、多くの研究がなされてきている。一方、植物のプテリン化合物に関する研究は少なく、その存在、分布、役割などについての知見は非常に少ない。しかしながら、最近この物質についての植物での研究の必要性も指摘されている。

本研究では、ヤグルマギク培養細胞を用い、プテリン誘導體(非抱合型プテリジン)の定性および定量分析を試みた。暗所で培養した懸濁培養細胞から塩酸酸性条件下で抽出し、フロリジルまたはDowex AG-50W(H<sup>+</sup>)カラムを用いて試料を調製した後、ODSカラム(5 μm, 4.6×250 mm)および溶媒として3.5 mM リン酸カリウム緩衝液(pH 7.45)を用いて、HPLCにより分析した。その結果、6-Carboxypterin(Rt min 9.2), Xanthopterin(9.6), Neopterin(10.9), Monapterin(14.8), Isoxanthopterin(17.2), Pterin(26.6), 6-Hydroxymethylpterin(32.4), 6-Methylpterin(80.1)の8種類のプテリン誘導體が検出同定された。定量分析の結果では、PterinとIsoxanthopterinが多く含まれており、それぞれ47.6および37.6 ng/g fr.wt.であった。また、その他の6種類の含量はいずれも0.3~2.2 ng/g fr.wt.の範囲であった。

## 1aF13

苔類ミドリホラゴケモドキ培養細胞のエリシター処理による  
セスキテルペン生成促進

○中河原俊治、中村規尚、太田喜元 (PCCテクノロジー 山崎研)

苔類植物ミドリホラゴケモドキ *Calypogeia granulata* の懸濁培養細胞は、その植物体と同等にセスキテルペン、1,4-Dimethylazulene (DMA) を主とする二次代謝化合物を産生する。

演者らはその培地にエリシターとして五酸化バナジウムなどを添加すると細胞内の DMA 濃度が増加することを見出した。そこでこのようなエリシターがどのように作用し二次代謝化合物の生合成能を高めるのかということを理解するために、この培養細胞を用いて細胞内の還元状態維持系のエリシター処理に対する応答を測定した。

連続照明下、ロータリーシェーカーで前培養した *C. granulata* 細胞に終濃度 0.2 mM  $V_2O_5$ 、又は 20 mg% 酵母グルカン画分を添加し、経時的に細胞内 DMA 濃度及び酵素活性の測定を行なった。活性を測定した還元状態維持系酵素群は、Glucose 6-phosphate dehydrogenase, 6-Phosphogluconate dehydrogenase (NADPH 生成系), Catalase, Ascorbate peroxidase, Ascorbate free radical reductase, Dehydroascorbate reductase, Glutathione reductase 等である。その結果、エリシター処理によって 48 時間以内に Ascorbate-Glutathione 還元系の活性が高まることが明らかになった。また、Glucose を補給しながら培養すると、エリシター処理細胞の DMA 濃度は約 2.3 倍の水準に達した。これらのことから用いたエリシターの作用機作について考察を加えた。

## 1aF14

ブロムガラス培養細胞等の急速予備凍結及び緩速予備凍結法による超低温保存

石川雅也, P. Tandon<sup>1</sup>, A. Yamagishi<sup>2</sup>, 宮崎尚時 (農水省・生物研, <sup>1</sup>NE-Hill Univ・India, <sup>2</sup>CENARGEN・Brazil)

植物細胞培養系の維持には、長期継代による特性の喪失、植継ぎの労力等の問題がある。一つの解決法として液体窒素温度における超低温保存があるが、保存による変異や選抜を避けるため高い生存率が望まれる。ここでは non-embryogenic なブロムガラス懸濁培養細胞を用いて下記の 2 法により高い生存率を得たので報告する。

① 緩速予備凍結法: 次の条件が比較的高い生存率 (約 80%) を示した。凍結防御剤は蔗糖:DMSO:Glycerol (=10:10:5 何れも w/v%) の混液を用い、最終濃度の液に直接細胞をいれ、25°C にて約 30 分おいた後、プログラムフリーザーを用いて冷却した (植氷温度: -8°C, 冷却速度: 0.3°C/min)。-30°C にて 20 分おいた後液体窒素に直接入れた。40°C のお湯で融解した後、3% 蔗糖で室温で約 15 分かけて徐々に希釈し、固形培地に植継いだ。この条件はメロン不定胚や苗条原基でも有効であった (育種学会 '91 発表予定)。

② 急速予備凍結法: yeast や fungi でよく使われる方法 (英国 CMI 等、保護剤 glycerol 10%、フリーザー温度 -35°C) から改変した。保護剤は蔗糖:Glycerol (=5:30; w/v%) を用い、細胞を直接入れ 5~10 分置き、植氷をせず、-30°C のフリーザーに直接入れ、60 分放置後、液体窒素に浸漬した。融解は 40°C のお湯にて行い、1M 蔗糖にて希釈後、固形培地に置床した。この条件で 70~80% の生存を得た。この方法は植氷 (-10°C) を行うと生存率が極端に低下するため①の方法とは原理が異なると推測される。

# 1aG01

## GENETICALLY REGULATED EXPRESSION OF GLUCOMANNAN IN RICE ENDOSPERM CELL WALL

R. Zamorski, M. Yano\* and N. Shibuya

Natl. Inst. Agrobiol. Res., Tsukuba, and \*Hokuriku Natl. Agric. Exp. Stn., Niigata, Japan

Our studies on composition of rice endosperm cell wall preparations obtained from various varieties exhibited the phenomena of extremely different occurrence of mannose. This hexose comprised up to 12% of neutral sugars of cell wall preparations or its content was negligible. Leaves, calli and outer tissues of the grains of mannose-positive varieties did not contain substantial amounts of mannose. Moreover, we observed that older japonica varieties of Hokkaido origin, along with some indica varieties, are more likely to reveal high mannose content in the endosperm. The expression of the mannose-containing polysaccharide, a  $\beta$ -1,4 linked glucomannan, is being controlled genetically, as resulting from a comparison performed among more than 30 varieties that are genetically closely related. With the aim to elucidate the mechanism of glucomannan expression in rice plant we have decided to investigate a cross between Kasalath and Nihonbare (indica, mannose-positive, and japonica, mannose-negative varieties, respectively). For routine mass analysis of whole grains as well as flour made from 80% milled rice simple methods of cell wall preparation have been developed. The analysis of 50 preparations of the F<sub>2</sub> grains revealed approximately equal negative, weak, medium and strong expression of a gene in the endosperm. The ratios Xyl/Man in preparations containing mannose, when grouped accordingly, were in ratio 2.9 : 1.5 : 1, respectively, confirming additionally a classical way of expression. A population of backcross of F<sub>1</sub> plants with Nihonbare have been studied as well. Plants with no glucomannan, along with the ones where it occurred in the grains were found. Because of genetic background, the mean mannose content in the latter preparations was about half the one normally observed in well established varieties. All the results obtained until now show that it is very probable that glucomannan expression in rice endosperm cell wall is being governed by a single, dominant gene.

# 1aG02

## アラビノガラクトサン-プロテインの組織内局在性

菊地純夫、大日向 光、○ 円谷陽一、橋本洋一、

金子康子<sup>1</sup>、松島 久<sup>1</sup> (埼玉大・生化、<sup>1</sup>生体制御)

植物組織に普遍的に存在する糖-蛋白質複合体であるアラビノガラクトサン-プロテイン (AGP) は隣接細胞間の認識、相互作用などで重要な役割を果たしていると考えられる。AGPの構造上の特性の一つは連続した $\beta$ -(1→6)-ガラクトシル鎖である<sup>1)</sup>。本糖鎖構造を特異的に認識する抗体を用いてAGPの組織内局在性を調べた。

$\beta$ -(1→6)-ガラクトテトラオースを牛血清アルブミンに結合した糖蛋白質を合成し、兔を免疫して抗血清を得た。抗血清はダイコン各器官から単離したAGPと反応するが他の植物多糖とは反応しない。ELISAによるハプテン阻止試験で抗AGP抗体はAGPの側鎖の3残基以上の $\beta$ -(1→6)-ガラクトシル部位を認識していることが確認された。本抗体を用いてダイコン一次根組織を免疫染色した。イムノゴールド染色組織の電子顕微鏡による解析で、AGPは細胞間隙(マトリックス)及び原形質膜に局在することが判った。ダイコン子葉から調製したプロトプラストは本抗体によって凝集を起こし、AGPが原形質膜に存在することが確認された。

1) Tsumuraya et al. *J. Biol. Chem.*, 265 (1990) 7207

## 1aG03

多核緑藻 *Boodlea coacta* におけるマイクロフィブリル配向パターンと微小管骨格

水田 俊, 奥田一雄 (高知大, 理. 生物)

一般に植物における cortical microtubule (MT) はセルロースマイクロフィブリル (MF) と平行に配向することによりその配向角度を制御すると考えられている。しかし、*Boodlea* や *Chaetomorpha* などの海産多核性緑藻では、MF は規則的に縦横配向変換を繰り返すにもかかわらず MT は常に一定方向 (葉状体の長軸方向) に配向し、MF の配向制御はこれらの植物においてはあきらかでない。今回、発生中の *Boodlea* プロトプラストにおける MT cytoskeleton の動態と細胞壁 MF 配向パターンの形成との関連性を調べた。*Boodlea* プロトプラストはその母細胞を傷つけることにより 23°C 1h で形成される。母細胞に存在した長い MT はよれた状態でこの中に封じこめられるが、すぐに消失し代わりに短い random な方向に配向する多数の短い MT が出現する。これらは数の増加とともに伸長し、その密度は 2h で最高に達する。ところが、3-4h 後にはその密度は低下し、6-12h にかけてまた回復する。この間、MT 配向は random から球形細胞の経線方向に向けて徐々に変化し、12h で完全な経線配向となる。細胞壁は 2h 後から形成開始し、このときの MF 配向は random である。ところが、4-12h における MT の低密度時、及び完全な経線配向に至るまでの時期では、MF は helicoid 配向を示す。しかし、MT の経線配向が完成された 12h 以後では、MF は葉状体で見られるような直交配向変換を呈するようになる。これらの結果をもとに MT cytoskeleton の動態が MF 配向パターンに影響を与えている可能性を考察する。

## 1aG04

多核緑藻 *Boergesenia forbesii* の遊離原形質膜上におけるセルロースマイクロフィブリルの形成

水田 俊, 奥田一雄, 原田朋子 (高知大, 理. 生物)

植物細胞から巨大な原形質膜シートを遊離することは、植物の膜自体及びそれが介する諸機能の研究に好都合である。本研究は巨大多核性緑藻 *Boergesenia forbesii* から巨大原形質膜シートを無傷のまま遊離し、そこに埋没するセルロース合成酵素複合体によるセルロースの形成を試みた。*Boergesenia* の葉状体は厚い細胞壁に接する薄い原形質層とその内側の大部分を占める液胞よりなる。原形質分離して得た原形質層の原形質膜は多数の長軸方向に配向する微小管で裏打ちされており、Ca<sup>2+</sup>イオンを含む海水等培養液中では微小管が切断されるため膜は破壊されその結果多数のプロトプラストが形成されるが、Ca<sup>2+</sup>イオン欠如液中では膜は破壊されないで、安定した巨大原形質層を得ることが出来る。葉状体先端部の原形質膜には多くのセルロース合成酵素複合体が含まれているので、この部分の原形質層の原形質膜側をホルムバルでコートした電顕グリッドに張り付け、原形質を静かに除去後培養し、これを Pt-carbon で蒸着後観察すると、セルロース合成酵素複合体及びそれにより形成されたと考えられるセルロースマイクロフィブリル様構造が見られた。マイクロフィブリルは培養 1 時間において観察され、それ以降では数の増加がみられないことから、原形質膜にすでに埋没していたセルロース合成酵素複合体により形成されたものと考えられた。現在、複合体の寿命やセルロース合成に対する諸条件などについて検討中である。

