

日本植物生理学会1992年度年会

および

第32回シンポジウム

講演要旨集



Proceedings of the Annual Meeting and 32nd Symposium
Japanese Society of Plant Physiologists
Kumamoto, 1992

1992年3月29日(日)～3月31日(火)

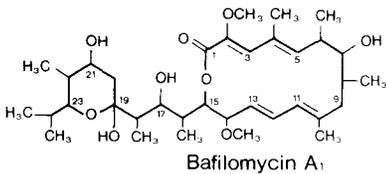
熊本大学教養部

日本植物生理学会

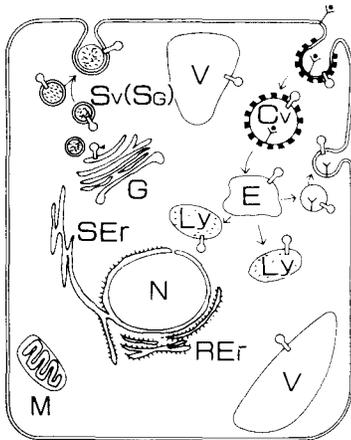
極めて強力で特異性の高い
液胞型H⁺-ATPase (Vacuolar H⁺-ATPase, V-ATPase)の
阻害剤

Bafilomycin A₁

酸性顆粒の機能、endo-並にexocytosisが関与する現象の機構解明に御利用下さい。
適用(応用)されるのは先生です。



M.W.: 622.84



Cv 被覆小胞
E エンドソーム
G ゴルジ体
Ly リソソーム
M ミトコンドリア
N 核
RER 粗面小胞体
SEr 滑面小胞体
Sv(Sg) 分泌顆粒
V 液胞(空胞)
V V-ATPase

★利用が考えられる研究分野

- 情報伝達(内化)機構
インターナリゼーション、
レセプターのリサイクリング
- 貧食とリソソーム水解機構
- 骨の消化と形成機構
- 神経伝達機構
- 生合成・分泌顆粒の代謝機構
- 細胞内輸送機構
- ウイルス、原虫などの感染機構
- 植物・真菌空胞の機能
などなどなど……

V-ATPaseに対する阻害作用はnMレベルです。
高濃度(μM以上)でもF-ATPase, P-ATPase阻害は部分的です。

関連試薬

糖タンパク細胞内転送阻害薬

Brefeldin A

研究用試薬

日本植物生理学会1992年度年会

お よ び

第32回シンポジウム

シンポジウム

- I. 植物二次代謝の新しい展開
- II. 光合成研究の将来—第9回国際光合成会議に向けて—
- III. 植物の背丈を支配する遺伝子の発現機構
- IV. 果実の成長・成熟における物質代謝の分子生物学的アプローチをめざして
- V. 植物の生殖機構を巡って

会期：1992年3月29日（日）～3月31日（火）

会場：熊本大学教養部

（熊本市黒髪2丁目）

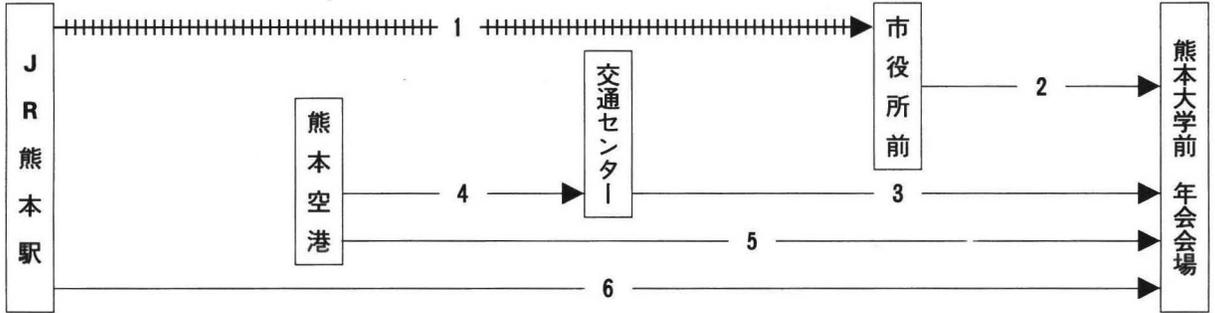
日本植物生理学会

交通の御案内

〔年会会場〕

植物生理学会の年会会場となる熊本大学教養部は、熊本市北東部の黒髪（くろかみ）キャンパスの中にあります。年会

会場までの主な交通手段は以下の通りですが、市内の移動はタクシーが便利です（1000円程度）。



- 1：熊本市電（路面電車）にて「市役所前」で下車，約15分（140円）。市電進行方向左手すぐに「市役所前」バス停。
- 2：「市役所前」バス停より，熊本市営バス（緑に白色）にて，「竜田口・武蔵塚駅前⑧，楠団地⑧」行あるいは，産交バス（青に白色）にて，「子飼・三里木経由大津・吹田団地 C-1，子飼・陳内経由大津・吹田団地 C-2，武蔵ヶ丘団地 C-6」行に乗車し，約20分（150円）。タクシーでは，約20分（900円程度）。
- 3：交通センターにて，熊本市営バスは28番乗り場から「竜田口・武蔵塚駅前⑧，楠団地⑧」行，あるいは，産交バスは8番乗り場から「子飼・三里木経由大津・吹田団地 C-1，子飼・陳内経由大津・吹田団地 C-2，武蔵ヶ丘団地 C-6」行に乗車し約25分（170円）。

- 4：空港ターミナルビル前より，空港リムジンバスにて交通センターまで約45分（670円）。タクシーでは3500円程度。
- 5：空港ターミナルビル前より，タクシーにて約40分（3500円程度）。
- 6：タクシーで年会会場まで，約25分（1300円程度）。

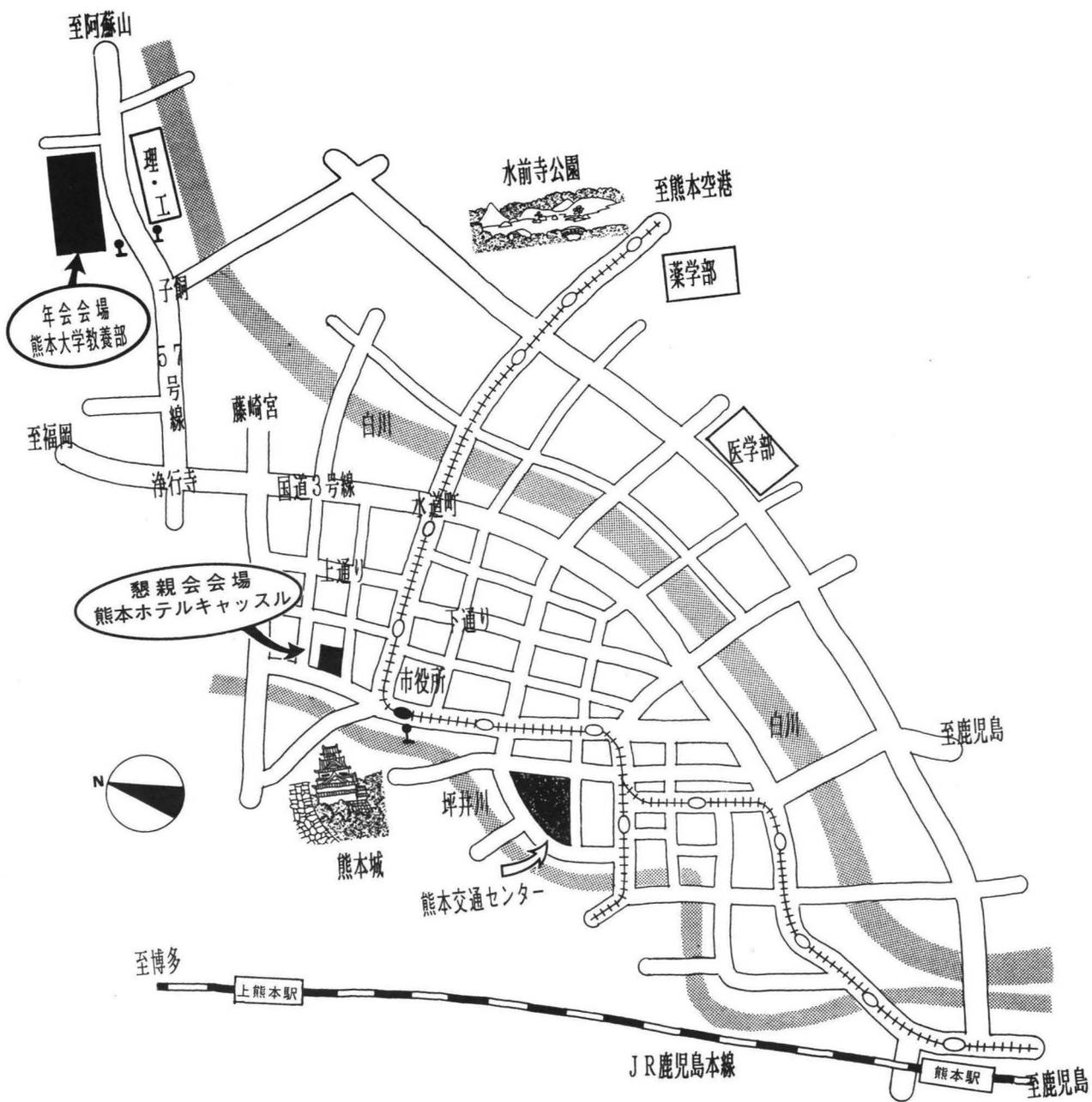
※タクシーで来場される方は，「熊大赤門」から入構して下さい。

※帰りは，熊本市営バスの「上熊本⑧」行を除けば，熊本大学前から全てのバスにて通町筋（とおうちょうすじ），市役所前，交通センター方面へ行けます。なお，繁華街へは，通町筋下車（150円）が便利です。