## 1aG05

タバコ培養細胞BY-2の形態形成に対するジベレリン  
合成阻害剤アンシミドールの影響

岩田和佳・小久保亮<sup>1</sup>・桜井直樹<sup>1</sup>・倉石晋<sup>1</sup>・宝月岱造<sup>2</sup>

(東京大・教養、<sup>1</sup>広島大・総科、<sup>2</sup>東京大・農)

ジベレリン合成阻害剤アンシミドールは、一般に植物器官の伸長生長を抑制すると共に、横方向への肥大をもたらすが、作用機作については不明な点が多い。本研究では、その解析のために、異質な細胞の集まりの植物器官より解析が容易とおもわれる、均質な細胞集団タバコ培養細胞BY-2を用いることを試みた。

BY-2は、通常の濃度の百分の一のオーキシンで培養すると一方向に伸長した。その時の表層微小管とセルロース微繊維の方向を調べると、伸長軸に垂直だった。この培地に10ppmのアンシミドールを加えると、横方向に肥大した。しかし、表層微小管とセルロース微繊維の方向は対照と変わりなく、これらの方向では、横方向への肥大は説明できない。

そこで、細胞壁の組成を検討したところ、アンシミドールを加えたものでは対照に比べセルロース量が有為に少ないことがわかった。また、セルロース合成阻害剤DBNを加えたところ、アンシミドールと同様に横方向へ肥大した。以上のことからアンシミドールは、BY-2においては、セルロース量の抑制を通じて形態変化をもたらしていると考えられる。

## 1aG06

茎切片のオーキシンによる生長誘導時の表皮及び内部組織細胞壁  
の変化

若林和幸(香川大・教育)・桜井直樹、倉石晋(広島大・総科)

オーキシンによる高等植物の茎切片の生長には、表皮組織が重要な役割を持つことが報告されており、特に、表皮組織細胞壁の力学的性質の変化が生長を制御していると考えられている。しかし、オーキシンによる表皮と内部組織のそれぞれの細胞壁の構造の変化については、ほとんど調べられていない。本研究では、黄化カボチャ芽生え下胚軸からの切片をIAAで処理した後、切片を表皮と内部組織に分け両組織の細胞壁の組成変化を調べた。また、<sup>14</sup>C-グルコース(<sup>14</sup>C-Glc)を用い両組織での細胞壁合成に対するIAAの影響についても検討した。

暗所、26℃で36時間水耕したカボチャ芽生え下胚軸の伸長部位から1cmの切片を取り、10<sup>-5</sup>M IAA中で処理した後、表皮と内部組織に分け、両組織の細胞壁をペクチン、ヘミセルロースA・B(HA, HB)、セルロースの画分に分けた。それぞれの画分の糖組成とHB画分については、HPLCを用いたゲルろ過の後、ヨード法によりキシログルカンの分子量分布を調べた。また、<sup>14</sup>C-Glcを用いた取り込み実験も同様に切片をIAA中で処理した後、表皮と内部組織に分け分析を行なった。

6時間のIAA処理で細胞壁の糖量では、表皮のHB画分の中性糖量が若干増加していた他は、IAAの影響は見られなかった。一方、HB画分のキシログルカンの分子量分布では表皮のキシログルカンの平均分子量が約480kDaであったのに対し、内部組織では約210kDaであった。6時間のIAA処理により表皮のキシログルカンの分子量の低下が促進されていた(約22%)が、内部組織では、分子量の低下が抑えられていた。次に、<sup>14</sup>C-Glcの取り込みでは3時間のIAA処理により、表皮のHBとセルロースの画分への取り込み量が有意に増加していたが、表皮の他の画分・内部組織ではほとんど影響は見られなかった。また、切片への放射能の取り込み量にはIAAの影響が見られなかったことから、IAAは茎切片中では、表皮のヘミセルロースとセルロースの合成を特異的に促進しているものと考えられた。

# 1aG07

矮性エンドウのジベレリンによる成長回復と細胞壁多糖類への影響

福原世津子・桜井直樹・倉田信一・倉石晋

J. B. Reid<sup>1</sup> (広島大・総科、<sup>1</sup>タスマニア大)

エンドウにはGAで成長の回復するGA感受性矮性系統と、回復しないGA非感受性矮性系統が知られている。GAによる成長促進機構については不明の部分が多いため、上記の矮性系統を用い、GAによる成長の回復と細胞壁多糖類に及ぼす効果を調べた。

GA感受性矮性3系統はGA処理で節間が正常系統と同程度以上に回復したが、非感受性3系統は20~65%の回復にとどまった。しかし非感受性系統の生重量はGA処理で35~105%の回復を示し、GAに反応し茎が太くなることがわかった。ペクチン、ヘミセルロースA、ヘミセルロースB(HB)、セルロース画分の細胞壁糖量は感受性・非感受性ともGA処理で大幅に増加することがわかった。特にHB画分のキシロース量が増加した。しかし、GAによる生重量の増加と有意な相関があったHB画分の構成単糖はフコース、ガラクトース、グルコースであった。

以上の結果より、従来GA非感受性と言われてきたエンドウ矮性系統もGA投与により生重量の回復および細胞壁多糖類量の増加が見られることがわかった。生重量と相関のあったHB画分の成分はキシログルカンの構成成分であることから、GAによる細胞の体積増加にキシログルカンの合成が関与している可能性が高い。またGA感受性・非感受性系統のGAに対する反応性の違いは、セルロース微小繊維が、感受性系統では成長軸に対して直角に、非感受性系統ではランダムに配向していることが原因と思われる。

# 1aG08

細胞壁キシログルカン構造の制御機構 2 酵素反応機構の解析

富永るみ、桐野美津代、西谷和彦 (鹿児島大・教養・生物)

キシログルカンは、細胞壁マトリックスの主成分であり細胞壁の伸展性の調節機構において重要な役割を担っている。アズキ、アベナ、エンドウ、マツなどでは、細胞の伸長生長の際に細胞壁キシログルカンの分子量が変化する。細胞壁中でこの分子量変化は、細胞壁マトリックスの再構築の過程を反映したものであると考えられる。この再構築の機構を明らかにすることを目的として、我々は、アズキ上胚軸細胞壁のアポブラスト中に存在しキシログルカンの分子量変化を引き起こす酵素の単離及び反応機構の解析を行ってきた。

アズキ上胚軸切片から低速遠心分離法により調製したアポブラスト液中にはキシログルカン(400 kDa)及びキシログルカン断片(数kDa)を高分子化させる酵素活性が存在した。この酵素活性はHPLCで単一ピークとして得られた。その至適pHは5.4で、高いpH依存性を示した。また、上胚軸の伸長停止領域に比べ、伸長領域に高い高分子化活性が見られた。

以上の結果から、伸長生長に伴う細胞壁の再構築にはアポブラスト中のキシログルカン:キシログルカン転移酵素が関与していると考えられる。



## 1aG11

茎切片のオーキシン誘導成長に及ぼすキシログルカン9糖の影響

保尊隆享、増田芳雄（大阪市大・理・生物）

キシログルカン9糖（XG9、 $\text{Fuc}_1\text{Gal}_1\text{Xyl}_3\text{Glc}_4$ ）は、茎切片のオーキシン誘導成長を阻害する作用を示し、機能性オリゴ糖（いわゆる、オリゴサッカリン）の1種であると考えられている。XG9による成長阻害は、 $1\mu\text{M}$ の2, 4-Dによって誘導されたエンドウ第3節間切片の長時間の成長においてのみ報告されている。そこで、実験条件を変えて成長に及ぼすXG9の影響を調べたところ、 $10\mu\text{M}$ の2, 4-D存在下ではエンドウ切片の短時間の成長も阻害されることがわかった。ただし、この阻害作用は必ずしもコンスタントには検出できなかった。また、XG9は、エンドウ節間、アズキ上胚軸、キュウリ下胚軸、オートムギ幼葉鞘切片のIAA誘導成長には全く阻害作用を示さなかった。スクロースやベニシリンの有無は結果に影響しなかった。XG9と同様の作用を持つといわれるフコシルラクトースもエンドウ及びアズキ切片のIAA誘導成長を阻害しなかった。

XG9によるエンドウ茎切片の成長阻害様式を二重逆数プロットにより解析したところ、阻害は反拮抗的であった。また、XG9は2, 4-Dによる細胞壁のゆるみ（最小緩和時間の減少）には影響しなかった。以上のように、XG9によるオーキシン誘導成長の阻害は必ずしも普遍的ではなく、また、阻害が起こる場合も、いわゆる“アンチオーキシン”として働いているのではないことが明らかとなった。

## 1aG12

トウモロコシ幼葉鞘切片のオーキシン誘導成長における表皮の役割 —  $\beta$ -グルカン分解との関係

保尊隆享、D. J. Nevins<sup>1</sup>（大阪市大・理・生物、<sup>1</sup>Univ. California）

オーキシンは、一般に、表皮細胞壁の伸展性を増加させて、植物の伸長成長を促進すると考えられている。一方、オーキシンは、イネ科植物の幼葉鞘では、細胞壁中の(1→3), (1→4)- $\beta$ -D-グルカンの分解を促し、これが細胞壁のゆるみと密接に関係するという証拠が得られている。しかし、両者の関係、すなわち、表皮細胞壁における $\beta$ -グルカンの分解がオーキシン誘導の直接的な原因となっているかは定かでない。この点を明らかにするため、同グルカンを特異的に認識する抗体を様々な方法でトウモロコシ幼葉鞘切片に与え、伸長成長に対する影響を調べた。

$\beta$ -グルカン認識抗体は外表皮をアブレードした幼葉鞘切片のオーキシン誘導伸長を阻害した。しかし、内表皮をアブレードした切片や全くアブレードしなかったものの伸長には影響しなかった。この抗体より調製したFab断片も同様の作用を示した。幼葉鞘切片を縦にスプリットすると外向きの屈曲が起こり、オーキシンはその屈曲を阻害した。 $\beta$ -グルカン認識抗体はこのオーキシンの作用を部分的に打ち消した。また、間接蛍光抗体法により、抗体が主として表皮細胞壁に取り込まれていることがわかった。以上の結果より、トウモロコシ幼葉鞘では、外表皮における $\beta$ -D-グルカンの分解がオーキシン誘導成長の原因となっていることが支持された。

Kah-Siew Tan、神阪盛一郎、保尊隆享、増田芳雄（大阪  
市立大・理・生物）

細胞壁中のアラビノキシランのアラビノース側鎖にエステル結合しているフェルラ酸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になり、そのためにアラビノキシラン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、いわゆるジフェルラ酸仮説が提出されている (Fry 1979)。この仮説の妥当性を水中、気中、および水中で通気しながら育てたイネ (*Oryza sativa* L. cv. Sasanishiki) 幼葉鞘を用いて検討した。

イネ幼葉鞘の伸長成長は水中で速く、気中では遅かった。また、水中で通気培養するとその成長は著しく抑制された。細胞壁の伸展性は気中型、通気型幼葉鞘では先端から基部に向かって低下し、また加齢とともに低下した。一方、水中型では細胞壁の伸展性は先端部と基部で大きく、中ほどでは小さく、またその値は加齢しても5日間の培養期間中はほとんど変化しなかった。細胞壁の伸展性は幼葉鞘単位長さあたりのフェルラ酸およびジフェルラ酸量と相関していたが、セルロース量およびヘミセルロース量とは相関していなかった。また、アラビノースあたりのフェルラ酸量は細胞壁の伸展性と相関していた。これらの実験結果は、水中型イネ幼葉鞘の速い成長は、水中でのジフェルラ酸の合成抑制によっていることを示唆している。



一般講演

第1日 3月28日(木) 午後の部

C会場 形質転換・貯蔵タンパク

D会場 酸化還元・結合タンパク

E会場 遺伝子・分化

F会場 細胞骨格・形態形成

G会場 電気生理・イオン輸送

## 1pC01

細胞電気回転法による植物プロトプラストへのDNA電気導入過程の研究

柴谷滋郎、角谷忠昭、千田 貢 (京大・農・農化)

細胞電気回転法は細胞1個のレベルで細胞の電気的性質を研究し得る手法である。本研究では電気穿孔法による植物プロトプラストへのDNA導入過程を細胞電気回転法によって定量的に解析することを目的とした。

大麦(*H. vulgare* L., cv. Goseshikoku)葉肉細胞プロトプラスト1個を牛胸腺DNA(100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )を含むメEDIUM中に入れ、高電圧パルス(強度 $0\sim 2.7\text{kVcm}^{-1}$ 、幅 $50\sim 200\mu\text{s}$ )印加後の回転速度の時間変化を調べた。

パルス印加およびDNA存在という2つの条件が満たされた場合にのみ、パルス印加直後に回転速度が一過的に上昇する回転速度上昇現象が見られた。本現象はパルス電場強度の閾値を示し、回転速度のピーク値は電場強度と共に増加し、一定電場強度でパルス幅を長くするとピーク値は高くなった。回転速度上昇時の種々の周波数における回転速度の時間変化から、各周波数における回転速度はほぼ同じ割合で上昇し、回転スペクトルの形状は変化しないことがわかった。そこでDNAの電気導入に伴って起こると考えられる種々の要因が回転速度および回転スペクトルの形状に及ぼす影響を検討した。電気穿孔の際に起こると考えられる膜コンダクタンスおよび膜容量の増大、細胞内イオンの放出による細胞表面近傍のコンダクタンスの上昇を考慮すると、パルス印加後には回転速度の低下および回転スペクトルの高周波側へのシフトが見られるはずである。このことからDNAの細胞内への取込みに伴う細胞表面近傍の局所的な粘性の低下が回転速度上昇の主たる原因であると考えられる。

## 1pC02

酵母*Saccharomyces exiguus*における染色体編成の解析と  
宿主-ベクター系の開発

久富泰資, 井上広一, 新井正洋, 井上栄一, 壺井基夫(福山大・生物工学)

我々は、大多数の種がホモトリックな生活環を示す野生の*Saccharomyces*属酵母の遺伝解析系を開発するモデルケースとして、*S. exiguus*のホモトリック株に突然変異誘発処理を施し、ヘテロトリックな1倍体株を分離することに成功している。この*S. exiguus*のヘテロトリック株は、遺伝解析が進んでいる*S. cerevisiae*とは性的凝集も接合子形成も行わないが、 $\alpha$ フェロモンに関しては互いに交叉活性を示す。そこで、これら2種の*Saccharomyces*属酵母の染色体編成を比較する目的で、2次元パルスフィールド電気泳動法を開発し、その核型解析を行った。その結果、*S. cerevisiae*は既に報告されているように16本の染色体DNAに分離したが、*S. exiguus*は13本の染色体DNAに分離した。一方、染色体DNA長の総合計は、どちらもほぼ同じ約14Mbであった。

ところで、我々は、*S. exiguus*のヘテロトリックなハプロイド株にEMS処理をすることにより、数十個の栄養要求性突然変異体を分離し、得られた変異体を互いに交雑させて遺伝解析を行うと同時に、染色体地図の作成を試みている。その中で、ロイシン合成系の遺伝子に関しては、2つの遺伝子(*leu1*, *leu2*)を同定している。そこで、*S. exiguus*における宿主-ベクター系を開発する目的で、これらの変異を有する2つのロイシン要求性株に対して、*S. cerevisiae*のベクタープラスミドであるYEpl3(*S. cerevisiae*の2 $\mu\text{m}$ DNAの複製起点とLEU2遺伝子を含む)を用いて、プロトプラスト形質転換実験を行った。その結果、非常に低い頻度ではあるが、YEpl3プラスミドは*leu2*変異体をLeu<sup>+</sup>株に転換できることがわかった。また、Leu<sup>+</sup>に転換した1株について検定したところ、YEpl3プラスミドは、*S. exiguus*の*leu2*変異体の中でマルチコピーの状態で存在し、*S. cerevisiae*を宿主にした場合と同程度の安定性を示すことがわかった。

## 1pC03

酵母 *S. cerevisiae* の染色体 DNA 長の人為的変動

依田彰・大城清樹・柳下信治・久富泰資・壺井基夫  
(福山大・工・生物学)

我々は酵母 *Saccharomyces cerevisiae* の減数分裂並びに胞子形成に欠損を持つ突然変異体を多数分離している。これらの染色体 DNA を解析した結果、同じ親株から単離された突然変異体であるにも関わらず、株により第 3 番染色体 DNA の長さに差異が見られた。親株は 450Kb であるのに対し、突然変異体では 350Kb、530Kb の長さを示すものが多くみられた。しかし、第 3 番染色体以外では差異が見られなかった。この第 3 番染色体の長さの変動をもたらした原因を探るため、第 3 番染色体長が 350Kb、370Kb、450Kb である 3 株種のホモタリック株の胞子を紫外線処理を行い、任意に単離したコロニーを解析した。その結果、第 3 番染色体 DNA が 450Kb の株では約 65% のものが 350Kb、530Kb に変動したが、他の 2 株では変動が見られなかった。次に、長さの異なる第 3 番染色体を持つ株同士が正常に交雑できるかどうかを調べるために、350Kb と 450Kb の菌株を胞子-胞子接合せたところ、雑種を得ることができ、どの雑種も 350Kb と 450Kb の 2 本の第 3 番染色体を保持していた。これらの雑種は胞子を形成したので、その四分子解析を行ったところ、2 つは 350Kb の第 3 番染色体を持っていたが、残りの 450Kb の第 3 番染色体を持つ胞子クローンの多くでは、450Kb 以上に 350Kb や 530Kb の染色体も保持していた。

## 1pC04

パーティクルガンによる植物細胞の高頻度形質転換条件の検討

服部悦子, 重本直樹, 田中俊憲, 佐藤茂, 山下稔哉, 清水克哉, 関原明<sup>1</sup>, 入船浩平, 森川弘道 (広島大・理・植物, <sup>1</sup>京大・農)

我々は、圧縮空気圧を駆動力とするパーティクルガン装置の開発及び遺伝子導入、発現について研究してきた。パーティクルガン法は多くの植物細胞(核・オルガネラ)の形質転換が可能な、有用な遺伝子導入法である。今回は、形質転換効率に影響を与えるパラメーターの検討結果などについて報告する。

①(株)徳力の金粒子(真球状・変形真球状)と、Alfa Chem 社のもの(真球状)とを比べた。(株)徳力のものでは、金粒子の分布パターン(中央付近が密)は大きいですが、GUS 遺伝子発現効率(X-Gluc 及び MUG を用いたアッセイ)は変わらないか、むしろ高いことが分かった。②プロジェクタイルの加速圧力を変えてタバコ培養細胞に GUS 遺伝子を導入し、MUG を用いて GUS アッセイを行った。その結果、X-Gluc を用いた結果とは異なり、GUS 活性は加速圧力に殆ど依存しないか、高い圧力(～200 kg/cm<sup>2</sup>)ではやや低下した。③導入した GUS 遺伝子を発現しているタバコ培養細胞では、調べた限り殆ど全ての場合、核内に金粒子が認められた。このことから、本法により遺伝子は核内に直接導入されているものと推定された。

## 1pC05

シロイヌナズナのアグロバクテリウムを介した高頻度形質転換系について

赤間一仁<sup>1</sup>、岡田清孝<sup>1</sup>、志村令郎<sup>1,2</sup> (基生研・遺伝子

発現統御<sup>1</sup>、京大・理・生物物理<sup>2</sup>)

シロイヌナズナは、他の高等植物に比べ、核ゲノムサイズが極めて小さいため、T-DNAのような既知のマーカーを導入することにより、高い確率で挿入突然変異体が得られると考えられる(T-DNA タッキング)。そして、通常の方法では解析が困難な形態形成などに関わる遺伝子のクローニングと構造解析が可能である。

T-DNA タッキングの基になるアグロバクテリウムを介した形質転換法は、シロイヌナズナで、効率や再現性に関し、改善すべき点が多い。

我々は、形質転換に用いる品種、組織、アグロバクテリウムに注目し、種々の組み合わせから、形質転換の頻度を求めた。結果的に、Wassilewskija の胚軸に対し、EHA101 を感染させたとき、90%以上が1ヵ月以内に苗条を形成することを見出した。又、高い再現性を有することも確かめた。

得られた形質転換体の種子は、抗生物質を含む培地で、多くがメンデルの法則に従い、正常に成長するものと黄化するものに分離した。又、サザン解析(124個体)から、核ゲノムに挿入されたT-DNAは、1~4コピーのもので全体の92%を占め、平均コピー数は、2.15であった。

挿入突然変異体の有力な候補についても合わせて報告する。

## 1pC06

トウモロコシの転移因子 A<sub>c</sub> / D<sub>s</sub> を導入したトランスジェニックタバコの作出

杉田耕一、宮崎 力、守屋美加<sup>1</sup>、山岸理恵、守屋 寛<sup>1</sup>、  
飯田 滋 (東京理科大・基礎工、<sup>1</sup>薬)

我々は、トウモロコシの A<sub>c</sub> / D<sub>s</sub> をタバコを含む異種植物に導入し、転移因子の転移機構の解析を行うと共に、転移因子を用いた高等植物遺伝子のタッキング法の開発を目指している。このため、転移因子 A<sub>c</sub> や D<sub>s</sub> が転移に伴って切り出されると、ハイグロマイシン耐性遺伝子が活性化されるようなプラスミドを作製し、タバコのプロトプラストにPEGを用いた直接法により導入し、形質転換体を分離してトランスジェニックタバコを作出した。このとき、自律性転移因子 A<sub>c</sub> をもつプラスミドはそれ単独で、また、非自律性因子 D<sub>s</sub> は、A<sub>c</sub> の転移酵素遺伝子を発現させるプラスミドと一緒に導入した。その結果、サザン法及びPCR法により解析を行ったところ A<sub>c</sub> においては、A<sub>c</sub> の切り出しと共に新たな部位への再挿入がみられるクローンが大部分であった。一方、D<sub>s</sub> では、切り出しはみられるものの、再挿入の起こっていないクローンも見つかり、両者の間で違いがみられた。現在、再生した植物個体において種子繁殖を行い次世代における転移因子の安定性について検討を行っている。

## 1pC07

トランスジェニックイネにおけるフォスフィノトリシン  
アセチルトランスフェラーゼ（ピアラホス耐性遺伝子）  
の発現

土岐精一、野尻宙平<sup>1</sup>、後藤文之、島田季一、内宮博文  
（北大・理・植物、<sup>1</sup>明治製菓薬総研）

フォスフィノトリシン（phosphinothricin: PPT; 除草剤ピアラホスの類似化合物）はグルタミン酸のアナログとしてグルタミン合成酵素の活性を阻害し植物細胞内にアンモニアを蓄積させ、その結果植物体を枯死させる。演者らはPPTをアセチル化することにより解毒化する酵素（フォスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ; phosphinothricin acetyl-transferase: PAT）の遺伝子（*bar*; *Streptomyces hygroscopicus*に由来する）を単子葉植物であるイネに導入することを試みた。

形質転換はco-transformation法によって行った。すなわち*bar*を保持するプラスミド（pUC-PAT）とハイグロマイシン耐性遺伝子を有するプラスミド（pCH）を混合してエレクトロポレーションを行い、ハイグロマイシンで形質転換植物体を選抜した。さらに、抗PAT抗体を用いたウエスタンブロッティングによってco-transformした個体の選択を行った。Co-transformした個体についてはサザン法・PATの酵素活性を検討した。この結果、co-transformationによってピアラホス耐性遺伝子は効率良くイネゲノム中に導入されること、また、導入された遺伝子はイネ植物内で正しく翻訳され、また翻訳産物は酵素活性を持っていることが示された。さらに形質転換体のピアラホス、PPTに対する耐性の検定結果について報告する。