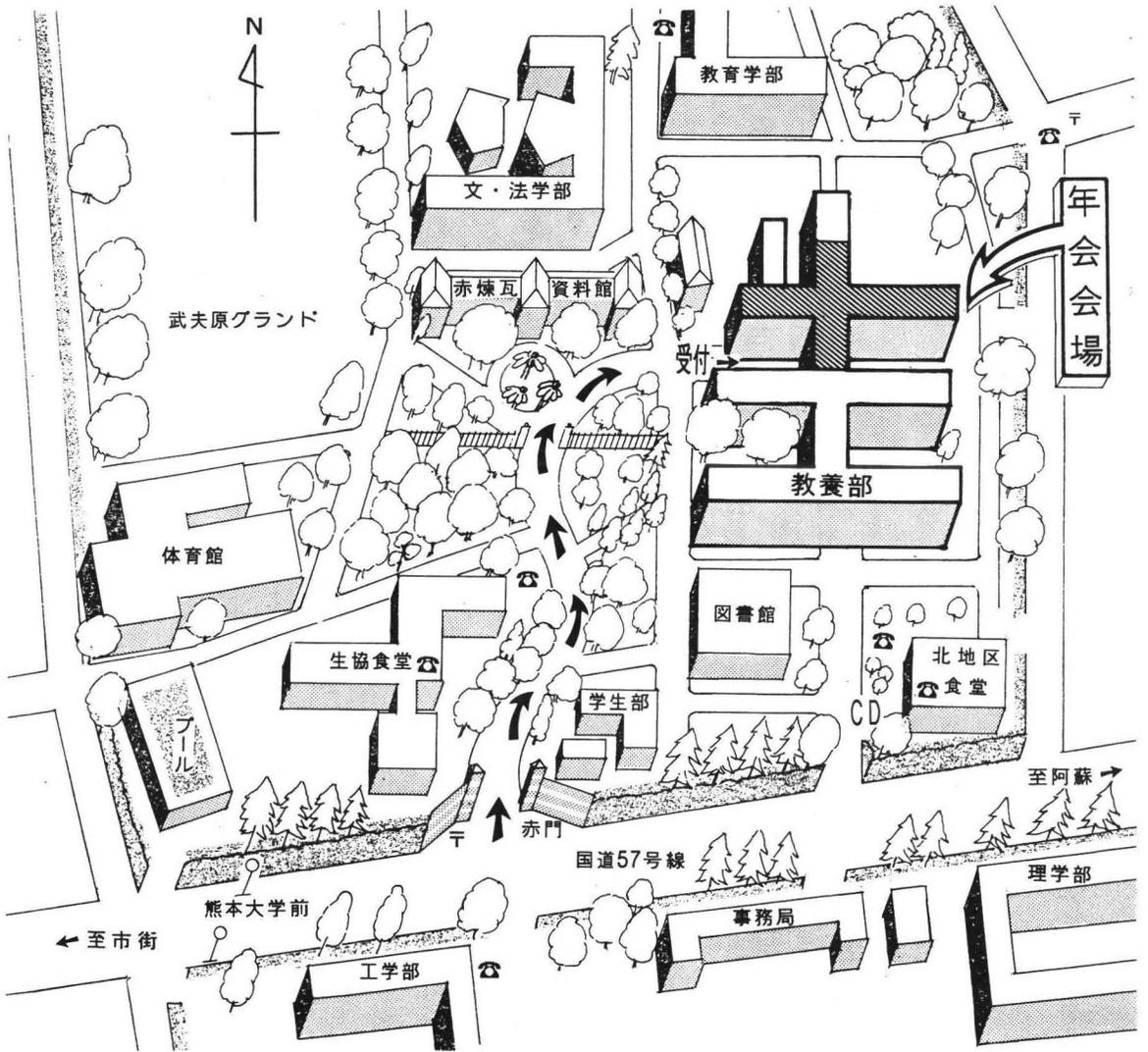
〔懇親会会場〕

会場の熊本ホテルキャッスルへは，市役所前下車（徒歩3分）が便利です。

熊本市街略図



熊本大学黒髪地区案内図



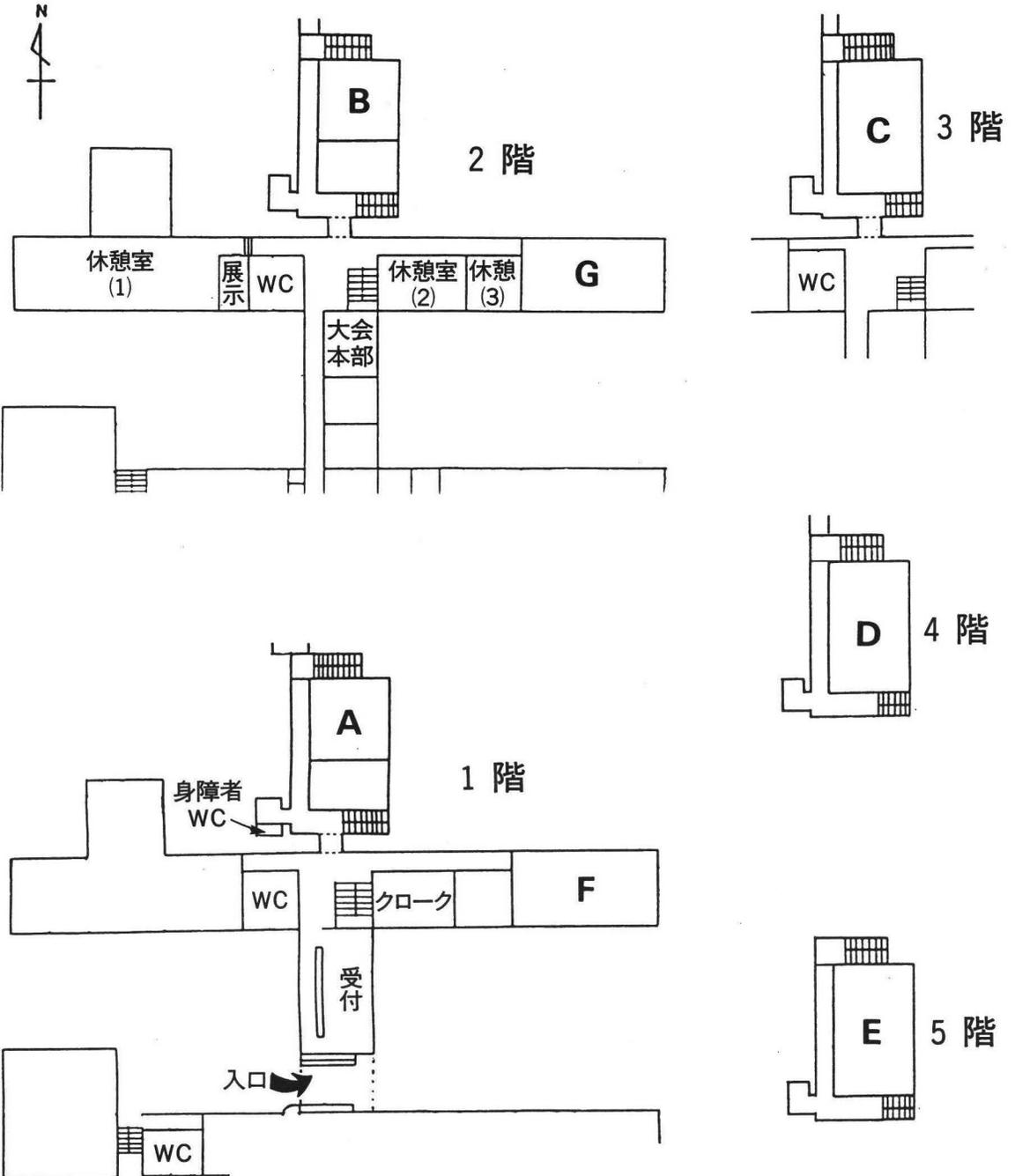
☎ : 公衆電話

〒 : 郵便ポスト

CD : キャッシュディスペンサー

🚏 : バス停

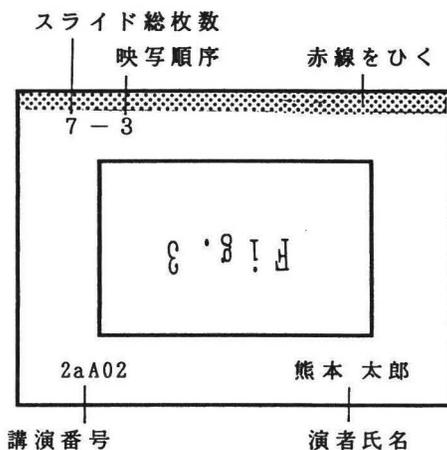
会場配置図
(教養部講義棟)



◎講演者へのお願い

本学会会則第4条2項により、年会の研究発表の演者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。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。講演終了後はその日のうちに早めに係からお受け取り下さい。
3. スライドは35ミリに限ります。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. 重複して使用するスライドは必ず同じものを必要枚数作り、映写順序に用意して下さい。
5. OHP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。



◎参加者へのお願いとお知らせ

1. 「受付」で、講演要旨集、名札、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. 年会実行委員と会場係はリボンをつけています。
4. 「受付」付近に連絡板を設けますのでご利用下さい。
5. 第1、第2休憩室には湯茶、コーヒー等を用意しますので、ご利用下さい。
6. 会場1階にクロックを設置します。クロックの開設時間は次のとおりです。

第1日目 8時30分～18時30分

第2日目 8時30分～18時

第3日目 8時30分～13時30分

夜間は管理できませんので、2日にわたる預け入れはお断りします。

7. 駐車場は用意しません。
8. 弁当の販売コーナーを、「受付」付近に設置する予定です。
なお、大学構内の食堂（生協食堂、北地区食堂）もご利用できます。
9. 年会についての問い合わせは下記をお願いします。

年会準備委員会：〒860 熊本市黒髪2-39-1

熊本大学理学部生物科学教室

電話 (096) 344-2111

(内線、石倉3438, 吉玉3439)

Fax (096) 345-4196

委員長 石倉 成行

◎関連会議

編集実行委員会	3月28日(土)	16時～17時	教養部第2会議室
編集委員会	3月28日(土)	17時30分～20時	教養部第2会議室
常任評議員会	3月29日(日)	12時～13時	教養部第1会議室
評議員会	3月29日(日)	18時～21時	教養部第1会議室
総会	3月30日(月)	16時40分～17時40分	G会場

◎懇親会

3月30日(月) 18時30分～20時30分 熊本ホテルキャッスル
(Tel 096-326-3311)

懇親会を申し込んでおられない方も当日参加を受けますので、ご希望の方は、当日の午前中までに「受付」にお申し込み下さい。

◎関連集会

「植物生理若い研究者の会」

3月29日(日) 17時～18時30分 G会場

世話人：久堀 徹(横浜市立大・文理・生物)

川上 直人(横浜市立大・木原生物研)

講演 「光による気孔開孔機構」

島崎研一郎(九州大・教養・生物)

◎年会会期中の呼び出しについて

年会に出席されている方への外部からの連絡は、下記の電話にお願いします。伝言は「受付」付近の連絡板に掲示しますが、講演が行われている会場での呼び出しは行いません。

Tel 030-19-23991 熊本市から 160 km 以内

Tel 040-19-23991 熊本市から 160 km 以遠

◎おことわり

プログラム編集にあたり、講演申し込み者のご要望に沿うよう出来るだけ努めました。ご不満の点もあるかと存じますが、ご容赦くださるようお願いいたします。

日 程 表

月日	会場	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
3月 29日 (日)	A	生 体 膜				電 気 生 理 / 細 胞 培 養							
	B	光 生 物 学				オ ル ガ ネ ラ							
	C	成長調節物質(I)				成長調節物質(II) 植物・微生物相互作用							
	D	分子生物学(I)				ス ト レ ス (I)							
	E	分子生物学(II)				形 態 形 成							
	F	光 合 成 (I)				シ ン ポ ジ ウ ム II							
	G	シ ン ポ ジ ウ ム I				シ ン ポ ジ ウ ム III				植物生理 若手の会			
3月 30日 (月)	A	栄養・転流・水分生理				タンパク質・酵素(II)				(会場・熊本ホテルキャッスル) 懇 親 会			
	B	細 胞 壁				ス ト レ ス (II)							
	C	タンパク質・酵素(I)				分 子 生 物 学 (V)							
	D	分 子 生 物 学 (III)				光 合 成 (IV)							
	E	分 子 生 物 学 (IV)				光 合 成 (V)							
	F	光 合 成 (II)				シ ン ポ ジ ウ ム IV							
	G	脂質／光合成(III)				分 子 生 物 学 (VI)							
3月 31日 (火)	A	成 長 制 御											
	B	細 胞 骨 格 / 代 謝											
	C	光 合 成 (VI)											
	D	分 子 生 物 学 (VII)											
	E	分 子 生 物 学 (VIII)											
	F	シ ン ポ ジ ウ ム V											
	G	光 合 成 (VII)											
月日	会場	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20

シンポジウムⅠ 第1日 3月29日(日) G会場

「植物二次代謝の新しい展開」

世話人 石倉 成行 (熊本大・理・生物科学)
駒嶺 穆 (東北大・理・生物)

- 9:00 はじめに 駒嶺 穆 (東北大・理・生物)
- 9:20 1aG01 フラボノイドの構造修飾のメカニズム——メチル化及び配糖体化
座長 駒嶺 穆 (東北大・理・生物)
石倉 成行 (熊本大・理・生物科学)
- 9:50 1aG02 環境適応反応としての紫外光によるフラボノイド合成の誘導
座長 原 康弘 (三井石油化学工業)
武田 幸作 (東京学芸大・生物)
- 10:20 1aG03 アントシアニン合成系の発現制御
座長 武田 幸作 (東京学芸大・生物)
小関 良宏 (東京大・教養・生物)
- 10:50 1aG04 アルカロイド生合成制御の分子生物学
座長 小関 良宏 (東京大・教養・生物)
山田 康之・佐藤 文彦・橋本 隆 (京都大・農・農芸化学)
杉本 幸裕 (花王・栃木研)
- 11:20 1aG05 植物細胞の大量培養における環境制御と二次代謝産物の生産
座長 山田 康之 (京都大・農・農芸化学)
原 康弘 (三井石油化学工業)
- 11:50 総合討論 座長 石倉 成行 (熊本大・理・生物科学)

シンポジウムⅡ 第1日 3月29日(日) F会場

「光合成研究の将来——第9回国際光合成会議に向けて——」

世話人 佐藤 公行(岡山大・理・生物)
村田 紀夫(基生研)

- 13:00 まえおき 浅田 浩二(日本植物生理学会会長)
- 13:10 1pF01 光合成と環境応答 座長 和田敬四郎(金沢大・理・生物)
村田 紀夫(基生研)
- 13:50 1pF02 光合成の生合成経路 座長 金井 龍二(埼玉大・理・生化)
杉山 達夫(名古屋大・農・農化)
- 14:30 1pF03 光エネルギー変換系 座長 西村 光雄(九州大・理・生物)
井上 頼直(理研)
- 15:10 1pF04 光合成研究の一局面 座長 渡辺 昭(名古屋大・農・生化制御)
——“好大気汚染物質植物”(Air-Pollutant-Philic Plant)の開発へ向けて
森川 弘道・鎌田 光宣・檜垣 朝・濃野 昌子
・中田 政司(広島大・理・植物)
- 15:50 総合討論 座長 佐藤 公行(岡山大・理・生物)

シンポジウムⅢ 第1日 3月29日(日) G会場

「植物の背丈を支配する遺伝子の発現機構」

世話人・座長 勝見 允行 (国際基督教大・生物)

- 13:00 1pG01 はじめに——植物の背丈を調節する過程
勝見 允行 (国際基督教大・生物)
- 13:20 1pG02 矮性突然変異による細胞壁成分の化学変化
倉石 晋 (広島大・総合科学)
- 13:58 1pG03 ジベレリン生合成における矮性発現
神谷 勇治 (理研・フロンティア植物)
- 14:36 1pG04 フィトクロムによる伸長成長の制御
——突然変異と遺伝子導入植物から得られる知見
長谷あきら (理研・フロンティア植物)
- 15:14 1pG05 *rolC* 遺伝子による矮性発現の分子機構 内宮 博文 (東京大・応微研)
- 15:52 1pG06 矮性発現と情報伝達系——*ras* 関連遺伝子 (*rgp1*) の役割
佐野 浩 (秋田農短大・生物工研)

シンポジウムⅣ 第2日 3月30日(月) F会場

「果実の成長・成熟における物質代謝の分子生物学的アプローチをめざして」

世話人 山木 昭平 (名古屋大・農)
南川 隆雄 (東京都立大・理)

13:00 はじめに 山木 昭平 (名古屋大・農)

座長 山木 昭平 (名古屋大・農)

13:10 2pF01 果実の成熟と異常——細胞壁, カルシウムの観点から
°田中 敬一・福元 将志 (農水省・果樹試)

13:40 2pF02 インゲンマメ果実成熟におけるシンク・ソース関係
°南川 隆雄・山内 大輔 (東京都立大・理)

座長 今関 英雅 (名古屋大・農)

14:10 2pF03 果実への糖集積関連酵素——ソルビトール代謝について
°金山 義則・山木 昭平 (名古屋大・農)

14:40 2pF04 メロン・セリンプロテアーゼの合成様式と cDNA の構造
°山形 裕士・増沢 拓也・岩崎 照夫 (神戸大・農)

座長 南川 隆雄 (東京都立大・理)

15:10 2pF05 果実における酸性インベルターゼアイソザイムの性質と構造
°佐藤 隆英・岩坪 友義・中川 弘毅 (千葉大・園芸)
小倉 長雄 (千葉大・園芸)・森 仁志 (基生研)

15:40 2pF06 果実の成長, 追熟と共に発現している ACC 合成酵素アイソザイムについて
°森 仁志 (基生研)・中川 直樹 (名古屋大・農)
・今関 英雅 (名古屋大・農)

「植物の生殖機構を巡って」

世話人 原田 宏(筑波大・生物)
鎌田 博(筑波大・遺実セ)

- 生殖成長への転換 座長 藤伊 正(筑波大・生物)
- 9:00 3aF01 タバコに含まれる花芽形成物質の探索研究 丸茂 晋吾(名古屋大・農)
- 9:40 3aF02 花芽形成開始機構への分子遺伝学的アプローチの現状
米田 好文(東京大・遺実セ)
- 討論者 谷本 静史(佐賀大・農)
- 配偶子の分化 座長 関谷 次郎(京都大・農)
- 10:20 3aF03 雄性不稔性の分子機構 三上 哲夫(北海道大・農)
- 11:00 3aF04 植物における減数分裂の研究と展開
小林 敏之・田畑 哲之・堀田 康雄(名古屋大・理)
- 討論者 田中 一朗(横浜市大・文理)
- 受精及び胚発生の機構 座長 福田 裕穂(東北大・理)
- 11:40 3aF05 アブラナ科植物の自家不和合性：S 遺伝子と S 糖タンパク質の構造と変異
日向 康吉(東北大・農)・磯貝 彰(東京大・農)
渡辺 正夫・盧 一燮(東北大・農)
- 12:20 3aF06 細胞の不定胚形成能に関するタンパク質の検索
京 正晴(香川大・農)・鎌田 博(筑波大・生物)
- 討論者 佐藤 忍(筑波大・生物)