## 1pC08

トランスジェニックイネにおける外来 DNA の組み込み様式の  
解析

後藤文之、土岐精一、内宮博文（北大・理・植物）

単子葉植物に対する遺伝子導入は、アグロバクテリムを介した方法が適用できないためプロトプラスト等へのDNAの直接導入法が用いられている。しかしながら直接導入法による形質転換体における外来DNAのゲノムへの組み込み様式、遺伝等に関しては解析例が限られている。

本研究でhygromycin耐性遺伝子(*hph*)を持つプラスミド(pCH)をイネ(品種; ヤマホウシ)プロトプラストにエレクトロポレーションし、20 mg/l hygromycin Bで選抜することにより得られた形質転換植物体を用いてこの点に関して検討した。形質転換植物体のDNAをサザン法により解析したところ、すべての個体において*hph*の構造遺伝子部分はゲノム上に完全な形で組み込まれていることが確認された。さらに、組み込まれた外来DNAの後代での分離について調べた。すなわち、これらの個体から得られた種子をhygromycin Bを含むMS培地に置床し、分離比を調査すると共に生存個体について、サザン法によりバンドパターンを解析した。これらの解析により、得られた形質転換イネは、いずれの場合も複数の外来DNA断片が組み込まれていること、導入されたDNA断片は安定に子孫に伝達されていることが確認された。さらに耐性の発現に関与しているDNA断片は1から2コピーであることが示唆された。

## 1pC09

形質転換タバコにおける 2'-GUS、35S-GUS 遺伝子発現の比較

加藤 明 ・ 北海道農業試験場

アグロバクテリウムにより植物に導入された遺伝子は原則としてはメンデルの法則にしたがって後代に伝達され遺伝子発現がおこる。遺伝子発現の水準は形質転換された再生個体ごとに差がみられ、これは外来遺伝子の発現が植物ゲノム上の挿入位置によって周辺領域からそれぞれ異なる影響をうけるためとする解釈がある。また、導入遺伝子産物の量や活性の水準は植物の生育環境、生理的条件にも依存するであろう。

形質転換タバコでは、35S-GUS キメラ遺伝子の発現は、形質転換体作成の実験区ごとに差がみられ、また、個体ごとの差異も著しく後代での遺伝子発現が再生個体世代と異なるものが含まれていた。これに対し、1,2-GUS 遺伝子では葉のGUS活性はほぼ基準値もしくはその二倍の値であった。それぞれ50-100の再生個体についての結果である。これらの結果から、アグロバクテリウムによるT-DNA挿入においては、外来遺伝子の発現レベルが挿入部位に依存するという意味での位置効果は顕著ではなく、35S-GUS 遺伝子発現にみられた個体間差異は別の原因によることが考えられる。また、イネ貯蔵タンパク質遺伝子プロモーターとGUSによるキメラ遺伝子の種子での発現では個体ごとの差異はみられたが、花序の内部での差と登熟過程での変化が大きく、この場合も位置効果によるものとは考えにくい。

## 1pC10

試験管内転写における植物遺伝子発現の超コイル構造依存性

○山崎健一、今関英雅（名古屋大学農学部）

植物遺伝子も、他の真核生物の遺伝子と同様に核内ではヒストンと結合しており、転写される時にはクロマチン構造から部分的に解放されているため DNA 自身は超コイル構造を有している。線状 DNA 断片を転写鋳型として用いる通常の試験管内転写とは、状況を異にしている。1989 年以後の研究において、転写領域にグアニン残基を含まない DNA 断片（G フリー配列）をプロモーター下流に挿入した閉環状転写鋳型を用いて、これを GTP を除いた反応液中で転写させることにより、超コイル構造を持った DNA の正確な転写を観察することに成功した。また、この閉環状転写鋳型に DNA トポイソメラーゼ I を作用させることにより、超コイル構造を失った弛緩型閉環状転写鋳型を作成し、その転写活性を超コイル型の場合と比較した。すると、プロモーターとして、アグロバクテリウムの TC7 プロモーター、CaMV の 35S プロモーターのいずれをもちいても、一定の塩濃度における転写鋳型の転写効率が、その高次構造に大きく影響されることが明らかとなった。現在、弛緩型閉環状 DNA に、ヒストン、ヌクレオソームアッセンブラー、DNA トポイソメラーゼ I を作用させミニクロマチンを形成させたものを転写鋳型とした転写実験を行なっている。今後、より核内に近い状況を再現することを念頭に置きながら遺伝子発現調節の機構解明に迫りたいと考えている。

## 1pC11

アサガオの花の紋りにトランスポゾンが関与しているか？

宮崎 力、稲垣善茂<sup>1</sup>、笠原基知治、守屋 寛<sup>1</sup>、  
飯田 滋 (東京理科大・基礎工、<sup>1</sup>薬)

トウモロコシの穀粒やキンギョソウの花色の紋り模様の形成は、トランスポゾンによりアントシアニン色素生合成系の遺伝子の発現が調節された結果であることが知られている。アサガオの花色の紋り模様も同様に未知のトランスポゾンの関与する色素生合成系遺伝子の調節によるのではないかと考えて、新たなトランスポゾンの探索と、トランスポゾンにより調節されるアントシアニン色素生合成系の検索を行った。

まず我々は、すでに単離されているいくつかのアントシアニン生合成系遺伝子の cDNA をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行い、紋りアサガオと全色アサガオにおける色素生合成系遺伝子の構造を比較検討した。

その結果、調べた紋りアサガオには、ジヒドロフラボノール-4-レダクターゼ (DFR) 遺伝子に約 7 K b 断片が挿入されていた。そこで全色及び紋りアサガオのゲノムより DFR 遺伝子のクローニングを行い、その構造を明らかにすることを試みている。今後、この約 7 K b の挿入 DNA 断片がトランスポゾンであるか、また、DFR 遺伝子の発現調節にどのように関与しているかを検討して行きたい。

## 1pC12

炭化水素成分の生合成に関わる遺伝子の単離にむけて  
—アラビドプシス突然変異の検索—

大隅照子、R. F. Whittier、柴田大輔 (三井植物バイオ研)

地球規模での CO<sub>2</sub> 濃度の上昇が大きな社会問題となっている。われわれは地球規模での CO<sub>2</sub> 循環サイクルにエネルギー源をもとめ、植物において、化石燃料に代わるエネルギー資源の開発研究を始めた。特に、クリーンな燃焼資源として窒素やイオウを含まない炭化水素成分の植物による生産を目標としている。

炭化水素成分は多岐にわたり、しかも、遺伝子レベルの技術を用いて研究開発を進める上では、その生合成経路の生化学的な研究は充分には行なわれていない。そこで、アラビドプシスをモデル植物として用い、突然変異誘発処理個体の中から炭化水素成分の生合成に関わる変異を有する個体を得て、変異した形質の発現に関わる遺伝子座を染色体上にマッピングして、その位置情報を用いて遺伝子の単離を行うことを計画している。炭化水素成分のうちでメバロン酸経路で生合成されるテルペノイドはユーカリなどでは実用的燃料として用いる研究がなされている。そこで今回はアラビドプシスに含まれるテルペノイドを分析した。約 1 カ月間生育させたアラビドプシスの葉を水酸化カリウム溶液中で加熱してから、ヘキサンで抽出し、ガスクロマトグラフィーで分析したところ各種のステロールが検出され、これを質量分析 (GS/MS) で分析したところ、2 種はコレステロールおよび β-シトステロールであることが判明した。これらはアラビドプシスの葉を一枚もちいて検出することが可能であった。現在、EMS で突然変異誘発処理した個体の M<sub>2</sub> 世代を育させ、そのステロールの分析を行いメバロン酸経路に突然変異を引き起こしたものの検索を行っている。

## 1pC13

### イネ waxy 遺伝子のクローニング

石川緑、島田浩章 (三井業際植物バイオ研究所)

waxy は、植物のデンプンのうちアミロース分子の合成を行う UDP-glucose starch glycosyl transferase をコードする。この配列は、すでにトウモロコシ、オオムギにおいてその塩基配列が明らかにされているので、これらのデータを参考に PCR を行い、イネ waxy 配列の増幅を行った。この結果得られた約 1Kb の配列は、トウモロコシやオオムギの waxy 配列と非常に高い相同性を示した (1)。そこでこの断片をプローブとして、イネ waxy 遺伝子全体のクローニングを行った。イネゲノム DNA を数種の制限酵素で切断し、サザンブロット分析を行ったところ、waxy は EcoRI で切断した場合、約 6Kb の断片とハイブリダイズすることが明らかとなった。そこでイネゲノム DNA を EcoRI で完全に切断し、Sephacryl S-1000 を用いたゲル濾過法により 4-8Kb の断片を含む画分を調製し、 $\lambda$ gt11 によるミニゲノムライブラリーを作製した。次にこれを用いて、ブランクハイブリダイゼーションを行い、53個のポジティブクローンを得た。PCR 分析の結果、これらは waxy 配列を有することを確認した。さらにこれらのうちの 1つを pUC19 にクローニングした。制限酵素切断パターン、塩基配列の解析などの結果から、得られたクローンはイネ waxy 遺伝子の全コード領域を含んでいることが明らかになった。

(1) Shimada, H. and Tada, Y. (1991) Gene, in Press.

## 1pC14

### サツマイモ葉柄における塊根主要タンパク質遺伝子のショ糖とオリゴ糖エリシターによる発現誘導の解析

大藤雅章、中村恭子、中村研三 (名大・農・生化)

サツマイモ塊根に多量に存在するスボラミンと  $\beta$ -アミラーゼは、通常の栽培植物体では塊根以外の器官に殆ど存在しない。これら塊根主要タンパク質遺伝子の発現は必ずしも器官特異的に見られるものではなく、サツマイモ葉-葉柄をショ糖処理すると葉と葉柄にスボラミンと  $\beta$ -アミラーゼが多量のデンプンと共に蓄積し、これら 3 者の蓄積誘導は類似したショ糖濃度依存性を示す。一方、ショ糖以外にも傷害誘導エリシターとして知られるポリガラクトン酸 (PGA) やキトサン限定加水分解産物の供与によってスボラミンや  $\beta$ -アミラーゼの蓄積がデンプンの蓄積を伴わずに誘導される。これらの誘導はいずれも mRNA レベルで見られるが、シクロヘキシミドを用いた実験から、ショ糖や PGA によるこの 2 種のタンパク質遺伝子の発現誘導には、いずれも *de novo* に合成される制御タンパク質が重要な役割を担っていると推定されている。

スボラミンは多重遺伝子族に支配され、塊根で発現しているのと同じメンバーがショ糖によって誘導されるが、今回我々は、PGA によって誘導されるメンバーもこれとほぼ同一であることを明らかにした。また、ショ糖によるスボラミンと  $\beta$ -アミラーゼ遺伝子の発現誘導にはカルモジュリンインヒビターである W-7 によって阻害される情報伝達系が関与している可能性が示唆された。現在、ショ糖と PGA によるこの 2 種の遺伝子の発現誘導への  $Ca^{2+}$ -カルモジュリン系の他の各種阻害剤の効果を解析中である。

## 1pC15

In situ ハイブリダイゼーション法による  
サツマイモ塊根主要タンパク質の遺伝子発現の解析  
武田真、神山康夫<sup>1</sup>、中村研三（名大・農・生化、  
<sup>1</sup>重慶大・生資・植物）

サツマイモ塊根の主要タンパク質であるスボラミンと $\beta$ -アミラーゼの遺伝子は栽培植物体では塊根特異的な発現を示すが、葉、葉柄においても高濃度ショ糖やポリガラクトuron酸(PGA)によってその発現が誘導される。このうち、ショ糖による誘導系ではデンプンの蓄積を伴っているのに対し、PGAによる誘導系ではデンプン蓄積を伴わない。