第1日 3月29日(日) <午前の部>

A会場 生体膜

- 9:00 1aA01 イネ細胞膜 H⁺-ATPase cDNA のクローニング
 °和田雅人, 高野誠¹, 笠毛邦弘² (筑波大・生物, ¹農水省・生資研, ²農水省・食総研)
- 9:15 1aA02 ホソバノハマアカザ培養細胞の耐塩性
 °中町美香子, 間藤徹, 関谷次郎 (京大・農化・植栄)
- 9:30 1aA03 海産ラフィド藻 *H. akashiwo* 細胞膜 ATPase の cDNA の解析
 °和田雅人, 庄野真理子, 浦山修¹, 原論吉¹, 井川洋二¹, 佐藤忍, 藤伊正 (筑波大・生物, ¹東京医歯大・医・生化)
- 9:45 1aA04 細胞壁に結合した細胞膜領域の存在——18 KDa 膜タンパク質の挙動——
 °後藤康成, 佐藤忍, 藤伊正 (筑波大・生物)
- 10:00 1aA05 細胞性粘菌の細胞接着タンパク質 gp64 の3次構造とツニカマイシン処理
 齊藤玉緒, 中田宣之, 山根聖巳, 熊崎隆¹, 福沢雅志, 落合廣 (北大・理・植物, ¹薬)
- 10:15 1aA06 大麦根液胞膜の P_{Pi} 依存 H⁺ ポンプ活性の制御に対する細胞内 Ca²⁺ の関与
 °葛西身延, 佐々木昌生, 山本洋子, 松本英明 (岡大・資生研)
- 10:30 1aA07 病原菌によるエンドウ病害抵抗性の制御 (2) ポリホスホイノシチド代謝系の関与
 豊田和弘, °白石友紀, 一瀬勇規, 山田哲治, 奥八郎 (岡山大・農・植病)
- 10:45 1aA08 トウモロコシ根のリン酸輸送系 I. 原形質膜小胞による取り込み
 °下河原浩介, 臼田秀明 (帝京大・医)
- 11:00 1aA09 キクイモ塊茎組織のカルス誘導への細胞膜 H⁺-ATPase の関与
 長谷昭 (北海道教育大・函館・生物)
- 11:15 1aA10 液胞膜 H⁺-ATPase 活性へのリン脂質分子種及び関連脂質の影響
 °山西弘恭, 笠毛邦弘 (農水省・食品総合研究所)
- 11:30 1aA11 NBD-Cl の CF₁αβγ 複合体への結合と活性阻害
 °鍵田文子, 笠毛邦弘 (農水省・食品総合研究所)
- 11:45 1aA12 イネ K-1 細胞膜及び液胞膜 H⁺-ATPase の酵素活性と膜流動性の関係
 °新谷俊通, 笠毛邦弘¹, 太田英二 (慶大・理工, ¹農水省・食総研)

B会場 光生物学

- 9:00 1aB01 気孔の青色光効果におけるカルモジュリン依存性ミオシン軽鎖キナーゼの関与
 °島崎研一郎, 木下俊則¹, 西村光雄¹ (九大・教養・生物, ¹九大・理・生物)
- 9:15 1aB02 気孔孔辺細胞 26 KDa 蛋白質の近赤外光による脱リン酸化と暗所におけるリン酸化
 °木下俊則, 島崎研一郎¹, 西村光雄 (九大・理・生物, ¹九大・教養・生物)
- 9:30 1aB03 エンドウ 121 KDa フィトクロム光変換中間体の吸収スペクトル測定
 岩上淳, 吉沢直也¹, °井上康則¹, 浜口宏夫², 真鍋勝司 (横浜市大・文理・生物, ¹東理大・理工・応生, ²神奈川科技アカデミー)
- 9:45 1aB04 Immunochemical analysis of phyA and phyB protein in aurea mutant of tomato
 °R. Sharma, E. López, A. Nagatani, R. E. Kendrick¹, M. Furuya (FRP, RIKEN Institute, ¹Agricultural Univ., Wageningen)
- 10:00 1aB05 西洋わさび毛状根からの不定芽形成における光の効果と光受容体の検出
 °齋藤力, 鎌田博, 原田宏, 渡辺正勝¹, 徳富哲¹ (筑波大・生物, ¹基生研)
- 10:15 1aB06 フィトクロムのトリプトファン残基に対する化学修飾部位の検討——Pr と Pfr における違い——
 °中澤美紀, 真鍋勝司 (横浜市大・生物)
- 10:30 1aB07 クロレラ白色変異体のカリウムイオン放出に対する赤色光効果
 神谷明男 (帝京大・薬・化学)
- 10:45 1aB08 紅色酵母 *Phototorula minuta* の UV-B 照射による脂質抽出効率の増大
 °秦恵, 橋本徹 (神戸大・理・生物)

第1日 3月29日(日) <午前の部>

- 11:00 1aB09 UV-B 吸収物質 Chromosaponin I の分解と酸化還元電位
°辻野義雄, 鶴見誠二, 橋本徹¹ (神戸大・自然科学, ¹神戸大・理)
- 11:15 1aB10 アラスカエンドウの暗発芽第3節間の ATP-GTP (NTP) 結合蛋白質と光信号伝達の分子機構
°蓮沼仰嗣, 浜田徹, W. R. Briggs¹ (横浜市大・木原生研, ¹カーネギー研・植物部門)
- 11:30 1aB11 アカパンカビの ATP-GTP (NTP) 結合蛋白質と光信号伝達の分子機構
°小田和司, 蓮沼仰嗣 (横浜市大・木原生研)
- 11:45 1aB12 ヤエナリ黄化幼葉の ATP-GTP (NTP) 結合蛋白質と内在性 ADP-リボシル化酵素
°蓮沼仰嗣, 浅井久恵¹, 今関英雅¹ (横浜市大・木原生研, ¹基生研)

C会場 成長調節物質 (I)

- 9:00 1aC01 ノルエビネフリン (NE) 由来の花成誘導物質 I. 熱処理による NE の活性化
°瀧本敦, 貝原純子¹ (京都生物学研究所, ¹京大・農・応用植物研)
- 9:15 1aC02 ノルエビネフリン (NE) 由来の花成誘導物質 II. 植物体との接触による NE の活性化
°貝原純子, 篠崎真輝, 瀧本敦¹ (京大・農・応用植物研, ¹京都生物学研究所)
- 9:30 1aC03 タバコ培養細胞 BY-2 の細胞周期に対するオーキシン類の影響
°網野真一, 長田敏行 (東京大・理・植物)
- 9:45 1aC04 水中並びに気中培養イネ幼葉鞘の成長とオーキシン含量
°保尊隆享, 増田芳雄¹, P. E. Pilet² (大阪市大・理・生物, ¹帝塚山短大・食品, ²ローザンヌ大)
- 10:00 1aC05 ヤマザクラ系およびエドヒガン系における IAA 関連物質の存在と作用
°早乙女真紀, 福地佳子, 栗本優美子, 趙徳以, 川口正代司¹, 橋和丘陽², 石井幸夫³, 中村輝子 (日本女子大, ¹東大・教養, ²島津, ³森林総研)
- 10:15 1aC06 オートムギ幼葉鞘切片の成長に対するジャスモン酸の阻害作用: 細胞壁合成に対する影響
°上田純一, 宮本健助, 桃谷好英, 神阪盛一郎¹ (大阪府大・総合科学, ¹大阪市大・理)
- 10:30 1aC07 かぼちゃ根導管液の不定根形成と葉の伸長に対する効果
°永井猛, 佐藤忍, 藤伊正 (筑波大・生物)
- 10:45 1aC08 花粉に存在するブラシノステロイドの免疫細胞化学的解析
J. M. Sasse, P. Taylor, 横田孝雄¹ (メルボルン大学・植物, ¹帝京大・理工)
- 11:00 1aC09 クレス発芽種子の他感作用物質
°長谷川宏司, 天野みどり, 水谷純也, 小瀬村誠治¹, 山村庄亮¹ (新技術事業団・水谷植物情報物質プロジェクト, ¹慶応大・理工)
- 11:15 1aC10 トウモロコシ芽生えにおけるオーキシン活性抑制物質の単離と同定
°長谷川宏司, 東郷重法¹, 浦島三真子, 水谷純也, 小瀬村誠治², 山村庄亮² (新技術事業団・水谷植物情報物質プロジェクト, ¹鹿児島純心女子高, ²慶応大・理工)

D会場 分子生物学 (I)

- 9:00 1aD01 コムギヒストン H1 遺伝子の構造と発現制御
°田岡健一郎¹, 藤本宜充², 三上浩司³, 南真樹¹, 川田健文³, 岩瀨雅樹^{1,3} (¹京大・理・植物, ²日本石油(株), ³基生研・発生生物)
- 9:15 1aD02 コムギ転写因子 HBP-1a および HBP-1b 遺伝子の発現制御
°桂真昭¹, 藤本宜充², 三上浩司³, 川田健文³, 岩瀨雅樹^{1,3} (¹京大・理・分子植物, ²日本石油(株), ³基生研・発生生物)
- 9:30 1aD03 トランスジェニック・アラビドプシスにおけるダイズ 7S 種子貯蔵タンパク質遺伝子の発現制御
°内藤哲, 平井(横田)優美¹, 茅野充男¹, 米田好文 (東大・遺伝子, ¹農・農芸化学)
- 9:45 1aD04 ダイズ種子貯蔵タンパク質の種子特異的発現制御に関わる *cis* 因子の同定
藤原徹, 茅野充男, Roger N. Beachy¹ (東大・農・農化, ¹スクリプス研究所)

第 1 日 3 月 29 日 (日) <午前の部>

- 10:00 1aD05 トランスジェニックイネのゲノムに挿入されたトウモロコシ転移因子 Ds の構造
宮崎力, °中井淨, 水谷恵子, 橋本尚子¹, 島本功¹, 飯田滋 (東京理科大・基礎工, ¹植工研)
- 10:15 1aD06 絞り花アサガオの新転移調節因子の単離
稲垣善茂¹, °久富恵世, 鈴木徹也, 井阪有一, 笠原基知治, 宮崎力, 飯田滋 (東京理科大学・基礎工, ¹薬)
- 10:30 1aD07 トウモロコシ PEP カルボキシンラーゼ遺伝子の発現様式——シス・トランス因子——
村上 (嘉納) ゆり子¹, 沼沢達夫², 松岡信³ (¹農水省・果樹試, ²日本ゼオン, ³農水省生物研)
- 10:45 1aD08 イネにおける C₄ 光合成遺伝子の発現様式——PPDK 遺伝子について——
松岡信¹, 多田雄一², 藤村達人², 田切明美¹ (¹農水省・生物研, ²三井東圧化学)
- 11:00 1aD09 ジャスモン酸に応答する大豆リボキシゲナーゼ遺伝子の構造
°加藤友彦, 白野由美子, 柴田大輔 (三井植物バイオ研)
- 11:15 1aD10 PR1 タンパク質遺伝子の発現調節
°西宮聡, 大島正弘¹, 上野敬一郎², 野口貴³, 廣近洋彦¹, 大橋祐子¹ (茨城園試, ¹農水省・生物研, ²鹿児島バイテク研, ³東京農試)
- 11:30 1aD11 ニコチアナ属の種間雑種における PR1 を含むストレスタンパク質遺伝子の非制御的発現
°大橋祐子, 大島正弘, 伊藤博孝¹, 松岡信, 渡辺紳一郎, 村上高, 細川大二郎² (農水省・生物研, ¹カゴメ総研, ²東京農工大)
- 11:45 1aD12 CaMV 35S およびタバコ PR1a gene プロモーターを基本とした高発現プロモーターカセット
°光原一朗, 宇垣正志, 西宮聡¹, 上野敬一郎², 大島正弘, 廣近洋彦, 大橋祐子 (農水省・生物研, ¹茨城園試, ²鹿児島県バイオテク研)

E会場 分子生物学 (II)

- 9:00 1aE01 パーティクルガン法による遺伝子導入様式の解析 (1) ——細胞内の金粒子の位置と遺伝子発現の関係
°山下稔哉, 服部悦子, 関原明¹, 飯田精一², 千葉謙介³, 森川弘道 (広島大・理, ¹京大・農, ²高菱エンジニアリング, ³(株)東京ライフル)
- 9:15 1aE02 パーティクルガン法による遺伝子導入様式の解析 (2) ——細胞内の金粒子の位置におよぼす粒子サイズと加速圧力の効果
°服部悦子, 山下稔哉, 飯田精一¹, 渡辺耕一郎², 千葉謙介³, 森川弘道 (広島大・理, ¹高菱エンジニアリング, ²(株)徳力本店, ³(株)東京ライフル)
- 9:30 1aE03 パーティクルガンによる花粉細胞への外来遺伝子の導入と発現——導入条件・花粉発達段階の効果
°西原昌宏, 伊藤道夫¹, 京正晴², 田中一朗³, 小野莞爾⁴, 今村順⁵, 森川弘道 (広島大・理, ¹静岡大・理・生物, ²香川大・農, ³横浜市大・文理・生物, ⁴熊本大・理・生物, ⁵植工研)
- 9:45 1aE04 パーティクルガンによる植物細胞への mRNA の導入と発現
°田中俊憲, 西原昌宏, 坂本敦¹, 田中国介¹, 田中一朗², 伊藤道夫³, 森川弘道 (広島大・理, ¹京府大・農化, ²横浜市大・文理・生物, ³静岡大・理・生物)
- 10:00 1aE05 パーティクルガンによる葉緑体への GUS 遺伝子の導入と発現
°重本直樹, 関原明¹, 澤崎達也, 杉浦昌弘², 杉田護², 小野莞爾³, 滝尾進, H. U. Koop⁴, 森川弘道 (広島大・理, ¹京都大・農, ²名古屋大・遺伝子, ³熊本大・理, ⁴Univ. Munich)
- 10:15 1aE06 パーティクルガンによるトランスジェニックシロイヌナズナ植物の育成 (2) : NPT II 遺伝子の導入
°関原明¹, 重本直樹, 入船浩平, 今村順², 米田好文³, 山田康之¹, 森川弘道 (広島大・理, ¹京大・農, ²植工研, ³東大・遺伝子実験施設)
- 10:30 1aE07 パーティクルガンによるトランスジェニックシロイヌナズナ植物の育成 (3) : 除草剤 (ピアラフォス) 耐性遺伝子の導入
°澤崎達也, 関原明¹, 重本直樹, 鎌田光宜, 米田好文², 森川弘道 (広島大・理, ¹京大・農, ²東大・遺伝子実験施設)
- 10:45 1aE08 パーティクルガン法により得られた形質転換植物染色体における外来遺伝子組み込み様式の解析
°清水克哉, 入船浩平, 飯田朝子¹, 森川弘道 (広島大・理, ¹住化・生命研)

第1日 3月29日(日) <午前の部> <午後の部>

- 11:00 1aE09 *ダイズ種子におけるグリシン遺伝子プロモーター/ターミネーター活性の測定*
 °飯田朝子, 長澤秋都, 田中俊憲¹, 森川弘道¹, 大江田憲治(住友化学・宝塚総研, ¹広島大・理・植物)
- 11:15 1aE10 *2つのヒマカタラーゼ遺伝子の異なった発現制御*
 °鈴木雅晴, 服部東穂¹, 旭正(名大・農・農化, ¹三重大・遺伝子実験施設)
- 11:30 1aE11 *ニンジン不定胚分化過程における elongation factor 1 α (EF-1 α) 遺伝子の発現*
 川原良一, 福田裕穂, 駒嶺稔(東北大・理・生物)
- 11:45 1aE12 *クラミドモナス細胞壁溶解酵素は, 動物コラゲナーゼファミリーと類似の機能ドメインを持つ*
 °木下哲, 福澤秀哉¹, 松田吉弘(神戸大・理・生, ¹京都大・農・農化)

F会場 光合成(I)

- 9:00 1aF01 *再構成クロロソームにおける色素の配向構造と励起エネルギー移動*
 °廣田雅光, 西村賢宣¹, 山崎巖¹, 三室守², 松浦克美, 嶋田敬三(都立大・理・生物, ¹北大・工, ²基生研)
- 9:15 1aF02 *クロロソームにおけるバクテリオクロロフィル分子の配向と高次構造モデル*
 °松浦克美, 廣田雅光, 嶋田敬三, 三室守¹(都立大・理・生物, ¹基生研)
- 9:30 1aF03 *好気性光合成細菌 *Roseobacter denitrificans* の低温における励起エネルギー転移*
 嶋田敬三, 廣田雅光, 西村賢宣¹, 山崎巖¹, 三室守²(都立大・理・生物, ¹北大・工・合化工, ²基生研)
- 9:45 1aF04 *緑藻オオハネモ LHC II のクロロフィルフォームとエネルギー転移*
 °中山克己, 三室守¹, 岡田光正(東邦大・理・生物分子, ¹基生研)
- 10:00 1aF05 *バクテリオクロロフィル a の三重項励起 (T₁) 状態の溶媒効果*
 °南城則行, 西澤榮一, 小山泰(関西学院大・理・化学)
- 10:15 1aF06 *溶液中および *R. sphaeroides* 2, 4, 1 の色素蛋白複合体中のスフェロイデンの S₁ および T₁ 状態のラマンスペクトル*
 °丸鬼導隆, Richard J. Cogdell¹, 小山泰(関西学院大・理, ¹グラスゴー大・植物)
- 10:30 1aF07 *褐藻光捕捉系のタンパクの構造*
 °加藤哲也, 田中歩(京大・理・植)
- 10:45 1aF08 *褐藻光捕捉系のフコキサンチンの存在状態*
 °浜野拓也, 加藤哲也, 三室守¹(京大・理・植, ¹基生研)
- 11:00 1aF09 **Rhodobacter sphaeroides* の色素蓄積に対する青色光阻害効果欠損ミュータントの解析*
 °島田裕士, 塩井祐三, 高宮建一郎(東工大・生命理工・生体機構)
- 11:15 1aF10 *高等植物黄化組織のジビニル-プロトクロロフィルドの存在量とその変動*
 °塩井祐三, 高宮建一郎(東工大・生命理工・生体機構)
- 11:30 1aF11 *Bchl 中間代謝物質蓄積に対する光と酸素の影響*
 土井道生(宮崎医大・生物)
- 11:45 1aF12 *ゲラニルゲラニルクロロフィルを蓄積するイネ突然変異体の色素タンパク質組成と光合成活性*
 °小林善親, 川上恭一, 西本悦子, 三小田崇¹, 岩田伸夫¹(九大・農・林学, ¹九大・農・育種)

第1日 3月29日(日) <午後の部>

A会場 電気生理/細胞培養

- 13:00 1pA01 *シヤジクモ原形質膜の Ca²⁺ 依存性 Cl⁻ チャンネル: calmodulin の及ぼす効果*
 °沖原清司¹, 大川和秋², 葛西道生¹(¹大阪大・基礎 I・生物工, ²大阪大・教養・生物)

第1日 3月29日(日) <午後の部>

- 13:15 1pA02 シャジクモ節間細胞の膜電位に及ぼす局所麻酔剤の影響
 °大川和秋, 野坂修一¹, 沖原清司², 吉川清³ (阪大・教養・生物, ¹滋賀医大・麻酔, ²阪大・基工・生物, ³大阪成人病センター・麻酔科)
- 13:30 1pA03 Chara 節間細胞表面の H⁺・Cl⁻ の空間的分布
 緒方惟昭 (産医大医短・生化)
- 13:45 1pA04 車軸藻細胞膜において Cl⁻ エフラックスを引き起こす細胞内 Ca²⁺ の作用機作
 °三村徹郎, 新免輝男 (姫路工大・理・生命)
- 14:00 1pA05 シャジクモ及びオオカナダモにおける光, 酸負荷, アルカリ負荷による細胞質 pH と膜電位の変化
 °岡崎芳次, 田沢仁¹, 岩崎尚彦 (大阪医大・教養・生物, ¹福井工大・応用理化学)
- 14:15 1pA06 車軸藻類における原形質流動の停止と活動電位
 °島田希代, 平本幸男, 菊山宗弘 (放送大学・生物)
- 14:30 1pA07 ツユクサ生葉における細胞電位及びイオン濃度の三次元分布解析
 °斉藤美佳子, 松岡英明, 根本泰行 (東京農工大・工・応用生物)
- 14:45 1pA08 バッチクランプ法によるタバコ培養細胞原形質膜のイオンチャンネルの同定とその特性
 °村田芳行, 小尾一郎, 角谷忠昭 (京都大・農・農化)
- 15:00 1pA09 塩ストレス下にあるタバコ培養細胞原形質膜のイオンチャンネルと Ca²⁺ 結合挙動
 °小尾一郎, 村田芳行, 角谷忠昭 (京都大・農・農化)
- 15:15 1pA10 タバコ培養細胞液胞膜の電圧依存性 K⁺, Ca²⁺ および Cl⁻ チャネル
 張平, 矢部勇, 武藤尚志 (東京大・応微研)
- 15:30 1pA11 苔類培養細胞による peroxidase の細胞外蓄積
 太田喜元, 中河原俊治, 郭沢建, 隅谷有子 (PCC テクノロジー・山崎研究室)
- 15:45 1pA12 *Glycyrrhiza echinata* 培養細胞における 6'-deoxychalcone の酵素的合成
 原納究, 岡田典子, 古野哲郎, 高橋武美, °綾部真一 (日大・農獣医・応用生物)
- 16:00 1pA13 タバコの馴化細胞, 遺伝的腫瘍における Ngrol 遺伝子群の発現の解析
 °青木誠志郎, 市川尚斉, 関根政実¹, 新名惇彦¹, 庄野邦彦 (東大・教養・基礎 I, ¹阪大・工・応用生物学)
- 16:15 1pA14 イネ培養細胞の凍結保存性に関連したタンパク質に関する研究
 °渡辺克美, 佐藤文彦¹, 山田康之¹, 河合文雄, 金森正雄 (財・環境科学総合研, ¹京大・農・農化)
- 16:30 1pA15 カルス誘導と細胞伸長に伴った水ポテンシャル場の変化
 °池田敬, 野並浩, 越智竜雄¹, 福山寿雄, 橋本康 (愛媛大・農, ¹末広産業)
- 16:45 1pA16 ニンジンの培養細胞からの不定胚形成に伴った細胞の水分状態の変化
 °野並浩, 前島昭博, 福山寿雄, 橋本康 (愛媛大・農)
- 17:00 1pA17 苗条再分化が温度感受性を示すシロイヌナズナ変異株の解析
 °保谷泉, 小澤正一, 杉山宗隆, 駒嶺穆 (東北大・理・生物)
- 17:15 1pA18 ニンジン不定胚形成系に於ける内生 ABA 量及び ABA 関連遺伝子発現の変動
 °清末知宏, 篠崎和子¹, 篠崎一雄¹, 中嶋正敏², 山口五十磨², 佐藤忍, 鎌田博, 原田宏 (筑波大・生物, ¹理研・植物分子, ²東大・農化)
- 17:30 1pA19 培養植物体における γ 線照射の影響
 °今泉和光, 戸塚良直, 米倉博子, 小田茂 (PL 学園女子短期大学・植物研)

B会場 オルガネラ

- 13:00 1pB01 緑化過程における *Euglena* プラスチドコード蛋白質合成の DCMU による特異的促進
 福田功¹, °椎名隆, 豊島喜則 (¹広島大・総合科学, 京大大学院・人間・環境学)
- 13:15 1pB02 酵母液胞におけるタンパク分解とその生理的役割
 °大隅良典, 大隅萬里子¹ (東大・教養・生物, ¹西東京科学大)
- 13:30 1pB03 酵母自食作用胞の膜に特異的なタンパク質の解析
 坪井滋, 大隅良典 (東京大・教養・生物)

第 1 日 3 月 29 日 (日) < 午後の部 >

- 13:45 1pB04 緑化培養細胞の光独立栄養性について (X) : 葉緑体の微細構造と色素組成の変動
竹田恵美, 井田和子, 前田晶美, 松島久¹, 金子康子¹, 佐藤文彦², 山田康之² (大阪女子大・基礎理, ¹埼玉大・理・生体制御, ²京大・農・農化)
- 14:00 1pB05 イネにおいて未分化プラスチドの葉緑体への変換は葉の発生段階に特異的に依存する
°射場厚, 高宮建一郎¹, 藤義博, 佐藤光², 西村光雄 (九大・理・生物,¹ 東工大・生理工・生機構,² 九大・農・遺伝子)
- 14:15 1pB06 講演取消
- 14:30 1pB07 カボチャ葉緑体に存在する 70 kD 熱ショックタンパク質—Hsp70
°槻木竜二, 西村幹夫 (基生研・細胞生物, 総合研究大学院大学・生命科学)
- 14:45 1pB08 葉緑体へのタンパク質の輸送機構の解析—トランスジェニックアラビドプシスを用いる試み
°吉田裕紀子, 渡辺昭 (名古屋大・農・生化学制御)
- 15:00 1pB09 葉緑体チラコイドへのタンパク質輸送
°小西智一, 渡辺昭 (名古屋大・農・生化学制御)
- 15:15 1pB10 粒子銃を用いた緑藻クラミドモナス葉緑体遺伝子への特異的突然変異の導入
°高橋裕一郎, M. Goldschmidt-Clermont¹, J.-D. Rochaix¹ (岡山大・理・生物, 大学院自然科学研究科, ¹ジュネーブ大学)
- 15:30 1pB11 セラニウム斑入り葉における色素体分化の解析
°渡辺昇, 関口文彦¹, 松岡英明, 根本泰行 (東京農工大・工・物質生物, ¹日本女子大・家政・家政理)
- 15:45 1pB12 登熟カボチャ子葉における輸送小胞の免疫組織化学的解析
°西村幹夫, 武内由佳, 井上香織, 西村いくこ (基生研・細胞生物)
- 16:00 1pB13 複数種の液胞タンパク質プロ型前駆体のプロセッシングに関与する酵素—Vacuolar processing enzyme
°西村いくこ, 井上香織, 西村幹夫 (基生研・細胞生物)
- 16:15 1pB14 CAM 植物葉の液胞膜に存在するイオンチャンネルの制御と細胞内コンパートメント
°岩崎郁子, 荒田博行, 楠見健介, 西村光雄 (九大・理・生物)
- 16:30 1pB15 発芽ヤエナリ種子子葉の α -アミラーゼ合成における ER の関与
°肥塚信也, 千葉一弘, 田中喜之¹, 諸橋征雄 (東京農工大・農, ¹農水省・生物資源研究所)
- 16:45 1pB16 ヤエナリ胚軸の核マトリックス・核膜タンパク質組成
°大平万里, 前島正義 (北大・低温研)
- 17:00 1pB17 2 次元電気泳動で分離した植物のオルガネラ特異的タンパク質のキャラクタリゼーション
°川崎信二, 佐藤征弥¹, 宮本勝² (新技術事業団・生物研, ¹科技厅・生物研, ²茨大・農・農化)
- 17:15 1pB18 ヒマ登熟期にみられる脂質転移タンパク質の挙動
長船哲斉, 坪井滋¹, 佐藤八十八¹, °山田晃弘² (東京医大・微生物, ¹東大・教養, ²北海道東海大・工)
- 17:30 1pB19 ユリ花粉母細胞に特異的核タンパク質 PMCP の結合様式について
°佐々木揚, 原田宏¹ (秋田県林業技術センター, ¹筑波大・生物)

C会場 成長調節物質 (II) / 植物-微生物相互作用

- 13:00 1pC01 Benzoyl-cyclohexanedione 型化合物の作用機構 (第 2 報)
°高木真佐江, 保坂秀夫, 田中歩, ¹辻英夫 (日本曹達 (株)・小田原研, ¹京都大・理・植物)
- 13:15 1pC02 キュウリ子葉における 5-アミノレプリン酸合成のサイトカイニンによる促進機構
°増田建¹, C. G. Kannangara², 辻英夫 (京都大・理・植物, ¹東工大・生命理工, ²Carlsberg Laboratory, Denmark)
- 13:30 1pC03 メロンおよびリンゴ実生の可溶性オーキシン結合タンパク質の性質
李泰昊, °金山喜則, 鈴木久人, 酒井慎吾¹, 山本昭平 (名古屋大・農・園芸, ¹筑波大・生物)

第 1 日 3 月 29 日 (日) < 午後の部 >

- 13:45 1pC04 モモ茎頂部からの可溶性オーキシン結合タンパク質の精製
 菊池幹之, °大宮あけみ, 林建樹, 酒井慎吾¹ (農水省・果樹試験場, ¹筑波大・生物)
- 14:00 1pC05 Mung bean 胚軸に存在する新しいオーキシン結合タンパク質に関する研究
 °菅谷純子, 千葉美智雄, 酒井慎吾 (筑波大・生物)
- 14:15 1pC06 植物におけるインドールアセトアミドを経由するオーキシン生合成経路の検出
 °川口正代司, 藤岡昭三¹, 桜井成¹, 八巻良和², 庄野邦彦 (東京大・教養・基礎科, ¹理化学研究所, ²東京大・農・果樹試)
- 14:30 1pC07 オーキシン誘導型 ACC 合成酵素の遺伝子は二つ以上存在する
 °中川直樹¹, 山崎健一¹, 森仁志², 今関英雅^{1,2} (¹名大・農・生化学制御, ²基生研・情報制御)
- 14:45 1pC08 トマトおよびカボチャ由来の ACC 合成酵素の存在様式——単量体と二量体について
 °佐藤茂, 森仁志¹, 今関英雅¹ (東北大・教養・生物, ¹基生研・情報制御)
- 15:00 1pC09 メロン果実の ACC 合成酵素の cDNA のクローニング
 °三木健, 中川弘毅, 小倉長雄, 森仁志¹, 今関英雅¹, 佐藤隆英 (千葉大・園芸, ¹基生研)
- 15:15 1pC10 海洋シアノバクテリア抽出物によるニンジン不定胚の幼植物体形成促進
 °和気仁志¹, 小関良宏², 下村講一郎³, 松永是¹ (¹東京農工大・工・物質生物, ²東大・教養・生物, ³国立衛試・筑波)
- 15:30 1pC11 クリカボチャおよび *G. fujikuroi* からのカウレン合成酵素の精製
 °斎藤臣雄, 中山康行, 神谷勇治¹, 山根久和, 室状旭, 桜井成¹, 高橋信孝¹ (東大・農化, ¹理研)
- 15:45 1pC12 クロレラウイルスのゲノム解析
 °山田隆, 下前淳子, 古川誠治 (広島大・工・醸酵)
- 16:00 1pC13 クロレラウイルスの感染プロセス解析
 °下前淳子, 古川誠治, 山田隆 (広島大・工・醸酵)
- 16:15 1pC14 クロレラウイルスのタンパク質解析
 古川誠治, 下前淳子, 山田隆 (広島大・工・醸酵)
- 16:30 1pC15 *Phaseolus vulgaris* 毛状根への *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* の感染
 °井伊辰也, 東四郎, 阿部美紀子, 内海俊樹 (鹿児島大・理・生物)
- 16:45 1pC16 クローバ根粒菌の nod-genes のクローニング
 小林不二夫, 東四郎, 内海俊樹, 阿部美紀子 (鹿児島大・理・生物)
- 17:00 1pC17 ダイズ根粒におけるアデニンヌクレオチドの代謝について
 柴田高明, °手塚修文 (名古屋大・農・園芸)

D会場 ストレス (I)