我々は、免疫組織化学的手法や in situ ハイブリダイゼーション法を用いることにより、スボラミンおよび $\beta$ -アミラーゼ遺伝子発現の細胞特異性を明らかにしようと試みた。抗スボラミン抗体、抗 $\beta$ -アミラーゼ抗体、およびFITC結合二次抗体を用いた免疫組織化学的な観察から、塊根組織ではデンプンを蓄積しているのと同じ柔組織細胞にスボラミン、 $\beta$ -アミラーゼが蓄積することが示された。ショ糖で処理したサツマイモの葉および葉柄組織の固定包埋切片を用いて、in situ ハイブリダイゼーションを行ったところ、葉柄の維管束系や柔組織、葉緑組織、あるいは葉の葉肉細胞などにおいて、広くスボラミン mRNA の蓄積が認められた。PGAで処理した葉、葉柄についても in situ ハイブリダイゼーションによる解析をしたところ、ショ糖処理した場合と同じ組織でスボラミン mRNA が検出された。

## 1pC16

サツマイモ $\beta$ -アミラーゼ遺伝子5'上流域に結合する核タンパク質因子  
○石黒澄衛、梶本明浩、加藤麻理子<sup>1</sup>、中村研三（名大・農・生化、<sup>1</sup>現・ピラス）

サツマイモの塊根において $\beta$ -アミラーゼはスボラミンに次いで多量に存在するタンパク質であり、その遺伝子の発現様式もスボラミン遺伝子の場合と類似している。演者らは、スボラミンおよび $\beta$ -アミラーゼ遺伝子の発現制御機構を明らかにすることを目的とし、両タンパク質遺伝子の5'上流域に結合する核タンパク質因子の解析を行っているが、今回は $\beta$ -アミラーゼ遺伝子の5'上流域に結合する因子を検出したので報告する。

ショ糖処理により $\beta$ -アミラーゼやスボラミン遺伝子の発現を誘導したサツマイモ葉柄より核を単離し、核抽出液を調製した。ゲルシフトアッセイやDNase I フットプリンティングによって解析した結果、この核抽出液の中には、すでに報告している因子 SP8BF の他にも $\beta$ -アミラーゼ遺伝子の5'上流域に結合する因子が複数存在することを見いだした。このうちの一つの因子 RBF は、5'CGTCACGTCACG3'という反復配列(R box)部分を認識して結合していた。RBFはカリフラワーモザイクウイルス(CaMV) 35Sプロモーターに存在する5'TGACG3'配列にも結合すること、また、コムギヒストン遺伝子の転写因子HBP-1bやCaMV 35Sプロモーターに結合するタバコの転写因子TGA1aがR boxを認識して結合することから、RBFはHBP-1bやTGA1aと類似の因子であると考えられる。

## 1pC17

### サツマイモβ-アミラーゼ欠損変異株の解析

林浩司、中村恭子、中村研三（名大・農・生化）

サツマイモ(高系14号)のβ-アミラーゼ(分子量約56000)は塊根特異的に存在し、その全可溶性タンパクの約5%をしめている。この遺伝子はハプロイド当り単一コピーによって支配されており、その発現は塊根形成にともなって活性化されるほか、ショ糖や傷害誘導物質であるポリガラクトuron酸による人為的誘導条件下で葉柄などでも活性化されることがわかっている。一方、甘くないサツマイモとして開発された劣性β-am<sub>y</sub>変異をもつ九系116号の塊根には、大羽らによってβ-アミラーゼポリペプチドが検出されないことが明らかにされている。

本研究では、この変異株を用いてショ糖やポリガラクトuron酸によるβ-アミラーゼおよびスボラミンの誘導を解析した。その結果、いずれの誘導系の場合にもスボラミンの誘導は正常に起こるのに対して、β-アミラーゼの誘導は認められなかった。これらの結果は、この変異がスボラミンとβ-アミラーゼを共通に認識する因子に生じているものではないことを示している。またβ-アミラーゼはハプロイド当り単一コピーによって支配されていることから構造遺伝子自体に変異が生じていることも考えられる。よって九系116号サツマイモからゲノムDNAを抽出し、ゲノミックサザンハイブリダイゼーションによる解析を現在行っている。

## 1pC18

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、\*米田好文、\*茅野充男  
(東大・農学部、\*遺伝子実験施設)

ダイズ種子貯蔵タンパク質の一つである7Sタンパク質は、主にα'、α、βの3つのサブユニットからなるが、ダイズ未熟子葉の*in vitro*培養系において培地にL-メチオニンを添加すると、β-サブユニットのみ発現が抑制される。我々は、この発現抑制の機構を解明するためにトランスジェニック植物を用いた系の確立を目指した。β-サブユニット遺伝子で形質転換されたトランスジェニック・ペチュニアの未熟子房を8.4mMのL-メチオニンを含む寒天培地で培養し、培養種子中のタンパク質及びRNAを解析した。その結果、L-メチオニンによりβ-サブユニットタンパク質、mRNAともに蓄積が抑制されていることが確認された。次に、β-サブユニット遺伝子プロモーター領域(転写開始点より5'上流側約1kb)とβ-グルクロニダーゼ(GUS)構造遺伝子との融合遺伝子で形質転換されたトランスジェニック・ペチュニアで同様の実験を行なったところ、L-メチオニンによりGUS活性が低下した。さらに、β-サブユニット遺伝子プロモーター領域とGUSとの融合遺伝子で形質転換されたトランスジェニック・アラビドプシスを1mM L-メチオニンを含む水耕液を与えて栽培したところ、種子におけるGUS活性が低下した。以上より、トランスジェニック植物においてもダイズと同様にL-メチオニンによる導入遺伝子の発現抑制がみられること、及びこの制御は主に転写レベルで起こることが示された。

## 1pC19

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、後藤弘爾、横田優美\*、林 浩昭\*、茅野充男\*  
米田好文 (東大・遺伝子実験施設、\*農学部)

ダイズの7S種子貯蔵蛋白質の $\beta$ -サブユニット遺伝子はメチオニンによりその発現が抑えられるが、 $\alpha'$ -サブユニット遺伝子は変化しない(前演題参照)。この現象に対して遺伝学的アプローチを試みるため、細胞内の遊離メチオニンが増加したアラビドプシス変異株の分離を行なった。メチオニンのアナログであるエチオニンは細胞に取り込まれると毒性を示す。突然変異誘起処理を施したM2種子をエチオニン存在下で発芽させ、エチオニン耐性変異株を数株分離した。得られた変異は野生型に対して優性であり、栄養成長期のロゼット葉は野生型株の数十倍の遊離メチオニンを含んでいた。一方、結実期ではロゼット葉の遊離メチオニンは少なく、茎頂部及び果実に集積していた。

$\beta$ -及び $\alpha'$ -遺伝子プロモーターと $\beta$ -グルクロニダーゼ(GUS)構造遺伝子との融合遺伝子(P $\beta$ -GUS、P $\alpha'$ -GUSと略記)を持ったトランスジェニック・アラビドプシスと変異株とのF1種子でGUSの発現を調べた。エチオニン耐性変異株(♀)とP $\beta$ -GUS株(♂)とのF1種子では対照F1種子に比べてGUS活性がおよそ1/10に抑えられていたのに対して、P $\alpha'$ -GUS株(♂)とのF1では有意な差は認められなかった。一方、雌雄を逆にした交雑ではいずれの場合も有意な差は見られなかった。これらの結果より母体から転流したメチオニンが $\beta$ -遺伝子の転写を抑えると考えられる。本研究で得られたエチオニン耐性アラビドプシス変異株は $\beta$ -遺伝子の発現制御のみならず、アミノ酸の生合成やその転流に対しても遺伝学的解析をするのに有用であると考えられる。

## 1pD01

通性好アルカリ性細菌のaco型チトクロム $\underline{c}$ 酸化酵素と  
生育pHで変動するチトクロム $\underline{c}$ との反応性  
湯本 勲、福森義宏、山中健生(東工大・生命理工)

通性好アルカリ性細菌 Bacillus YN-2000からは、1分子中にヘム $\underline{a}$ 、ヘム $\underline{c}$ 、プロトヘム各1分子を有するがチトクロム $\underline{a}$ 成分を含まないaco型チトクロム $\underline{c}$ 酸化酵素が得られている。<sup>1)</sup> 一方、この細菌には2種類の $\underline{c}$ 型チトクロム(チトクロム $\underline{c}$ -552とチトクロム $\underline{c}$ -553)が存在し、これらの量は、この細菌をpH 10で培養したときにpH 8で培養したときと比較して非常に多くなる。チトクロム $\underline{c}$ -553の分子量は10,500、等電点は3.9、pH6-8における中点酸化還元電位は+0.087Vである。このチトクロムはaco型チトクロム $\underline{c}$ 酸化酵素と反応し、その反応はポリ-L-リジンの存在により非常に促進される。これに対して、チトクロム $\underline{c}$ -552にはこのチトクロム $\underline{c}$ 酸化酵素と反応しない。従って、Bacillus YN-2000のaco型チトクロム $\underline{c}$ 酸化酵素への直接の電子供与体はチトクロム $\underline{c}$ -553であると思われる。このチトクロム $\underline{c}$ 酸化酵素は、ウマのチトクロム $\underline{c}$ (等電点10.5、中点酸化還元電位+0.255V)とも速やかに反応する。Bacillus YN-2000の生育pHが高いときにチトクロム $\underline{c}$ -553の量が非常に増大することは、電子伝達を活発にしてアルカリ性におけるATPの合成のための膜電位を形成するのに必要であろう。

1) Qureshi, M. H., Yumoto, I., Fujiwara, T., Fukumori, Y. & Yamanaka, T.  
(1990) J. Biochem. 107, 480-485

# 1pD02

## 非光合成組織における電子伝達系 (3) 組織特異的 FNRの免疫学的研究

森ヶ崎進、近藤淳、和田敬四郎 (金沢大・理・生物)

ダイコン及びホウレンソウの根から精製されたフェレドキシン-NADP<sup>+</sup>還元酵素 (R-FNR) はそれらの葉に存在するL-FNRとは明らかに異なる分子種であった。

ダイコンのR-FNR及びL-FNRに対する抗体 (それぞれR-FNR抗体及びL-FNR抗体) を作製した。R-FNR抗体はR-FNRの活性を特異的に阻害した。L-FNR抗体はL-FNRの活性を特異的に阻害した、また過剰量のL-FNR抗体はR-FNRの活性を10%阻害した。

ダイコンのR-FNRとL-FNRをウェスタンブロット解析したところR-FNR抗体及びL-FNR抗体はそれぞれR-FNR及びL-FNRとよく反応した。更にダイコン、エンドウ、ダイズ及びトウモロコシの根と葉の粗抽出液、ゼニゴケの培養細胞及びスピルリナの粗抽出液をウェスタンブロット解析した。

被子植物において、根にはR-FNRが、葉にはL-FNRがそれぞれ存在した。また、ゼニゴケにもR-FNR抗体と反応する分子種及びL-FNR抗体と反応する分子種が確認された。

黄化した植物体におけるFNR分子種のウェスタンブロット解析の結果を報告する。

# 1pD03

## ダイコン・フェレドキシンの複数成分について

○西村まゆみ (キシダ化学・研究課)

長井 潔、先浜直子、新 勝光 (神戸大・理・生物)

ダイコン幼植物から既報(1)により粗Fdを抽出し、疎水性及びイオン交換HPLC分析を行ったところ、疎水性HPLCでは疎水性の低い順にFd I ~ Fd IVの4成分が見出された。この4成分はイオン交換HPLCでは2成分ずつ2つのピークに分かれて溶出した (前にFd III・IV、後ろにFd I・II)。Fd-IIIを除く各成分は植物型Fd特有の吸収スペクトルを示し、NADPH-チトクロムc還元系において電子伝達活性を示すことを確認した。4成分の存在量比は生育段階により変動し、成熟植物において器官による相違が認められた (下表)。以上によりFd I ~ IVは分子種の異なる4つのFdと考えられ、トウモロコシ幼植物での観察(2)を裏付ける結果となった。

(1) Sakihama, N. & Shin, M. (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 256, 430-433.