- 13:00 1pD01 塩ストレス状態のモヤシマメ幼根細胞における細胞質および液胞内 pH の変化
 °中村善行, 笠毛邦弘¹, 坂田亮², 太田英二 (慶大・理工, ¹農水省・食総研, ²杏林大・医学)
- 13:15 1pD02 *In vitro* 下における液胞膜 H⁺-ATPase の低温失活の機構
 °吉田静夫, 母坪研巳 (北大・低温研)
- 13:30 1pD03 植物の低温順化に伴う呼吸活性ならびに酸素発生能の変化
 貞包治夫 (尚絅短期大学)
- 13:45 1pD04 植物培養細胞の細胞質 pH に及ぼす二酸化炭素の影響
 矢崎芳明, 坂野勝啓 (農水省・生物研)
- 14:00 1pD05 脱水ストレスで誘導されるイネ遺伝子の解析
 °高橋良二¹, 原田真理子, 北川良親 (秋田農短大・生工研, ¹農水省・北農試)
- 14:15 1pD06 ハードニングにより誘導される *Chlorella* 遺伝子のクローニング
 °城斗志夫, 小吹千景, 船橋淳, 吉元誠, 波多野昌二 (九大・農・食化工)
- 14:30 1pD07 イネ幼苗の低温処理による遺伝子発現の誘導
 °加藤明, 吉田均 (北海道農業試験場)

第 1 日 3 月 29 日 (日) <午後の部>

- 14:45 1pD08 紫外線照射の生長阻害作用における波長および温度依存性
 °竹内裕一・池田幸子 (北海道東海大・工・生物工学)
- 15:00 1pD09 大麦のベタインアルデヒド脱水素酵素の cDNA クローニング
 °石谷学, 荒川圭太, 高倍鉄子 (名大・農・制御)
- 15:15 1pD10 緑藻の光合成に及ぼす H₂O₂ の影響
 °武田徹, 重岡茂, 横田明穂¹, 平山修, 光永俊郎 (近畿大・食栄, ¹大阪府大・農化)
- 15:30 1pD11 タバコ培養細胞のリン酸欠乏によるアルミニウムストレス耐性獲得機構の検討
 °山本洋子, 豆塚弘毅, 小野寛治, 葛西身延, 松本英明 (岡山大・資生研)
- 15:45 1pD12 近紫外線照射時における *Anacystis nidulans* R-2 での GroESL の発現
 柴田均, °馬場克也, 澤嘉弘, 落合英夫 (島根大・農・生物機能学)
- 16:00 1pD13 ホウレン草に対する UV-B 照射の効果 I. 活性酸素消去系の誘導について
 °柴田均¹, 鈴木優子¹, 内藤陽子², 本田雄一² (¹島根大・農・生物機能学, ²環境生物学)
- 16:15 1pD14 無酸素下のイネおよび小麦種子におけるデンプン分解
 P. Perata, J. Pozueta-Romero, 山口淳二, 赤沢堯 (名大・農・生化学制御)
- 16:30 1pD15 CO₂ ストレス等に伴うタバコ培養細胞内遊離 Ca²⁺ 濃度変化
 °辻淳憲, 松岡英明, 根本泰行 (東京農工大・工・応用生物工学)
- 16:45 1pD16 小麦幼葉鞘の成長と細胞壁組成に対する水ストレスの影響
 °若林和幸, 保尊隆享, 神阪盛一郎, 中山尚美¹ (大阪市大・理・生物, ¹香川大・教育)
- 17:00 1pD17 光独立栄養培養細胞株の環境ストレス耐性について
 °佐藤文彦, 室田憲一, 竹田恵美, 山田康之 (京都大・農)
- 17:15 1pD18 抗ファイトンデロフォア (ムギネ酸類) モノクローナル抗体の作製と応用
 °三橋秀一, Lawrence J. Sikora¹, Jeffrey S. Buyer¹, 伏谷眞二², 森敏 (東京大・農・農芸化学,
¹米国農務省, ²東北大・薬・生物薬品)
- 17:30 1pD19 太陽光感受性イネ突然変異株における可視光と温度の影響
 °布施拓市, 射場厚, 佐藤光¹, 西村光雄 (九州大・理・生物, ¹九州大・農・遺伝子)

E会場 形態形成

- 13:00 1pE01 ホウライシダの原糸体成長におよぼす過重力の影響
 °笠原宏一, 柳谷一美, 竹内裕一, 山田晃弘 (北海道東海大・工・生物工学)
- 13:15 1pE02 イネの節間伸長高進性突然変異体
 中村郁郎 (国立遺伝学研究所)
- 13:30 1pE03 細胞骨格阻害剤及び低温処理のタマネギ根端分裂組織分裂準備 p34^{cdc2} 帯に及ぼす影響
 °峰雪芳宣, 山下正兼¹, 長濱嘉孝¹, 飯田秀利², 安楽泰宏² (広島大・理・植物, ¹基生研・生殖,
²基生研・細胞増殖)
- 13:45 1pE04 アラビドプシス茎頂における時間的/空間的突然変異 *acaulis* の低温感受性の解析
 °塚谷裕一, 荒木崇, 内藤哲, 米田好文 (東京大・遺伝子実験施設)
- 14:00 1pE05 シロイヌナズナの新しい光形態形成制御遺伝子座 *REM*
 °荒木崇, 塚谷裕一, 高橋卓, 内藤哲, 黒岩常祥¹, 米田好文 (東京大・遺伝子, ¹東京大・理・植
 物)
- 14:15 1pE06 キウリ胚軸表皮の気孔の成形に対する光の影響: 赤色光による副細胞の誘導
 °風間晴子, 森田康裕 (国際基督教大・生物)
- 14:30 1pE07 アサガオ子葉タンパク質の短日処理による変化
 °小野道之, 提公代, 安井強, 岡崎光雄, 原田宏¹ (信州大・織・応生, ¹筑波大・生物)
- 14:45 1pE08 アサガオの強光-低温開花におけるアスコルビン酸の役割
 篠崎眞輝, 小島泰弘¹, 平井伸博¹ (京大・農・応植, ¹京大・農・食工)
- 15:00 1pE09 アサガオの光周期的花成誘導における Ca²⁺ の関与
 竹能清俊 (東北大・農・園芸)

第1日 3月29日(日) <午後の部> 第2日 3月30日(月) <午前の部>

- 15:15 1pE10 アスパラガス花芽の化学誘導に対するホルモン類の影響
°阿部知子, 吉田茂男(理研)
- 15:30 1pE11 ニンジンのストレスによる不定胚誘導系における蛋白質パターンの変化
°立川佳伸, 鎌田博, 原田宏(筑波大・生物)
- 15:45 1pE12 ヒヤクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化におけるプロテアーゼ活性の発現
°南淳, 福田裕穂(東北大・理・生物)
- 16:00 1pE13 ヒヤクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換過程における修復型 DNA 合成の解析
°杉山宗隆, 駒嶺穆(東北大・理・生物)
- 16:15 1pE14 ミカヅキモの gametic protoplast 形成に機能する因子 1. 細胞間伝達物質 (PRIP) の誘導機構
°関本弘之, 猪木泰, 藤伊正(筑波大・生物科学)
- 16:30 1pE15 ミカヅキモの gametic protoplast 形成に機能する因子 2. 細胞間伝達物質 (PRIP) の作用機構
°関本弘之, 佐藤忍, 藤伊正(筑波大・生物科学)
- 16:45 1pE16 出芽酵母接合時に於ける突起形成能欠損変異株
°類藤徹也, 大隅良典(東大・教養・生物)
- 17:00 1pE17 生物時計の分子機構解明のための新しい実験系
近藤孝男(基礎生物学研究所)
- 17:15 1pE18 アカパンカビ生物時計遺伝子, prd-1, のクローニング
°秋山正志, 石浦正寛¹, 中島秀明(岡山大・理・生物, ¹基生研・細胞生物)
- 17:30 1pE19 アカパンカビ温度感受性変異株の生物時計の性質
五藤竜太, 加上律子, °中島秀明(岡山大・理・生物)

第2日 3月30日(月) <午前の部>

A会場 栄養・転流・水分生理

- 9:00 2aA01 キュリーポイントパイロリシス GC/MS による水稻種子の分析
°寒川喜三郎, 井上章子, 永野正(大阪府大・農)
- 9:15 2aA02 ニチニチソウ培養細胞の細胞外酸性ホスファターゼの精製とその性質
°城市篤, 新井康仁, 降旗敬, 桜井英博(早稲田大・教育・生物)
- 9:30 2aA03 ニチニチソウ培養細胞における無機リン酸取り込みの諸性質
°降旗敬, 新井康仁, 城市篤, 桜井英博(早稲田大・教育・生物)
- 9:45 2aA04 硝酸塩によるブドウ休眠芽の萌芽促進効果とアミノ酸代謝
鈴木章方(山梨大・教育・生物)
- 10:00 2aA05 イネ葉細胞質型グルタミン合成酵素の窒素転流における役割—細胞質グルタミン合成酵素の組織内局在性—
°蒲地一成, 山谷知行, 前忠彦, 小島邦彦(東北大・農・農化)
- 10:15 2aA06 イネのシンク組織における NADH 依存性グルタミン酸合成酵素タンパク質の免疫学的解析
°早川俊彦, 山谷知行, 前忠彦, 小島邦彦(東北大・農・農化)
- 10:30 2aA07 登熟過程の大豆種子における窒素同化酵素の分布
°増田亮一, 蒲地一成¹, 早川俊彦¹, 山谷知行¹, 小島邦彦¹(農水省・食総研, ¹東北大・農学・農化)
- 10:45 2aA08 イネの生育にともなう, 葉鞘のデンプン含量と炭水化物代謝関連酵素活性の変化
°渡辺嘉人, 中村保典¹, 石井龍一(東大・農, ¹農水省・生物資源研)
- 11:00 2aA09 タバコ培養細胞細胞壁におけるホウ素結合多糖の同定
°大野佳織, 間藤徹, 関谷次郎(京都大・農化・植栄)
- 11:15 2aA10 車軸藻類節間細胞の原形質流動におよぼす横向き遠心力
°上坪英治, 菊山宗弘¹(一橋大・生物, ¹放送大・生物)
- 11:30 2aA11 車軸藻類における巨大分子の細胞間輸送
°菊山宗弘, 原陽司, 島田希代, 丁大橋¹(放送大学・生物, ¹姫路工大・理・生命科学)

第2日 3月30日(月) <午前の部>

- 11:45 2aA12 ラン藻硝酸トランスロケーター欠損株におけるフィコビリソームタンパク質の蓄積と窒素栄養
 °澤木弘道, 杉山達夫(名大・農・農芸化)

B会場 細胞壁

- 9:00 2aB01 キウリ下胚軸細胞壁の成長パラメータに対する成長物質の効果
 °岡本尚, 山田章代, 勝見允行¹(横浜市立大・文理, ¹国際基督教大)
- 9:15 2aB02 成長する植物細胞壁に関する研究 I. ポプラ培養細胞のキシログルカナラーゼについて
 °中村信吾, 林隆久, 伊東隆夫(京大・木研)
- 9:30 2aB03 キシログルカンによるマイクロフィブリルの架橋構造
 °馬場啓一, 林隆久, 伊東隆夫, 曾根良昭¹, 三崎旭¹(京大・木研, ¹大阪市大・生活科学)
- 9:45 2aB04 オリゴサッカライドによる細胞壁キシログルカナラーゼのフィードバックアクチベーション
 °林隆久, 伊東隆夫(京大・木研)
- 10:00 2aB05 マンノオリゴ糖認識抗体を用いた免疫電顕によるグルコマンナン of イネ種子細胞壁中への蓄積の品種・組織特異性の解析
 賀来華江¹, 馬場啓一², 伊東隆夫², 渋谷直人¹(¹農水省・生物研, ²京大・木研)
- 10:15 2aB06 酸生長と細胞壁の力学的性質
 °水野暁子, 加藤潔¹(日本福祉大・女子短大, ¹名古屋大・理・生物)
- 10:30 2aB07 ニンジン細胞の分化状態によるペクチン様物質の差異——酢酸セルロース膜電気泳動による解析——
 °菊池彰, 佐藤忍, 藤伊正(筑波大・生物)
- 10:45 2aB08 コルヒチン処理した培養わた織維壁のマイクロフィブリル配向
 °伊東隆夫, 奥恭行¹(京大・木研, ¹三菱製紙)
- 11:00 2aB09 キシログルカン鎖の“つなぎ換え”反応を触媒する新規酵素の単離と反応機構の解析
 °西谷和彦, 富永るみ, 吉野内美香, 富田英津子(鹿児島大・教養)
- 11:15 2aB10 光によるイネ幼葉鞘の成長阻害における細胞壁結合ジフェルラ酸の役割
 °Kah-Siew Tan, 保尊隆享, 増田芳雄¹, 神阪盛一郎(大阪市大・理・生物, ¹帝塚山短大・食品)
- 11:30 2aB11 アズキ上胚軸切片のオーキシン誘導成長並びにガラクトサン分解に対するガラクトース結合レクチンの影響
 °保尊隆享, 増田芳雄¹(大阪市大・理・生物, ¹帝塚山短大・食品)
- 11:45 2aB12 エンドウ莖成長の光による抑制機構: 細胞壁多糖に対する影響
 °宮本健助, 上田純一, 保尊隆享¹, 神阪盛一郎¹, 増田芳雄²(大阪府大・総合科学, ¹大阪市大・理, ²帝塚山短大・食品)

C会場 タンパク質・酵素 (I)

- 9:00 2aC01 イネ種子貯蔵タンパク質グルテリンにおけるサブユニット分子の多様性について
 °小川雅広, 佐藤光¹(京大・食研, ¹九大・農・遺伝子資源)
- 9:15 2aC02 イネ α -アミラーゼアイソザイムの解析
 °下司直美¹, 光永伸一郎², Pierdomenico Perata², 山口淳二², 赤沢亮²(¹名大・農・農芸化学, ²生化学制御)
- 9:30 2aC03 コマユミの葉からの UDP-グルコース:フラボノール O-グルコ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)
- 9:45 2aC04 ヒャクニチソウ管状要素分化過程で誘導されるペルオキシダーゼアイソザイムの諸特性
 °佐藤康, 杉山宗隆, 駒嶺穆, 福田裕穂(東北大・理・生物)
- 10:00 2aC05 チャアスコルビン酸ペルオキシダーゼと酵母チトクロム C ペルオキシダーゼのアミノ酸配列の相同性
 陳功祥, °佐野智, 浅田浩二(京都大・食研)
- 10:15 2aC06 ダイコンの根の ascorbate peroxidase. 2. 性質
 °大屋俊英¹, 森村洋子², 猪川倫好(筑波大・生物, ¹秋田県生物資源センター, ²恵泉短大)

第2日 3月30日(月) <午前の部>

- 10:30 2aC07 NAD-ME 型 C₄ 植物キビのアスパラギン酸アミノ基転移酵素アイソザイムの性状と発現の解析
 °谷口光隆, 岡田健一, 杉山達夫 (名古屋大・農・農化)
- 10:45 2aC08 ケツルアズキからのフラボノール O-グリコシルトランスフェラーゼの検出と性質
 °間藤正美, 石倉成行 (熊本大・理・生物科学)
- 11:00 2aC09 オオムギの緑化過程におけるリボソームタンパク質の変動
 °牧泰史, 小山和成, 伊藤寿, 田中歩, 和田明¹, 辻英夫 (京大・理・植物, ¹京大・理・物理)
- 11:15 2aC10 テンサイ根の肥大に伴って発現するタンパク質について
 °池田義友, 水江由佳, 大橋伸一, 増田宏志 (帯広畜大・生資化)
- 11:30 2aC11 イネ・糊粉層細胞におけるカルボキシペプチダーゼ遺伝子の発現
 °鷲尾健司, 石川鏡 (北大・理・植物)
- 11:45 2aC12 カボチャ傷害誘導 ACC 合成酵素の機能ドメイン解析
 °小野鉄雄, 森仁志¹, 山崎健一, 今関英雅 (名大・農・生化学制御, ¹基生研)