(2) Kimata, Y. & Hase, T. (1989) *Plant Physiol.* 89, 1193-1197.

	発 芽 後				成 熟 植 物		
	2 日	4 日	7 日	12 日	葉	根・地上部	根・地下部
Fd I (%)	32.6	32.8	52.9	52.6	59.9	6.7	2.6
II	54.5	31.9	38.7	37.0	35.3	48.9	70.7
III	12.9	21.2	0	0	0	35.5	24.9
IV	0	14.1	8.4	10.4	4.8	8.9	1.8

# 1pD04

イネグルタチオン還元酵素アイソザイムの精製  
森田重人、丑丸敬史、柴坂三根夫、辻 英夫  
(京都大・理・植生研、<sup>1</sup>岡山大・資生研)

我々はイネ水中芽生えの酸素適応過程においてスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)アイソザイムのそれぞれが異なった量的変動を示すことを認めたので、同様のことがグルタチオン還元酵素(GR)でもみられるかどうかを調べる目的で、抗体を作成するためGRの精製を試みた。

GRの精製に関しては、いままで米ぬかからは2種類以上のアイソザイムの存在は報告されていないが(1)、ホウレンソウ葉からはMonoQカラムにより2種のアイソザイムが分離され、それらは2',5'-ADP Sepharoseに特異的に吸着すると報告されている(2)。今回、我々は米ぬかからADP Sepharoseに吸着および非吸着の2つの活性画分を得たので報告する。

米ぬか粗抽出液を硫酸分画(30-90%飽和硫酸)後、DEAE-Sepharose (0-500mM KCl)、Phenyl-Sepharose (33%-0% 飽和硫酸)、ハイドロキシアパタイト (5-60mMリン酸緩衝液) によるカラムクロマトグラフィーを行った。この後に、ADP Sepharoseカラムに通すと、吸着しなかった画分にもGR活性が見られたので、これをMatrex Red A (0-1M KCl) で分画すると、さらに2つのピークに分離された。これら2つの画分と、ADP Sepharose吸着後溶出 (0.1-10mM NADP, 100mM KCl) させた画分は、さらにHiLoad Q Sepharose および HiLoad Phenyl Sepharose を用いたHPLCによって精製中である。

(1) Ida and Morita (1971) AgL Biol. Chem. 35:1542-1549

(2) 田中ら (1990) 日本植物生理学会1990年度年会講演要旨集 p. 227

# 1pD05

イネ・アスコルビン酸ペルオキシダーゼ・アイソザイムの精製

丑丸敬史、<sup>1</sup>小川健、<sup>1</sup>柴坂三根夫、<sup>2</sup>浅田浩二、<sup>3</sup>辻英夫  
(京大・理・植生研、<sup>1</sup>農・林工、<sup>2</sup>食研、<sup>3</sup>岡大・資生研)

一つ前の講演要旨に述べたのと同じ目的で、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)の精製を試みた。

茶の葉では、APXは2種のアイソザイムが存在し、葉緑体局在のもの(APXII)は分子量34kDaの蛋白質であることが知られているが(Chen and Asada, Plant Cell Physiol. 30:937-998, 1989)、細胞質局在のもの(APXI)はまだ同定されていなかった。今回、我々はイネ緑葉からAPXIを精製することができたので報告する。

最初、米ぬかより精製を試みたが、活性がほとんど検出できなかったので、イネ緑葉より精製を行った。硫酸分画(30-90% 飽和)後、Phenyl Sepharose CL-4B (33-0% 飽和硫酸)、DEAE-Sepharose CL-6B (0-300mM KCl)により分画した。DEAE-Sepharoseの段階で、APXIとIIに分離できた。APXIはさらに、HiLoad Q Sepharose HPを用いたHPLCにかけた後、native PAGEで精製を進めた結果、SDS-PAGEで単一のバンド(26kDa)として得られた。APXIIに関しては、HiLoad Q Sepharose HP、HiLoad Phenyl Sepharose HP、native PAGE等により精製中である。

## 1pD06

### チャ葉アスコルビン酸ペルオキシダーゼアイソザイムの精製と性質の比較

○ 尼子 克己、 浅田 浩二 (京大・食研)

アスコルビン酸(AsA)を特異的な電子供与体とするアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)は、葉緑体での $H_2O_2$ 消去に関与している。APXは葉ではペルオキシダーゼ活性の大部分を占めるが、HRPに代表される他の植物ペルオキシダーゼよりも極めて不安定なために、その分子的性質が明らかになっている例は少ない。すでにチャの葉から葉緑体に局在するAPXが単離されている(Chen and Asada, *Plant Cell Physiol.*, 987-998, 1989)が、今回はその精製の高収率化、およびサイトソル存在型のアイソザイムの単離を試みた。

精製は硫酸分画の後、疎水、ゲルろ過、イオン交換、ハイドロキシアパタイトの各クロマトグラフィーをこの順で行った。イオン交換の時点で、分別定量法(前年会発表)によりサイトソル型アイソザイムと判定される活性を、低イオン強度のフラクションに隣接した2本と、高イオン濃度のフラクションにブロードな1本のピークとして得た。このことはAPXに少なくとも3つのサイトソル型アイソザイムが存在することを示唆している。現在これらの単離を行っている。また葉緑体型アイソザイムについては、精製過程を高速化することによって収率を5-6倍に上げることに成功したのでこれについても述べる。

## 1pD07

### らん藻ペルオキシダーゼの性質

○ 三宅親弘 浅田浩二 (京大食研)

光合成生物では、 $CO_2$ 固定に使われなかった過剰な光エネルギーは、酸素の一電子還元へとリークし、その結果、生体毒である $O_2$ 、 $H_2O_2$ が生成する。この光生成する $H_2O_2$ は、アスコルビン酸(AsA)ペルオキシダーゼ(APX)により消去される。高等植物と異なり、らん藻のAPXの酵素的性質はこれまで研究されていない。本研究では、*Synechocystis* 6803のAPX活性の性質を調べた。

方法) 対数増殖期後期まで生育させたらん藻を抽出液(50 mM K-P buffer, pH7.0, 1 mM AsA, 0.1 mM EDTA, 20% sorbitol)中で破碎し、粗抽出液を得た。この溶液をSephadex G-25カラムへ通し、タンパク質画分と低分子画分に分け、それぞれについてペルオキシダーゼ活性を調べた。

結果) タンパク質画分で、アスコルビン酸、NADHを基質とするペルオキシダーゼ活性が検出され、このペルオキシダーゼ活性は、0.4 mM KCNにより阻害された。また、このAPXは、AsAがない条件下では速やかに失活する不安定な酵素である。現在、APX精製条件を検討中である。GSH, Cyt Cを基質とした場合、ペルオキシダーゼ活性は検出されなかった。また、低分子画分にもアスコルビン酸を基質とするペルオキシダーゼ活性が存在することを見いだした。

# 1pD08

ソラマメ葉でのDOPA代謝に対する過酸化水素と光の影響

高浜有明夫・<sup>1</sup>鬼木隆幸（九州歯大・生物、<sup>1</sup>化学）

ソラマメの葉肉細胞ではペルオキシダーゼと3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) が液胞内に存在する。また、単離した液胞に過酸化水素を加えると、DOPAが酸化され、その酸化はKCNで抑制される。これらの結果はDOPAが液胞内で過酸化水素の代謝に関与し得ることを示唆している。しかし、液胞には現在までのところ過酸化水素形成反応が知られていないので、細胞内の液胞以外の部位で形成された過酸化水素が細胞内でのDOPA酸化に関与している可能性がある。細胞を用いてDOPAのようなフェノール性化合物の酸化を追跡していく場合、これらの物質のペルオキシダーゼによる酸化以外に、フェノールオキシダーゼによる酸化の可能性もあるので、この両者の酸化反応を区別する必要がある。そこで、フェノールオキシダーゼの特異的阻害剤であるトロポロンのDOPA酸化に対する効果をいくつかの条件下で調べた。

ソラマメ葉無細胞抽出液にDOPAのみを加えた場合、DOPAの酸化が見られた。この酸化はトロポロンで完全に抑制された。過酸化水素存在下でのソラマメ葉抽出液によるDOPAの酸化はトロポロンによって約20%促進された。セイヨウワサビペルオキシダーゼによる過酸化水素存在下でのDOPAの酸化もトロポロンで促進された。これらの結果からDOPAの酸化にペルオキシダーゼが関与する場合、トロポロンはその酸化反応を促進できることを示している。そこで、ソラマメ葉を光照射した場合、DOPAレベルの変動に対するトロポロンの影響を調べた。メチルピオローゲンの存否と無関係に、トロポロンはDOPAの光酸化を促進した。過酸化水素によるDOPA酸化もトロポロンで促進された。単離した葉肉細胞での光によるDOPA酸化もトロポロンで促進された。これらの結果はソラマメ葉あるいは葉肉細胞でのDOPAの酸化にペルオキシダーゼが関与していることと同時に葉緑体で発生した過酸化水素が液胞に拡散していくことができることを示唆している。

# 1pD10

大腸菌グルタチオンレダクターゼ遺伝子を導入したタバコの活性酸素ストレス耐性

青野光子, 久保明弘, 佐治 光, 名取俊樹, 田中 浄,  
近藤矩朗（国立環境研）

オゾンなどの大気汚染ガスや除草剤パラコートによる植物の傷害には、活性酸素が関与すると考えられている。一方グルタチオンレダクターゼ(GR)は、NADPHの還元力を利用して酸化型グルタチオンを還元型に変える反応を触媒する酵素であり、活性酸素ストレス耐性に重要な役割を果たしていると考えられる。その遺伝子を植物に導入して細胞内のGR活性を変えることにより、これらのストレスに対する植物の耐性が変化することが期待される。植物のGR遺伝子はまだ単離されていないので、大腸菌GR遺伝子を手しタバコ(SR1)に導入した。これらの形質転換体と子孫において、大腸菌GRの存在と、GR活性が対照に比べて明らかに高いことが確認された。植物のGRは主に葉緑体内に存在するが、葉緑体外の存在も示唆されている。本実験では、大腸菌GRは葉緑体ではなく細胞質基質に存在すると思われる。形質転換体と対照(ベクターのみを導入したもの)をオゾン暴露したところ、両者間の可視傷害の程度及び光合成活性には、有意な差は認められなかった。一方これらの葉片のパラコート処理の結果、形質転換体の可視傷害の程度が対照よりも低いことがわかった。従って、大腸菌GRが植物の細胞質基質内で、パラコートによって生じた活性酸素の解毒に際し有効に働いていると考えられる。

## 1pD11

キュウリ幼苗リポキシゲナーゼの生長と関連した消長

松井健二、入江真理、梶原忠彦、畑中顯和（山口大・農・農化）

リポキシゲナーゼ(LOX)は高度不飽和脂肪酸に酸素添加する酵素であるが、植物での生理的役割は未解明である。本酵素は植物の殆ど全ての組織に存在しているが、ダイズ、スイカ、イネ、更にキュウリ等多くの種子植物では特に発芽数日後の幼苗において一時的に強く誘導される。我々は幼苗における本酵素の機能を解明するために、キュウリを材料にその誘導・分解機構を明らかにすることを試みた。

キュウリ種子を14 hr明10 hr暗下25°Cで発芽させると子葉、胚軸、根の各器官でLOX活性は誘導され、発芽6日目をピークにその後急速に減少した。暗所で成長させた子葉でもLOXはほぼ同時期に強く誘導されたがその後の急速な活性減少はみられなかった。乾燥種子の段階で胚軸を切除したのも同様に強く誘導されるが、その後の活性減少はみられなかった。このことは子葉LOXが上胚軸成長に付随したシグナルによって合成から分解へと転じることを示唆する。また、発芽6日目の幼苗を更に細かく分けると胚軸では子葉に近い方が、また根では先端に近い方が活性が高く、LOXは細胞分裂、伸長の盛んな細胞に多く発現していることが示唆された。一方、根LOXは抗子葉LOX抗体と交差反応したが、至適pH等の性質が異なっていたため器官特異的なアイソザイムであると考えられた。