D会場 分子生物学 (III)

- 9:00 2aD01 アラビドプシス TBP (TATA ボックス結合性蛋白) の機能
 武田稜¹, 廣川秀夫², Nam-Hai Chua³, 今関英雅¹, 山崎健一¹ (¹名大・農・生化学制御, ²上智大・生命研, ³ロックフェラー大)
- 9:15 2aD02 イネ胚芽核抽出液を用いた *in vitro* 転写系の開発
 °椋本藤夫, 今関英雅, 山崎健一 (名大・農・生化学制御)
- 9:30 2aD03 ACC 合成酵素アイソザイム一次構造の比較
 °森仁志, 今関英雅¹ (基生研, ¹名古屋大・農)
- 9:45 2aD04 エチレン誘導性アズキ酸性キチナーゼ, 塩基性パーオキシダーゼ遺伝子の単離
 °山口雄記¹, 山崎健一¹, 森仁志², 今関英雅^{1,2} (¹名古屋大・農, ²基生研・情報制御)
- 10:00 2aD05 ナタマメ種子タンパク質遺伝子: 5'制御領域の解析
 °山内大輔, 山本純子, 南川隆雄 (都立大・理・生物)
- 10:15 2aD06 ケツルアズキの α -アミラーゼ遺伝子の構造
 °竹内一, 山内大輔, 南川隆雄 (東京都立大・理・生物)
- 10:30 2aD07 光合成型と非光合成型フェレドキシンをコードする遺伝子の構造比較
 °中野亮史, 木股洋子, 米倉圭子, 長谷俊治 (名古屋大・農・農化)
- 10:45 2aD08 トウモロコシ・フェレドキシン-NADP⁺還元酵素の遺伝子発現
 村本郁子, 松村智裕, 梶原均, °長谷俊治 (名古屋大・農・農化)
- 11:00 2aD09 トランスジェニックアラビドプシスを用いたニチニチソウ S 期特異的遺伝子 (CYC07) の組織特異的発現の解析
 °佐藤勉, 伊藤正樹, 駒嶺穆, 福田裕穂 (東北大・理・生物)
- 11:15 2aD10 ニチニチソウ同調培養系の S 期に特異的に発現する遺伝子 *cyc07* に相同な酵母遺伝子の解析
 °伊藤正樹, 駒嶺穆 (東北大・理・生物)
- 11:30 2aD11 ヒャクニチソウ管状要素分化過程で強く発現する遺伝子 (TED3・TED4) の解析
 °出村拓, 福田裕穂 (東北大・理・生物)
- 11:45 2aD12 ヒャクニチソウ phenylalanine ammonia-lyase DNA の単離とこれを用いた管状要素分化の解析
 °福田裕穂, 吉村敏彦, 出村拓 (東北大・理・生物)

E会場 分子生物学 (IV)

- 9:00 2aE01 栄養飢餓による細胞周期の停止を支配する分裂酵母の *ste13* 遺伝子は RNA ヘリカーゼをコードする
 前川裕美, °下田親 (大阪市大・理・生物)

第 2 日 3 月 30 日 (月) <午前の部>

- 9:15 2aE02 分裂酵母における性フェロモンによる情報伝達：減数分裂の誘導に必須の遺伝子発現
 °下田親, 柳内浩之 (大阪市大・理・生物)
- 9:30 2aE03 キビアスバラギン酸アミノ基転移酵素アイソザイム遺伝子の構造解析
 °森淳二, 山田満奈美, 山田茂裕¹, 谷口光隆, 長谷俊治, 杉山達夫 (名大・農・農化, ¹JT)
- 9:45 2aE04 ニセアカシア樹皮レクチンの cDNA クローニングと発現の季節変化
 °吉田和正, 山本直樹, 田崎清 (農水省・森林総研)
- 10:00 2aE05 シダ植物における *frxC* 遺伝子のクローニング
 松田学, 山本直樹¹, °山田恭司 (富山大・理・生物, ¹農水省・森林総研・遺伝子発現)
- 10:15 2aE06 マツ *cab* 及び *rbcS* プロモーターによる組織特異的な暗所発現
 °山本直樹, 福井充枝 (森林総研)
- 10:30 2aE07 トロパンアルカロイド生合成遺伝子の発現解析
 °橋本隆, 鐘ヶ江健, 天野靖浩, 林あすか, 梶矢弘美, 山田康之 (京大・農)
- 10:45 2aE08 葉緑体への蛋白質輸送に関与する包膜蛋白質
 佐々木幸子, 関口和正, 永野幸生, 松野隆, 小西智一¹, 渡辺昭¹ (京大・農, ¹名大・農)
- 11:00 2aE09 マメ科ササゲ属及びサイトウ属六種植物 rDNA の RFLP 分析
 °鄭堅瑜, 入船浩平, 中田政司, 田中隆荘, 森川弘道 (広島大・理)
- 11:15 2aE10 *Euglena gracilis* Z の細胞分裂への ADP リボシル化の関与
 °竹中重雄, 中野長久 (大阪府大・農・農芸化学)
- 11:30 2aE11 アカパンカビの *ras* 関連 ATP-GTP (NTP) 結合蛋白質の特徴付け
 °西川和子, 蓮沼仰嗣, 大崎由加里 (横浜市大・木原生研)
- 11:45 2aE12 ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) カゼインキナーゼ II (CK-II) による特異リン酸化タンパク質の生化学的
 特徴
 °金勝一樹, 道家建二郎, 大塚明久¹, 大槻健蔵¹ (北里大・教養・生物, ¹衛生・生物科学)

F会場 光合成 (II)

- 9:00 2aF01 ラン藻の光合成電子伝達の熱安定性
 Mamedov Mahir, 林秀則, 村田紀夫 (基生研)
- 9:15 2aF02 緑色硫黄細菌 *Chlorobium limicola* の反応中心複合体を単離・精製する試み
 大岡宏造, 角谷佐紀, 伊藤繁¹, 松原央, R. Malkin² (大阪大・理・生物, ¹基生研, ²Univ. Calif.)
- 9:30 2aF03 紅色光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* の反応中心複合体における電子伝達と膜電位形成の速度論的
 対応
 °永島賢治, 伊藤繁¹, 嶋田敬三, 松浦克美 (都立大・理・生物, ¹基生研)
- 9:45 2aF04 Photoaffinity label による光化学系 I 反応中心複合体内のキノン結合部位の同定
 °岩城雅代, 高橋正昭¹, 嶋田敬三², 伊藤繁 (基生研, ¹甲南大・理・生物, ²都立大・理・生物)
- 10:00 2aF05 ナノ秒 photo-selection 法による光化学系 I 電子受容体クロロフィル A₀ の配向決定
 °伊藤繁, 岩城雅代 (基生研)
- 10:15 2aF06 光化学系 I 反応中心標品の調製と性質
 °小林慎一, 大矢武志, 古木正人, 清水徳朗, 仲本準, 鈴木浩一, 檜山哲夫 (埼玉大・理)
- 10:30 2aF07 光化学系 I 反応中心を構成するサブユニットの数について
 °大矢武志, 小林慎一, 佐藤成宙, 仲本準, 檜山哲夫, 千田正昭¹ (埼玉大・理, ¹日本分光)
- 10:45 2aF08 光化学系 I 鉄硫黄タンパクの反応中心複合体の構造における役割
 °高橋裕一郎, M. Goldschmidt-Clermont¹, J.-D. Rochaix¹ (岡山大・理・生物, 大学院自然科学研
 究科, ¹ジュネーブ大学)
- 11:00 2aF09 光化学系 I アンテナ色素の再構成：再構成におよぼす脂質の影響
 池上勇 (帝京大・薬)
- 11:15 2aF10 光質によるラン藻光化学系 I の形成調節
 °相澤克則, 藤田善彦 (基生研・細胞生物)

第2日 3月30日(月) <午前の部> <午後の部>

- 11:30 2aF11 光化学系 I 形成調節に関与するクロロフィル a 合成調節
 °藤田善彦, 村上明男(基生研・細胞生物)
- 11:45 2aF12 ラン藻 phosphoribulokinase の暗及及び明中下における活性化状態
 °平橋智裕, 姫野道夫, 和田野晃(大阪府大・農・農化)

G会場 脂質/光合成(Ⅲ)

- 9:00 2aG01 *Pseudomonas* E-3 株のヘキサデセン酸 Δ^9 -シヌートランス異性化酵素の精製と性質
 川添亮, °奥山英登志(北海道大・理・生物)
- 9:15 2aG02 南極海産ハプトソウ *Prymnesiophyte* strain B の脂質について
 °森田直樹, 小亀一弘, 奥山英登志(北海道大・理・生物)
- 9:30 2aG03 単細胞ラン藻 *Synechococcus* sp. Miami BG 43511 の同調培養時における脂質変動
 °柘田聖孝, 岡本智伸, 菊地正武, 三井旭¹(九州東海大学, ¹マイアミ大学)
- 9:45 2aG04 講演取消
- 10:00 2aG05 タバコ培養細胞における *in vivo* ラベルによるイノシトールリン脂質代謝の研究
 °鎌田芳彰, 武藤尚志(東京大・応微研)
- 10:15 2aG06 脂肪酸不飽和化と光合成
 °和田元¹, Zoltan Gombos¹, 坂本敏夫², 村田紀夫^{1,2}(¹基生研, ²総研大)
- 10:30 2aG07 光合成の高温適応の生化学
 °西山佳孝^{1,2}, Eszter Kovács¹, 林秀則¹, 渡辺正², 村田紀夫¹(¹基生研, ²東大・生産研)
- 10:45 2aG08 ラン藻スピルリナにおけるマツト形成——cAMP 分解酵素の阻害剤による影響——
 大森和子, 広瀬正紀¹, °大森正之²(昭和女子大・生活科学, ¹和歌山大・教育, ²東京大・海洋研)
- 11:00 2aG09 緑藻ダナリエラにおける, 浸透圧変化による cAMP 濃度変化
 大澤弘宣¹, 中山克己¹, °岡田光正(東邦大学・理・生物分子科学, ¹全業工業)
- 11:15 2aG10 シアノバクテリア *Synechococcus* PCC7942 のカロテノイド組成への除草剤の影響
 正元和盛(熊本大・教育・生物)
- 11:30 2aG11 ラン色細菌 *Anacystis nidulans* の光リン酸化に対するテントキシンの阻害について
 吉岡達哉, 太田嘉則, 久堀徹¹, 桜井英博(早稲田大・教育・生物, ¹横浜市大・生物)
- 11:45 2aG12 緑色光合成細菌の光化学反応中心とそのペプチド
 °楠元範明, 那須英和, 高野博子, 井上和仁¹, 桜井英博(早稲田大・教育・生物, ¹神奈川大・理・応用生物)

第2日 3月30日(月) <午後の部>

A会場 タンパク質・酵素(Ⅱ)

- 13:00 2pA01 大腸菌における嫌氣的 Mn SOD 合成に対する硝酸呼吸の作用
 三宅浩一郎(広島大・理・植物)
- 13:15 2pA02 部位特異的変異の導入による *Rhodobacter capsulatus* フェレドキシン I の構造と機能の解析
 °徳田賢一郎, 佐伯和彦, 松原央(阪大・理・生物)
- 13:30 2pA03 黄化ヤエナリにおけるジベレリン結合タンパク質の精製と単離
 °中嶋正敏, 酒井慎吾¹, 金澤健二, 山口五十磨, 高橋信孝², 室伏旭(東大・農・農化, ¹筑波大・生物, ²理研)
- 13:45 2pA04 黄化アサガオ胚軸中の Ca²⁺ 依存性蛋白質リン酸化
 °坂本光, 柴田幸子(北里大・薬)
- 14:00 2pA05 大豆重金属結合タンパク質の精製とその重金属親和性
 °鈴木宏一郎, 茅野充男(東大・農・農化)

第 2 日 3 月 30 日 (月) < 午後 の 部 >

- 14:15 2pA06 イネ篩管液タンパク質のリン酸化とカルシウムについて
 °中村進一, 林浩昭, 茅野充男 (東大・農・農芸化)
- 14:30 2pA07 オジギソウ ADPase の精製と性質
 °佐原敬, 伊藤隆二, 田宮徹, 土屋隆英 (上智大・理工・化)
- 14:45 2pA08 モヤシマメの桂皮酸 4 水酸化活性を持つ P450 と NADPH cyt c (P450) 還元酵素の精製
 °水谷正治, 太田大策, 佐藤了 (日本チバガイギー国際科学研究所)
- 15:00 2pA09 トウモロコシ子葉鞘アルデヒド酸化酵素の精製と性質
 小柴共一 (都立大・理・生物)
- 15:15 2pA10 イネ種子ズブチリンシンインヒビターの精製と特性
 °國松聖司, 倉本猛史, 山形裕士, 相菌泰生, 岩崎照雄 (神戸大・農)
- 15:30 2pA11 ヒガンバナレクチンの精製と性質
 °八木史郎, 野口繁基, Irwin J. Goldstein¹ (鹿児島大・農・応用生化, ¹ミシガン大・生化学)
- 15:45 2pA12 トウモロコシ葉の可溶性プロテアーゼの精製と性質
 小沢新, 塩井祐三, °高宮建一郎 (東工大・生命理工)
- 16:00 2pA13 植物に存在する高分子量プロテアーゼの精製とその性質
 大泉宏, °森安裕二, 三好泰博, Ladislav Malek¹ (静岡県立大・教養・生物, ¹Lakehead 大学)
- 16:15 2pA14 クロレラの細胞壁溶解酵素の精製とその性質
 °吉元誠, 金子伸江, 城斗志夫, 波多野昌二 (九大・農・食化工)

B会場 ストレス (II)

- 13:00 2pB01 イネ発芽期における活性酸素除去系酵素への低温の影響
 °猿山晴夫, 谷田昌稔 (北海道グリーンバイオ研究所)
- 13:15 2pB02 イネ培養細胞の塩ストレスによる傷害と細胞内 pH 変化
 °朽津和幸, 矢崎芳明, 笠毛邦弘¹, 坂野勝啓, 渋谷直人 (農水省・生物研, ¹食総研)
- 13:30 2pB03 クロレラ細胞における重水素の増殖阻害作用
 °小池千恵子, 海野けい子, 安藤一郎, 横柿修一, 岡田昌二 (静岡県大・薬・放射薬品)
- 13:45 2pB04 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, 栗山典子, 渡辺真弓, 萩間奈緒子, 岡田昌二 (静岡県大・薬・放射薬品)
- 14:00 2pB05 冬期紅葉化した常緑木本葉における NMR 緩和時間へのアントシアニンの関与
 °賀来章輔, 井上眞理, 土岐健次郎¹ (九大・教養・生物, ¹南九州大・園芸)
- 14:15 2pB06 ホソバノハマアカザのベタイン合成経路
 坂口博英, 間藤徹 (京都市大・農化・植栄)
- 14:30 2pB07 ゼニゴケ培養プロトプラストのストレス耐性
 °菅原康剛, 竹内正幸 (埼玉大・理・生体制御)
- 14:45 2pB08 イネ生殖器官の低温ストレスによる糖代謝異常
 °川口健太郎, 小池説夫 (農水省・北海道農試)
- 15:00 2pB09 ユリ葎低温障害の発生機作
 °小池説夫, 松井博和¹ (農水省・北海道農試, ¹北大・農・農化)
- 15:15 2pB10 ホウレンソウ緑葉において, 低温ストレスにより誘導される耐熱性タンパク質
 °数岡徹, 大江田憲治 (住友化学・宝塚総研)
- 15:30 2pB11 植物の塩基性および酸性キチナーゼの生産分泌の調節
 °豊田安基江, 江坂宗春, 北林雅夫, 早川弘美 (広島大・生物生産)
- 15:45 2pB12 好大気汚染物質植物の育成 (2) 野生植物の NO₂ に対する気孔開閉応答
 °檜垣朝, 濃野昌子, 鎌田光宜, 中田政司, 豊原源太郎, 藤田耕之輔¹, 森川弘道 (広島大・理, ¹広島大・生物生産)

第 2 日 3 月 30 日 (月) < 午後の部 >

- 16:00 2pB13 好大気汚染物質植物の育成 (3) 道路沿い野生植物の生態学的特徴と好 NO₂ 植物について
 °豊原源太郎, 濃野昌子, 檜垣朝, 鎌田光宜, 中田政司, 藤田耕之輔¹, 森川弘道 (広島大・理,
¹広島大・生物生産)
- 16:15 2pB14 好大気汚染物質植物の育成 (4) ホウレンソウ NiR cDNA を導入したトランスジェニックシロイヌナズナ
 植物の作成
 °鎌田光宜, 神幸夫, 澤崎達也, 関原明¹, 井田正二², 森川弘道 (広島大・理, ¹京大・農, ²京大・
 食研)

C会場 分子生物学 (V)

- 13:00 2pC01 コムギ Ec プロテイン (メタロチオネイン) 遺伝子のクローニングと発現
 °川嶋一郎, 茅野充男, Byron G. Lane¹ (東大・農・農化, ¹Univ. of Toronto)
- 13:15 2pC02 篩管液中の核酸の解析
 °廣瀬直哉, 口野嘉幸¹, 大嶋利幸, 茅野充男 (東大・農・農化, ¹国立がんセンター・生物物理)
- 13:30 2pC03 傷害によって誘導される西洋ワサビペルオキシダーゼ遺伝子の解析
 °河岡明義¹, 太田裕志, 関根政実, 新名惇彦, 高野光男 (阪大・工・応用生物, ¹山陽国策パルプ
 ・生物研)
- 13:45 2pC04 アラビドプシスのペルオキシダーゼ・アイソザイムの cDNA クローニング
 °新名惇彦, 山本啓二, 関根政実, 高野光男 (阪大・工・応用生物)
- 14:00 2pC05 液胞への輸送に必要なスポラミン前駆体プロペプチド上のアミノ酸残基
 °松岡健, 中村研三 (名大・農・生化)
- 14:15 2pC06 生化学的阻害剤を用いたスポラミンと β-アミラーゼ遺伝子のショ糖による発現誘導機構の解析
 °大藤雅章, 林浩司, 中村研三 (名大・農・生化)
- 14:30 2pC07 形質転換タバコを用いたスポラミン遺伝子プロモーターシス制御配列の解析
 森上敦, 真野昌二, 中村研三 (名大・農・生化)
- 14:45 2pC08 サツマイモ β-アミラーゼ遺伝子の-800領域に存在する CGTCA 配列に結合する因子
 °石黒澄衛, 田中美穂子, 中村研三 (名大・農・生化)
- 15:00 2pC09 ジャスモン酸類によるじゃがいもカテプシン D インヒビター遺伝子族の発現誘導
 °石川教司, 中村研三 (名古屋大・農・農芸化学)
- 15:15 2pC10 酵母 SNF1 と相同なタバコプロテインキナーゼの構造と機能
 °村中俊哉¹, 坂野弘美, 町田泰則 (名古屋大・理・生物, ¹住友化学・宝塚総研)
- 15:30 2pC11 タバコの出芽酵母 STE11 関連遺伝子
 °坂野弘美, 中村敏英, 町田泰則 (名大・理・生物)
- 15:45 2pC12 タバコの膜結合型プロテインキナーゼの構造とその特徴
 °森部豊輝, 坂野弘美, 町田泰則 (名古屋大・理・生物)
- 16:00 2pC13 形質転換タバコにおける *par* (protoplast auxin-regulated) 遺伝子発現制御領域の解析
 °丹羽康夫, 馬場晶子¹, 村中俊哉², 町田泰則¹ (静岡県大・生活健康科学・食糧 (植物) 細胞工学,
¹名大・理・生物, ²住友化学・宝塚総研)
- 16:15 2pC14 ラン藻 *Microcystis aeruginosa* の小プラスミド pMA1 の塩基配列決定と機能解析
 °富永宏志, 芦田裕之¹, 澤嘉弘, 落合英夫 (島根大・農・応用生物機能, ¹島根大・遺伝子施設)

D会場 光合成 (IV)

- 13:00 2pD01 5-アミノレブリン酸処理による LHCII アポタンパク質の安定化
 °田中義人, 田中歩, 辻英夫 (京大・理・植物)

第2日 3月30日(月) <午後の部>

- 13:15 2pD02 トウヒチラコイド膜からのプロテインキナーゼの単離および再構成系におけるタンパク質リン酸化反応の性質
 °与志平尚, 小林善親, 奥達雄(九大・農・林学)
- 13:30 2pD03 *Roseobacter denitrificans* のトリメチルアミン *N*-オキシド還元酵素
 °荒田博行, 高宮建一郎¹(九州大・理・生物, ¹東工大・生命理工・生体機構)
- 13:45 2pD04 脱窒光合成細菌の DMSO 還元酵素の構造形成: スフェロプラストで分泌される酵素はフォールディングしていない
 °佐藤通浩, 榊井秀雄, 吉田芳, 佐藤敏生(広島大・理・植物)
- 14:00 2pD05 Phosphoenolpyruvate Carboxylase を指標とした CAM 植物の概日リズム
 楠見健介, 荒田博行, 岩崎郁子, 西村光雄(九大・理・生物)
- 14:15 2pD06 光化学系 II Mn クラスターの分子構造と電子状態に関する蛍光 XAFS 法による研究
 °楠正美, 小野高明¹, 鈴木正樹², 上原明², 松下正³, 大柳宏之⁴, 井上頼直¹(明大・理工・物理, ¹理研・太陽光, ²金沢大・理・化学, ³高エネ研・PF, ⁴電総研)
- 14:30 2pD07 光合成水分解酵素の S₁ 及び S₂ 状態における Mn クラスターの示す 3 つの EPR シグナルの統一的理論
 °楠正美(明大・理工・物理)
- 14:45 2pD08 酸素発生機構研究への新しいアプローチ——フーリエ変換赤外 (FT-IR) 差スペクトル法
 °野口巧, 小野高明, 井上頼直(理研・太陽光科学)
- 15:00 2pD09 熱発光 A_T-band histidine は Mn-クラスター近傍に存在する——トリプシン消化による研究
 °小野高明, 井上頼直(理研・太陽光科学)
- 15:15 2pD10 24 kDa 表在性蛋白質結合に伴う Mn-クラスターの機能変化
 °小野高明, 井上頼直(理研・太陽光研究グループ)
- 15:30 2pD11 ENDOR よりみたらチロシン D⁺ とチロシン Z⁺ の環境
 °三野広幸, 大道康史, 小寺義男, 河盛阿佐子(関西学院大・理)
- 15:45 2pD12 時間分解及び定常 EPR によるチロシン Z⁺ の研究
 小寺義男, 田倉慶三, 中西慎也, 河盛阿佐子(関西学院大・理)
- 16:00 2pD13 第 1 キノン受容体 Q_A を再構成した PSII 複合体の光誘導 FTIR 差スペクトル
 °豊島喜則, 荒賀千笑¹, 赤堀興造¹, 佐々木純², 前田章夫²(京大・人間・環境研究科, ¹広大・総合科, ²京大・理)
- 16:15 2pD14 光合成光化学系 II 非ヘム鉄の役割について
 °黒岩繁樹¹, 赤堀興造¹, 豊島喜則²(¹広島大・総合科, ²京都大院・人間・環境)

E会場 光合成 (V)

- 13:00 2pE01 好熱性緑色イオウ細菌 *Chlorobium tepidum* における光合成電子伝達反応
 °奥村信巖, 嶋田敬三, 松浦克美(都立大・理・生物)
- 13:15 2pE02 *Chloroflexus* 属の多様性の検討——色素合成調節と電子伝達成分
 °花田智, 嶋田敬三, 松浦克美(都立大・理・生物)
- 13:30 2pE03 P700 蛍光によるトウモロコシ葉での循環的電子伝達の測定
 °浅田浩二, U. Schreiber¹, U. Heber¹(京大・食研, ¹U. Würzburg)
- 13:45 2pE04 *Synechocystis* 6803 における光化学系 I の循環的電子伝達
 米華玲, 遠藤剛, 小川晃男¹, 浅田浩二(京大・食研, ¹理研・太陽光科学)
- 14:00 2pE05 *Synechocystis* PCC 6714 におけるチトクロム *f* から P700 への電子伝達
 °村上明男, 藤田善彦(基生研・細胞生物)
- 14:15 2pE06 ホウレンソウ葉緑体チラコイド結合アスコルビン酸ペルオキシダーゼ; その存在と性質
 三宅親弘, °曹婉紅, 浅田浩二(京大・食研)
- 14:30 2pE07 ホウレンソウ葉緑体チラコイド結合アスコルビン酸ペルオキシダーゼによる H₂O₂ 消去
 °三宅親弘, 浅田浩二(京大・食研)

第 2 日 3 月 30 日 (月) <午後の部>

- 14:45 2pE08 脱共役チラコイド膜における光誘起性 H⁺ 放出の脂溶性 O₂⁻ 除草剤による阻害
 °山崎秀雄, 岡山繁樹¹, 島崎研一郎¹, 西村光雄 (九大・理・生物, ¹九大・教養)
- 15:00 2pE09 *Chlamydomonas reinhardtii* のスーパーオキシドディスムターゼ
 °桜井英博, 楠元範明, 北山薫¹, Togasaki, R. K.¹ (早稲田大・教育・生物, ¹Dept. Biol., Indiana Univ.)
- 15:15 2pE10 講演取消
- 15:30 2pE11 チラコイド膜内部に強固に結合するフェレドキシン-NADP 還元酵素
 °西川豊廣, 近藤美津子, 新勝光 (神戸大・理・生物)
- 15:45 2pE12 ダイコンにおける 4 つのフェレドキシンの存在と構造
 西村まゆみ, 長井潔¹, °先浜直子¹, 新勝光¹ (キンダ化学・研究課, ¹神戸大・理・生物)
- 16:00 2pE13 分子進化上で保存されている残基を改変した植物フェレドキシンの機能解析
 °松村智裕, 林邦昭¹, 谷口功¹, 長谷俊治 (名大・農・農芸化, ¹熊大・工・応用化)
- 16:15 2pE14 プレカーサープラストシアニンの精製とその性質
 °高倍昭洋, 日比野隆, 桜井邦展, 岡林偏史 (名城大・理工・化学)

G会場 分子生物学 (VI)

- 13:00 2pG01 タバコ光化学系 I サブユニットをコードする核遺伝子群の構造解析
 山本義治^{1,2}, 久保田耐¹, 中邨真之¹, °小保方潤一¹ (¹北大・理・植物, ²京大・理・植物)
- 13:15 2pG02 光合成細菌プラスミドにおけるマンノース代謝遺伝子
 °井手口隆司, 胡澄, 西瀬弘¹, 山下仁平, 角野富三郎 (阪大・蛋白研, ¹甲子園大)
- 13:30 2pG03 ミキモピン型 Ri プラスミドから分離した rol 遺伝子の構造解析
 °清川繁人, 小林一三¹, 鎌田博², 原田宏² (協和発酵, ¹住友金属, ²筑波大・遺伝子実験センター)
- 13:45 2pG04 タバコの RNA 結合タンパク質 cDNA の構造とその遺伝子発現
 °広瀬哲郎, 花野滋, 叶麗珍, 杉田護, 杉浦昌弘 (名古屋大・遺伝子実験施設)
- 14:00 2pG05 ヒト SOD 遺伝子のラン藻 *Anacystis nidulans* 6301 での発現
 °竹嶋康誠, 高次昇, 杉浦昌弘¹, 萩原秀昭 (萩原健康科学研究所, ¹名古屋大・遺伝子実験)
- 14:15 2pG06 酵母 *S. exiguus* における宿主-ベクター系の開発と遺伝子機能及び複製機能の解析
 °久富泰資, 井上広一, 畔柳聡, 壺井基夫 (福山大・工・生物工学)
- 14:30 2pG07 糸状性藍藻 *Plectonema boryanum* の形質転換系
 °高橋康弘, 猪原美佐, 藤田祐一, 松原央 (大阪大・理・生物)
- 14:45 2pG08 藍藻 *Plectonema boryanum* におけるゼニゴケ葉緑体 DNA の ORF465 の相同遺伝子
 °藤田祐一, 松本博, 高橋康弘, 松原央 (大阪大・理・生物)
- 15:00 2pG09 *Rhodobacter capsulatus* フェレドキシン I 遺伝子近傍に位置する窒素固定遺伝子群の分子遺伝学的解析
 °佐伯和彦, 松原央 (大阪大・理・生物)
- 15:15 2pG10 Serine substitutions at the amino-terminus of the photoreceptor phytochrome result in an increase in biological activity
 Stockhaus, J., °長谷あきら¹, Halfter, U.¹, Kay, S., 古谷雅樹¹, Chua, N.-H. (Rockefeller 大, ¹理研・FRP)
- 15:30 2pG11 ライスフィトクロム A とそのアミノ酸置換, 欠損体の試験管内での再構成
 富澤健一¹, J. Stockhaus^{1,2}, 伊藤直子¹, N.-H. Chua², 古谷雅樹¹ (¹理研・フロンティア, ²ロックフェラー大)
- 15:45 2pG12 コムギ・ヒストン H3 遺伝子の細胞周期特異的発現に関わるシス領域の同定
 °大坪憲弘, 中山卓哉, 寺田理枝¹, 島本功¹, 岩淵雅樹 (京大・理・分子植物, ¹植工研)

第2日 3月30日(月) <午後の部> 第3日 3月31日(火) <午前の部>

- 16:00 2pG13 コムギヒストン H3 遺伝子の 5' far-upstream シス領域の解析
藤本宜充¹, °伊藤卓也, 中山卓哉, 岩淵雅樹 (京都大・理・植物, ¹日本石油 (株))