## 1pD12

クラミドモナスのArylsulfatase生合成の調節要因

佐々木孝行、白岩善博、R.K.Togasaki<sup>1</sup>（新潟大・理・生物、<sup>1</sup>インディアナ大・生物）

単細胞緑藻は様々な環境ストレスに適應する能力を有する。低CO<sub>2</sub>条件に対するcarbonic anhydrase(CA)、無機リン酸塩の欠乏に対するphosphataseおよび無機硫酸塩の欠乏に対するarylsulfatase(AS)の合成などはその例であり、これらはいずれも細胞外に局在して環境中の欠乏要因の不足を補う。本研究では、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>欠乏条件における、arylsulfataseの誘導の調節要因やその機構についての解析を試み、以下の結果を得た。

- (1) 数種の*Chlorella*や*Senedesmus*においては、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>欠乏による細胞外ASの誘導はみられず、*Chlamydomonas reihardtii*においてのみ、その酵素活性の誘導がみられた。
- (2) 酢酸無添加培地でSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>欠乏条件にした場合、ASの誘導には光照射が不可欠であり、それはDCMU添加で阻害された。一方、酢酸添加培地では暗中でも酵素誘導がみられた。
- (3) High-CO<sub>2</sub>-requiring mutantであるcia-3（細胞内CAを欠き、細胞外CAと無機炭素濃縮機構を有する）およびcia-5（細胞内CAのみを有し、細胞外CAと無機炭素濃縮機構を欠く）では、低(0.03%)CO<sub>2</sub>条件ではAS誘導はみられず、高(3%)CO<sub>2</sub>の供給が必要であった。

これらの結果は、ASの誘導には光合成もしくは従属的なエネルギーおよび物質の供給が必要であるが、光シグナルは不必要であることを示している。

- (4) 高CO<sub>2</sub>供給下およびSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>欠乏条件下で6時間ASを誘導させた後、低CO<sub>2</sub>条件下に移したところ、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>欠乏条件下であるにもかかわらずASの誘導は抑制されCAの誘導が開始した。これは低CO<sub>2</sub>とSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>欠乏の両条件が同時に与えられた場合は、ASよりもCAの合成を優先することを示している。

# 1pD13

## クラミドモナスカーボニックアンヒドラーゼの構造解析

石田さらみ、福澤秀哉、宮地重遠<sup>1</sup>、武藤尚志（東大、  
応微研、<sup>1</sup>株・海洋バイオテクノロジー研）

*Chlamydomonas* 細胞表層カーボニックアンヒドラーゼは、大サブユニット（LS）、小サブユニット（SS）各2個から構成される糖蛋白質である。生合成過程の解析及びcDNA、ゲノムDNAの塩基配列から、CA蛋白質は1本のmRNAによってコードされており、LSとSSが結合した前駆体として合成され、N末端側のシグナルペプチドの切断、糖鎖の付加及びLSとSS間のいくつかのアミノ酸残基の切断除去を受けた後、細胞外に分泌されると考えられている。しかしながら、LLとSS間のどの部分が切断除去されるのか、又、糖鎖結合アスパラギン残基、サブユニット間を架橋するジスルフィド結合の位置は不明であった。

主として、アミノ酸配列決定及びアミノ酸組成分析による解析の結果、LS内の糖鎖結合コンセンサス配列中の3つのアスパラギン残基はいずれも糖修飾を受けている事、前駆体のLLとSSの間からは、35アミノ酸残基が切断除去される事を明らかにした。又、LS間（またはLS内）、LSとSS間を架橋するジスルフィド結合形成システイン残基を同定した。

# 1pD14

## 大豆の重金属結合タンパク質の精製と性質

鈴木宏一郎、茅野充男（東大・農・農芸化学）

メタロチオネインは低分子量のシステインを多く含む金属含有タンパク質で、生体内において重金属の毒性を軽減するなどの役割を持ち、幅広い生物種に存在している。植物においては、フィトケラチンが発見されているが、哺乳類タイプの遺伝子からの直接の転写産物としてのメタロチオネインの存在は明確でない。本研究では、大豆を材料として用い、その胚軸よりCu,Zn含有タンパク質の精製を行い、その性質を明らかにすることを目指している。

大豆種子を水に浸し、膨潤させ、胚軸を採取後、それよりタンパクを抽出し、エタノール、クロロホルムを用い粗分画した。エタノール57-78%沈澱画分を再溶解し、ゲル濾過（Sephadex G-75）を行った。流出液についてCu,Zn濃度を測定して3個のピークを確認した。分子量約17kDのピークを回収し、Sephadex G-25を用い、buffer交換し、コバレントクロマトグラフィーカラム（Thiopropyl-Sepharose 6B）にかけた。0.3M酢酸アンモニウム（pH5.5、1M NaCl）で洗浄後、50mM Tris-HCl（pH 8.0、1M NaCl、50mM DTT）で溶出した。Cu,Zn濃度の高い溶出画分からタンパク質の精製を行い、そのアミノ酸配列について検討している。

## 1pD15

フタバネゼニゴケ培養細胞におけるモリブデンコファクタータンパクの存在について

西崎孝弘, 滝尾進, 榊井秀雄, 佐藤敏生 (広島大・理・植物)

現在知られているモリブデン酵素はニトロゲナーゼを除いて、モリブデンコファクター (Mo-co) と呼ばれる共通の補酵素を持つ。このMo-coを定量する方法として *Neurospora crassa* のMo-co欠損株である *nit-1 mutant*の硝酸還元酵素(NR)のアポ酵素とMo-coを再構成させ、その酵素活性からMo-coを定量する方法が知られている。フタバネゼニゴケ (*Marchantia paleacea* var. *diptera*)のカルス培養細胞を用いてMo-coを定量したところ、モリブデン酵素からMo-coを遊離させる処理(還元状態での熱処理)を行わない時にもMo-coが検出された。このMo-coは Sephadex G-75を用いたゲル濾過により、31 kDa付近のタンパクとして存在していた。Mo-co自体は分子量が1000以下であることから、このタンパクはMo-coをアポ酵素に運ぶキャリアータンパクであると推定した。ハウレンソウ、アカパンカビ、大腸菌、脱窒光合成細菌においても同様の結果が得られ、このMo-coキャリアーと推定されるタンパクが植物界に広く分布していることが示唆された。大腸菌においてMo-coのNRへの挿入に関与していると考えられているFAタンパク(35 kDa)を欠損した *Chl B mutant*にも、このキャリアータンパクの存在が示され、このキャリアータンパクはFAタンパクとは異なるものであると推定された。

## 1pD16

脱窒光合成細菌のDMSO還元酵素の局在におけるモリブデンコファクターの関与

榊井秀雄・深瀬康子・佐藤敏生(広島大・理・植物)

脱窒光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* f. s. *denitrificans*のDimethylsulfoxide呼吸末端還元酵素(DMSOR)はモリブデンコファクター(Mo-co)を1分子持つペリプラズミック酵素である。この酵素は分子量84 kDaの前駆体として合成され、細胞膜を透過して82 kDaの成熟体となる。前回この膜輸送にはモリブデンが必要であることを示した。本実験ではDMSO呼吸欠損変異株を分離して、その変異株のMo-coを定量しDMSORの膜輸送とMo-coのアポ酵素への挿入の共役の関係を調べた。

DMSO呼吸欠損変異株はクロレート抵抗性株として得、Mo-coは *Neurospora crassa nit-1*株の硝酸還元活性の再構成によって調べた。前駆体と成熟体の解析はイムノプロットングで行なった。得られた変異株はI. Mo-coの生合成の変異と思われるもの、II. クロレート非存在下ではMo-co、酵素活性共に正常なもの、III. その他、に分けられた。Iに属する菌株では前駆体が細胞質や細胞膜に蓄積し、成熟体への変換が抑制されていた。その細胞膜に蓄積した前駆体の大部分は細胞質側に残っていることがproteinasin K処理によって示された。これは前駆体の膜輸送が抑制されていることを意味する。これらのことからMo-coのアポ酵素への挿入と膜輸送が密接に共役していることが示唆された。

## 1pD17

オシロイバナ由来リボゾーム不活性化蛋白質 (MAP) は自身のリボゾームをも不活性化する  
片岡二郎、羽深典之、宮野雅司、増田 税、小岩井晃  
(JT生命研)

種々の植物よりリボゾーム不活性化蛋白質 (RIP) が得られており、リシン、トリコサンチン、PAP等が良く知られている。我々は既にオシロイバナ由来RIP (MAP) のcDNAをクローニングし大腸菌内で発現させた。またMAPは大腸菌のリボゾームも不活性化する唯一のRIPであることも明らかにした。

今回オシロイバナよりリボゾームを単離し、MAPの持つN-グルコシダーゼ活性(25SrRNAの一箇所の特異的アデニンを引き抜くこと)について検討したのでその結果を報告する。オシロイバナより単離したリボゾームをアニリン処理後電気泳動したところ、新たなバンドが認められ、その抽出段階において既にMAPにより特異的アデニンが引き抜かれていることがわかった。MAPの認識する特異的アデニンは、原核および真核生物で完全に保存された12塩基中にある。オシロイバナのrRNA中でこの領域を含む部分をPCR法でクローニングし塩基配列を決定後、rRNAの塩基配列を決定することにより確認したところ、オシロイバナでもこの領域が完全に保存されていることが明らかになった。

オシロイバナのリボゾームは細胞が破壊された状態では自身のRIPにより不活性化を受けるわけで、オシロイバナは通常MAP前駆体のシグナル配列を利用しこれを局在化させることにより、その活性を免れていることが示唆される。

## 1pE01

ショ糖により活性化されるrolC遺伝子  
プロモーター領域の解析

内宮博文、 広瀬哲郎、 菅谷純子1

(北海道大学・理・植物、1 筑波大学・生物科学)

我々はRiプラスミドのrolC遺伝子が単子葉、双子葉植物の師部細胞で特異的に発現する事を報告した。本研究ではrolCプロモーターの発現調節に関与する外的シグナルを調べる目的でレポーター遺伝子を有するトランスジェニックタバコ植物を用いて種々の解析を行った。その結果ショ糖により誘導されるシスのDNAエレメントが本プロモーター上に存在する事を見出した。すなわちタバコのseedlingを0.4Mのショ糖を含んだ培地でインキュベートすると経時的にrolCプロモーターの活性化が認められた。しかし同じモル濃度のソルビトールで処理した場合、促進効果は認められなかったことより、浸透圧ではなく、ショ糖の代謝が関与しているものと考えられる。またレポーター遺伝子であるGUSの活性変化のタイムコースを検討したところ、約24時間のラグフェーズを経てGUSの活性が上昇する事が明らかになった。又、ショ糖処理したseedlingを器官ごとに分け、GUS活性を測定したところ、主として子葉や胚軸においてショ糖による誘導が確認された。次に5'上流を欠失したプロモーターを用いて同様の実験を行ったところ-192bpまで欠失させた変異体でショ糖による誘導が認められた。その近傍にはATに富んだ配列が存在し、ポテトのクラス-Iパタチン遺伝子プロモーターの一部と相同である事が示された。

## 1pE02

イネにおける *rolC* プロモーター結合タンパク質の認識配列

松木吏弓、金谷 潔、加藤 敦<sup>1</sup>、内宮博文<sup>1</sup>

(筑波大 生物、<sup>1</sup> 北大 理 植物)

我々は、単子葉植物であるイネにおける *rolC* 遺伝子プロモーターの転写制御に関する研究を進めている。本プロモーターのトランスジェニックイネにおける発現に関しては、すでに報告した。本研究では、イネの *rolC* 遺伝子の組織特異的な発現に関わる調節因子を検出する事を目的に、ゲルシフト分析によって *rolC* プロモーター領域と特異的に結合する核タンパク質の検出を行った。葉、およびカルスより抽出したいずれの核タンパク質中にも、特異的 DNA 断片(転写開始点(+1)より-94 bp から +23bp を含む)と結合する因子が検出された。そのタンパク質が結合する塩基配列を決定するために、DNase I フットプリント法を行った。その結果、葉とカルス双方の核タンパク質中に -76 から -66 の領域を DNase I の分解から保護する因子が存在することが示された。さらに上流域の DNA 断片についてゲルシフト分析を行ったところ、葉の核タンパク質からは、結合因子が検出されたが、カルスでは検出されなかった。DNase I フットプリント法の結果、-203 から -164 の AT 含量の高い領域が DNase I の分解から保護されることが示された。イネにおいては *rolC* プロモーターの発現が葉で強くカルスではほとんど見られないことから、この領域に結合する核タンパク質が正の転写因子である可能性が示唆された。

## 1pE03

ニンジン培養細胞の核タンパク質にみられる遺伝子プロモーター結合能

鈴木章弘・加藤敦之・内宮博文(北大・理・植)

我々は、すでにRiプラスミド *rolC* プロモーターに結合する植物核タンパク質の存在を、種々の植物や器官を用いて報告した。本研究では、*rolC* 5'上流域の一本鎖DNAに結合するタンパク質の存在を示唆するデータが得られたので、報告する。

まず、ニンジン培養細胞(カルス又は不定胚)を液体窒素中で磨砕し、0.25Mショ糖を含むバッファー(pH7.9)を用い、遠心後粗核画分を得た。つぎに、0.5M(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>を含むバッファーでタンパク質を溶出した。硫酸塩析後、沈殿物をバッファーに懸濁し、0.1MKClを含むバッファーで透析したものを、核タンパク質として用いた。

*rolC* 5'上流域(約130塩基対)を熱変性した後、急冷したものをプローブDNAとしてゲルシフト検定を行なった。その結果、プローブDNAを熱変性した場合には、熱変性を行なわないものに比べ、新しいDNA-タンパク質の複合体が認められた。また、各種DNAとの競合実験により、認められたDNA-タンパク質の複合体は、そのDNA断片に特異的であることが示唆された。

さらに、そのタンパク質との結合領域を含む一本鎖DNA(Top strandとBottom strand)を調整し、ゲルシフト検定を行なったところ、一本鎖DNA結合タンパク質の存在が明らかとなった。

現在、このタンパク質が認識すると思われる塩基配列や高次構造について解析を行なっている。

## 1pE04

ニンジンEmbryogenic Cell Protein (ECP31) のcDNAクローニングと発現の解析

○清未知宏、篠崎和子<sup>1</sup>、篠崎一雄<sup>1</sup>、佐藤忍、鎌田博、  
原田宏 (筑波大・生物、<sup>1</sup>理研・遺伝子解析)

ECP31は不定胚形成能を獲得したニンジン培養細胞 (Embryogenic Cell) に多く存在し、胚発生の進行とともに消失していく細胞内蛋白質である (Plant Physiol. 1991)。今回我々はニンジンEmbryogenic CellからcDNAライブラリーを作成し、ECP31をコードしているcDNAを単離した。プローブとしては、部分的に決定されたECP31のアミノ酸配列をもとに合成オリゴヌクレオチドプライマーを作成し、cDNAをテンプレートとしたPCRにより増幅された600bpのフラグメントを用いた。単離されたcDNAはシーケンスの結果、256アミノ酸をコードしており、その産物の分子量は26.1kと算出され、これまでにプロテインシーケンサーを用いて決定されたECP31のアミノ酸を総て有していた。得られたcDNAクローンの配列でデータベースとの相同性の検索を行ったところ、ワタのLEA (Late Embryogenesis Abundant) D34と高い相同性を持っていることが判明した (塩基配列のレベルで48%、アミノ酸配列のレベルで62%)。これはLEA D34のホモログが他の植物で単離された最初の例である。又、ニンジン植物体を使ってNorthern Blot Analysisを行ったところ、ECP31 mRNAは、ワタの場合と同様に、種子発生の後期に多く検出された。

## 1pE05

イネ wx 座遺伝子 -- 組織特異性および種子登熟過程における発現 --

平野博之、佐野芳雄 (国立遺伝研)

wx 座はイネ種子胚乳中のアミロース合成を支配している。wx 座の表現型や遺伝子型は容易に判定できるため、高等植物の中では遺伝学的解析に適した遺伝子座である。我々はイネ wx 座の遺伝子をクローン化するとともにこの遺伝子産物 (Wxタンパク質) に対する抗体を調製してきた。本年度では、組織特異性と種子登熟過程におけるイネ wx 座の遺伝子発現について報告する。

組織特異性に関しては、胚乳 (種子) および花粉 (葯) で特異的に発現していること、花粉における発現量は胚乳の約2%であること、特異性は転写レベルで制御されていることなどが明らかになった。胚乳と花粉とは機能も発生学的起源も全く異なる器官であり、その核相も通常の体細胞とは異なり3nとnである。この明らかに分化している二つの細胞で wx 座遺伝子の発現のスイッチがONになり、他の体細胞でOFFになる分子メカニズムは非常に興味深い。

イネの wx 座は種子登熟過程において、時期特異的に発現していることが明らかとなった。wx 座の転写産物は受粉後13-18日目以最も多く存在し、23日目以降ではほとんど検出されなかった。イネ種子の完熟には約40日要するが、Wxタンパク質は7日目から20日目頃までにほぼ直線的に蓄積された。これは転写産物が大量に存在する期間に相当するとともに、デンプン画分が直線的に増加する期間と一致した。

## 1pE06

ヒヤクニチソウ管状要素分化に特異的に発現する遺伝子の解析

出村 拓・福田裕穂（東北大・理・生物）

ヒヤクニチソウ (*Zinnia elegans* L. cv. Canary bird) の芽生えの第一葉から機械的に単離した葉肉細胞は、オーキシシン (NAA) とサイトカイニン (BA) を含む分化培地で培養することにより高頻度 (30-40%) かつ同調的 (培養開始後55時間から70時間) に管状要素 (tracheary element: TE) に分化する。

この実験系では、培養開始後48時間目に形態的な細胞の変化に先立ち、分化に特異的なタンパク質が合成される。我々はこのような管状要素分化の初期に合成されるタンパク質をコードする遺伝子の単離を考え、培養開始後48時間目の細胞の poly(A)<sup>+</sup>RNA から cDNA library を作製した。この cDNA library を用い、分化培地及び BA 濃度を 1/1000 にした非分化培地で48時間培養した細胞の poly(A)<sup>+</sup>RNA からプローブを調製して differential screening を行った。その結果、分化細胞で強く発現する5種類の遺伝子を cDNA として単離することができた。この cDNA からプローブを調製して分化過程におけるこれらの遺伝子の発現パターンをノーザンプロットハイブリダイゼーションにより解析した。そして、いずれの遺伝子の mRNA も分化培地で培養した細胞でのみ、培養後48時間目頃から大量に蓄積されることが明らかになった。現在、それぞれの cDNA の塩基配列の決定を行っているところである。

## 1pE07

ヒヤクニチソウ管状要素分化におけるチューブリン遺伝子の発現

吉村敏彦、高瀬恭子、出村拓、福田裕穂（東北大・理・生物）

ヒヤクニチソウの芽生えの第一葉から機械的に単離した葉肉細胞は、オーキシシン (NAA) とサイトカイニン (BA) を含む分化培地で培養することにより、高頻度かつ同調的に管状要素に分化する。この管状要素分化に微小管が重要な役割を果たすが、微小管量は分化過程で顕著に増加し、この増加が構成成分であるチューブリンの合成の調節により制御されていることをすでに報告した。今回我々は分化過程におけるチューブリン mRNA の発現量の変動を調べるとともに、ヒヤクニチソウのチューブリン遺伝子の単離を試みた。

分化培地及び非分化培地で培養した細胞から mRNA を単離し、シロイヌナズナの  $\beta$ 1 チューブリン遺伝子をプローブとしてノーザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、分化誘導細胞で多量のチューブリン mRNA が発現することがわかり、その発現は培養後48時間目以降強くなった。次に分化培地で48時間培養した細胞の poly(A)<sup>+</sup>RNA をもとに作製した cDNA ライブラリーから、先のプローブを用いてチューブリン cDNA をもつクローンのスクリーニングを行った結果、最終的に7個のポジティブクローンを単離することができた。制限酵素地図の比較から3種の異なるチューブリン cDNA が存在することがわかり、この時期に少なくとも3種のチューブリン mRNA が発現していることが明らかになった。現在、cDNA の塩基配列の決定を行っており、これも合わせて報告する。

## 1pE08

Tiプラスミド *tmr* 遺伝子プロモーターによる発現特性の解析

○猪口雅彦、斎宮晃、近藤弘清（岡山理大・生物化学）

*Agrobacterium tumefaciens* によって植物ゲノム中に導入される、Tiプラスミドの T-DNA 領域の遺伝子は当初、他生物由来であることなどから、構成的発現をするものと信じられていたが、近年いくつかの T-DNA 遺伝子の発現について、組織特異性や発生時期特異性などが示された。このことは、T-DNA 遺伝子も植物側の調節因子 (*trans*-acting factor) によって認識される調節領域配列 (*cis*-acting factor) を持つことを示すと考えられる。T-DNA 遺伝子のうち、植物ホルモン合成系の酵素をコードする *tms* (オーキシン合成) 及び *tmr* (サイトカイニン合成) の両遺伝子座は形質転換組織内の両ホルモン含量を上昇させるが、各々のホルモン含量は、*tms* 及び *tmr* を同時に導入した場合に比べ、各々の遺伝子座を単独で導入した組織内の方が高いことがタバコなどで報告されている。石川等の報告<sup>1)</sup>によるとニンジン形質転換組織ではオーキシン量は一定となるが、サイトカイニン含量はタバコと同様の変化を示し、*tms* 遺伝子による *tmr* 遺伝子の発現制御が示唆される。そこで我々は、*tmr* 遺伝子のプロモーター領域を  $\beta$ -glucuronidase (GUS) 遺伝子に結合した融合遺伝子 (*Ptmr*-GUS) を作成し、タバコ及びニンジンに導入して発現特性を解析している。今回我々は、タバコ形質転換体における *Ptmr*-GUS の発現の組織特異性について報告する。 <sup>1)</sup>K. Ishikawa et al. Plant Cell Physiol. 29:461-466 (1989)

## 1pE09

*Enterobacter cloacae* の IAA 生合成遺伝子の単離

○古賀仁一郎、足立堯、日高秀昌（明治製菓・生物科学研）

インドール酢酸 (IAA) は最も代表的な植物ホルモンであるにもかかわらず、その主な IAA 生合成経路であるインドールピルビン酸を経由する経路は未だに解明されていない。これはこの生合成経路の中間体であるインドールピルビン酸とインドールアセトアルデヒドが非常に不安定なためである。

生育の良好なキュウリの根圏から分離された *Enterobacter cloacae* は、トリプトファン (Trp) の代謝産物として IAA を生産することが確かめられた。この菌は、Trp 添加液体培地において 1 mg/ml にも及ぶ多量の IAA を生産し、その生合成経路はインドールピルビン酸を経由する経路であることが示唆された。そこで、この生合成経路を解明する目的で *Enterobacter cloacae* からの IAA 生合成遺伝子の単離を試みた。その結果、IAA 生合成経路の第 2 ステップであるインドールピルビン酸デカルボキシラーゼをコードする遺伝子の単離に成功したので、この遺伝子と IAA 生合成の制御機作について報告する。