第3日 3月31日(火) <午前の部>

A会場 成長制御

- 9:00 3aA01 Phytochrome-dependent changes of sensitivity to gibberellins in cell extension growth of rice mesocotyl
Peter Nick, 古谷雅樹 (理研・フロンティア)
- 9:15 3aA02 ジャスモン酸によるパレイシヨ塊茎組織片の細胞肥大
°高橋淳, 藤野介延, 幸田泰則, 喜久田嘉郎 (北大・農・植物)
- 9:30 3aA03 植物葉水抽出時に生成する低分子性物質の花成誘導効果はリボキシゲナーゼ阻害剤で完全に抑制される
°伴隆之¹, 木崎暁子², 木戸毅¹, 田中修³, 葛西善三郎¹, 竹葉剛⁴ (¹近畿大・農化, ²京大・農生, ³甲南大・理, ⁴京府大・生科)
- 9:45 3aA04 アオウキクサ花成誘導タンパク質のバクテリアによる大量生産
°木戸毅¹, 木崎暁子², 久保浩義³, 田中修⁴, 葛西善三郎¹, 竹葉剛⁵ (¹近畿大・農化, ²京大・農生, ³信州大・理, ⁴甲南大・理, ⁵京府大・生科)
- 10:00 3aA05 アオウキクサの窒素欠乏による花成誘導機構
福岡佳江, 田中修, °中山善雄¹, 杉野守¹, 竹葉剛², 西村久雄³ (甲南大・理・生物, ¹近畿大・農・植生, ²京府大・生科・応生, ³愛医大・衛生)
- 10:15 3aA06 クワ (*Morus alba* L.) の shoot-tip abscission (枝先脱離) と adventitious abscission of internodes (不定節間脱離)
鈴木健夫 (京工繊大・繊維・応用生物)
- 10:30 3aA07 トウモロコシ D₈ の幼葉鞘における矮性発現——表層微小管の配向
田中早苗, °勝見允行 (国際基督教大・生物)
- 10:45 3aA08 矮性イネのエチレン生産とその生長促進効果
°吉羽洋周¹, 山口彦之² (¹日立基礎研, ²駒大・放射線生物)
- 11:00 3aA09 画像解析によるユリ花粉管の成長速度の測定
°森田隆子, 松岡英明, 根本泰行 (東京農工大・工・物質生物工)
- 11:15 3aA10 ダイズの茎の伸長成長に及ぼすブラシノライドの影響
°荻原均, 伊藤亮一, 石井龍一 (東京大・農・農業生物)
- 11:30 3aA11 リンゴ, ニホンナシにおけるエチレン合成に関与するカルシウム, 銀イオン
°田中敬一, 宮沢孝幸¹, 森口卓哉 (農水省・果樹試, ¹長野県・果樹試)
- 11:45 3aA12 Subtracted Probe を用いたタバコ遺伝的腫瘍に特異的な cDNA のクローニング
°藤田知道, 河内宏¹, 播口徳充², 関根政実², 新名惇彦², 市川尚斉, 庄野邦彦 (東京大・教養・基礎科, ¹農水省・生物研, ²大阪大・工・応用生物)
- 12:00 3aA13 Ethylene action on auxin efflux carriers: Effects on NPA binding and implications of receptor (covalent) modification
Bin G. Kang (延世大・生物学科)
- 12:15 3aA14 トマト懸濁培養細胞に対する重金属イオンの影響
°井上雅裕, 遠山鴻, 城尾昌範, 村山徹郎 (愛媛大・理・生物)
- 12:30 3aA15 アズキ培養細胞に対するカドミウムイオンの影響
°笹田直樹, 井上雅裕, 村山徹郎 (愛媛大・理・生物)
- 12:45 3aA16 アカパンカビでリズム測定に用いられる *bd* 株のカルシウム依存の Lysine による生長阻害の解析
°大西卓嗣, 藤本充, 中島秀明 (岡山大・理・生物)

第3日 3月31日(火) <午前の部>

B会場 細胞骨格/代謝

- 9:00 3aB01 重合・脱重合法による植物微小管蛋白質の単離
姜昌杰, 園部誠司, 柴岡弘郎 (大阪大・理・生物)
- 9:15 3aB02 タバコ培養細胞 BY-2 における前期前微小管束消失の kinase 阻害剤による阻害
°勝田順子, 柴岡弘郎 (大阪大・理・生物)
- 9:30 3aB03 細胞質表層微小管による膜タンパク質の移動の制御——実験法の開発——
°戸塚克之, 柴岡弘郎 (大阪大・理・生物)
- 9:45 3aB04 ウニ卵セントロソーム 51 kD 蛋白質は植物細胞で微小管形成中心として働くか
°馳澤盛一郎, 長田敏行 (東大・理・植物)
- 10:00 3aB05 ユリ花粉管からのミオシンの単離
°横田悦雄, 新免輝男 (姫路工大・理・生命科学)
- 10:15 3aB06 細胞骨格系タンパク質のオジギソウ屈曲運動への関与について
°岡田小苗, 作田智洋, 田宮徹, 土屋隆英 (上智大・理工・化)
- 10:30 3aB07 ニンジン不定胚形成初期過程における急激な細胞分裂の解析
°高橋拓志, 杉山宗隆, 川原良一, 駒嶺穆 (東北大・理・生物)
- 10:45 3aB08 馬鈴薯茎断片培養系の塊茎形成過程における細胞骨格の変化
°藤野介延, 小田良樹, 幸田泰則, 喜久田嘉郎 (北大・農・植物)
- 11:00 3aB09 ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942 の硝酸イオン輸送変異株の硝酸還元酵素活性
小俣達男 (理研・太陽光科学)
- 11:15 3aB10 ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942 の硝酸同化系酵素遺伝子の窒素源による発現調節
°鈴木石根, 小俣達男¹, 杉山達夫 (名古屋大・農・農芸化, ¹理研・太陽光科学)
- 11:30 3aB11 光と窒素に応答したトウモロコシ葉のアンモニア同化系酵素の挙動
°榊原均, 大西宏, 長谷俊治, 杉山達夫 (名古屋大・農化)
- 11:45 3aB12 ブドウ科植物における D-[3-³H] グルコン酸から酒石酸への ³H の移行について
斉藤和実 (京大・RI センター)
- 12:00 3aB13 ホウレンソウ葉アポプラストのアスコルビン酸とアスコルビン酸によるフェノール性物質酸化の制御
高浜有明夫 (九州歯大・生物)
- 12:15 3aB14 植物におけるプリンスクレオチドの異化とその生理学的意義
°芦原坦, 矢吹奈美, 高沢陽子 (お茶の水大・理・生物)
- 12:30 3aB15 デンプン合成におけるショ糖合成酵素の役割
J. Pozueta-Romero, P. Perata, 山口淳二, 赤沢亮 (名大・農・生化学制御)
- 12:45 3aB16 ダイズ根粒バクテロイドの増殖制御におけるポリアミンの役割
°小沢隆司, 辻剛宏 (大阪府大・農・農化)

C会場 光合成 (VI)

- 9:00 3aC01 新しい光化学系II標品の調製とその性質
菓子野康浩, 小池裕幸, °佐藤和彦 (姫路工大・理・生命科学)
- 9:15 3aC02 酸素発生系IIコア複合体の性質
°小池裕幸, 菓子野康浩, 佐藤和彦 (姫路工大・理・生命科学)
- 9:30 3aC03 好熱性シネココッカス Mn 安定化蛋白質の構造解析
°平野昌彦, 元木章裕, 三浦久美子, 島津恒夫, 金井正三, 谷村隆次¹, 加藤栄² (東レ・リサーチセンター, ¹東レ基礎研, ²東京大・理)
- 9:45 3aC04 酸素発生系II膜標品における 2Ca の異なる存在部位
°韓甲祚, 加藤栄 (東大・理・植物)
- 10:00 3aC05 ラン藻酸素発生標品に存在する表在性のチトクロム C₅₅₀ と 9 kDa 蛋白質
沈建仁, 池内昌彦, 井上頼直 (理研・太陽光科学)

第3日 3月31日(火) <午前の部>

- 10:15 3aC06 低分子量膜タンパク質の分析のための脂質・界面活性剤の除去法
 °池内昌彦, 金田直也, 井上頼直 (理研・太陽光科学)
- 10:30 3aC07 *Synechocystis* sp. PCC 6803 チラコイド膜の系II低分子量タンパク質蓄積に対する種々の系II遺伝子不活性化の効果
 °池内昌彦¹, W. F. J. Vermaas², 井上頼直¹ (¹理研・太陽光科学, ²アリゾナ州立大・植物)
- 10:45 3aC08 光化学系II粒子のアルカリ条件下でのCP43およびCP47の光分解
 °森宏樹, 山本泰 (岡山大・理・生物)
- 11:00 3aC09 光合成水分解複合体の光活性化におけるカルボキシル基の役割
 °田村典明, 田中智美, 若松国光, 和田敬四郎¹ (福女大・家政・家庭理学, ¹金沢大・理・生物)
- 11:15 3aC10 小麦葉における光合成水分解複合体の光阻害と光活性化
 °田村典明, 山崎裕子, 伊藤千弥子¹, 井上弘¹ (福女大・家政・家庭理学, ¹富山大・理・生物)
- 11:30 3aC11 ゼンマイ緑色胞子の発芽時における葉緑体蛋白の分解機構
 °井上弘, 高野篤生 (富山大・理・生物)
- 11:45 3aC12 暗所で生育したトウヒ芽生えから調製した光化学系II標品における酸素発生系の光活性化
 °蒲池浩之, 大場謙三, 西本悦子, 田村典明¹ (九州大・農・林, ¹福岡女子大・生物)
- 12:00 3aC13 チトクローム b₅₅₉ 酸化還元特性の変動と光合成酸素発生系の機能発現
 °水澤直樹, 山下魏 (筑波大・生物)
- 12:15 3aC14 グラミンジンと低濃度 Ca²⁺ イオンによる酸素発生系の光再活性化に対する強い阻害作用の解析
 °山下魏, 蝦名真澄 (筑波大・生物)
- 12:30 3aC15 光化学系IIにおけるO₂⁻の生成
 °高橋正昭, 白石卓夫¹, 浅田浩二¹ (甲南大・理・生物, ¹京大・食研)
- 12:45 3aC16 葉緑体 Mn (II) 結合性タンパク質の性質
 高橋正昭, 今井宜丈, °杉浦美羽, 橋本佳代子, 浅田浩二¹ (甲南大・理・生物, ¹京大・食研)

D会場 分子生物学 (VII)

- 9:00 3aD01 チャ *Camellia sinensis* カルコンシンターゼの cDNA クローニング
 °竹内敦子, 早津雅仁 (農水省・野菜茶試)
- 9:15 3aD02 ピペコリン酸によって誘導されるアオウキクサ mRNA の cDNA クローニング
 °安部弘, 川合浩二¹, 藤岡昭三, 桜井成 (理研・植物生活環制御, ¹日大・農獣医・応用生物科学)
- 9:30 3aD03 大腸菌の嫌気条件下で発現する遺伝子に対する転写制御因子
 °山本勇, 藪宏典, 佐藤敏生 (広島大・理・植物生理)
- 9:45 3aD04 ダイズ種子中で発現するウリカーゼ遺伝子の単離と解析
 °田中耕二, 田島茂行 (香川大・農・生物資源)
- 10:00 3aD05 発芽カボチャ葉における aconitase isozymes の精製と cDNA クローニング
 °林誠, Luigi De Bellis¹, 槻木竜二, 西村幹夫 (基生研・細胞生物, Univ. of Pisa)
- 10:15 3aD06 ミトコンドリアゲノムにおける葉緑体 DNA の配列
 中園幹生, °平井篤志 (名古屋大・農・生化制御)
- 10:30 3aD07 エンドウの低分子量 GTP 結合蛋白質の cDNA クローニングとその発現
 °永野幸生, 村井宣彦, 石原雅司, 松野隆一, 佐々木幸子 (京大・農)
- 10:45 3aD08 小麦 psbD 遺伝子クラスターのプロモーター活性の光制御
 °和田拓治, 椎名隆, 豊島喜則 (京大大学院・人間・環境学研究所)
- 11:00 3aD09 チョリ Ri 形質転換体におけるオパイン産生の組織特異性について
 °猪口雅彦, 杉田康一郎, 加藤次郎 (岡山理大・理・生物化学)
- 11:15 3aD10 遺伝子導入による高等植物の低温感受性の改変
 西田生郎, 西沢治¹, 東正一, 林秀則, 田坂恭嗣, 牧野由美子, 村田紀夫 (基生研, ¹キリンビール・基礎研)

第3日 3月31日(火) <午前の部>

- 11:30 3aD11 ラン藻の脂肪酸不飽和化酵素遺伝子
 °坂本敏夫, 和田元, 西田生郎, 村田紀夫(総研大・基生研)
- 11:45 3aD12 好熱性シネココッカスのフィコシアニン遺伝子の解析
 °曾我麻美子, 島津恒夫, 平野昌彦, 加藤栄¹(東レ・リサーチセンター, ¹東大・理・植物)
- 12:00 3aD13 ヒャクニチソウ単離葉肉細胞においてプランノライドにより発現が誘導される遺伝子のクローニング
 °岩崎俊介, 柴岡弘郎(大阪大・理・生物)
- 12:15 3aD14 葉緑体 DNA の包膜への結合に関わるタンパク質の研究
 °佐藤直樹, C. Albrieux¹, J. Joyard¹, R. Douce^{1,2}, 黒岩常祥(東大・理・植物, ¹CENG and ²UJF, Grenoble)
- 12:30 3aD15 タバコ培養細胞のアミロプラスト形成過程における色素体遺伝子発現の転写制御
 °酒井敦, 河野重行, 黒岩常祥(東大・理・植物)
- 12:45 3aD16 ミトコンドリア融合を誘起するプラスミドの構造と機能
 °高野博嘉, 森君江, 河野重行, 黒岩常祥(東京大・理・植物)

E会場 分子生物学 (VIII)

- 9:00 3aE01 *Arabidopsis thaliana* から単離された低分子量 GTP 結合タンパク質遺伝子の解析
 °穴井豊昭, 松井南¹, 藤井伸治², エバロル・アスブリア³, 内宮博文³(北大・理・生物, ¹日医大・老研, ²筑波大・環境科学, ³東大・応微研)
- 9:15 3aE02 植物における翻訳に関わる蛋白群の遺伝子解析
 °加藤敦之, 西理津子, 橋本博史, 木藤新一郎¹, 嶋崎哲夫, 高松進², 木藤直巳¹, 梅田正明¹, 青塚聡¹, 関口裕子¹, 内宮博文¹(北大・理・植, ¹東大・応微研, ²福井県農試)
- 9:30 3aE03 植物機能遺伝子群の浸透圧ストレスへの発現応答
 °梅田正明, 青塚聡, 関口裕子, 木藤新一郎, 高松進², 嶋崎哲男¹, 橋本博史¹, 西理津子¹, 木藤直巳, 加藤敦之¹, 内宮博文(東大・応微研, ¹北大・理・植物, ²福井農試)
- 9:45 3aE04 イネアデニレートキナーゼ遺伝子の構造と発現解析
 °川合真紀, 木藤新一郎¹, 加藤敦之², 内宮博文¹(筑波大・生物, ¹東大・応微研, ²北大・理・植物)
- 10:00 3aE05 ウシ脳特異的遺伝子(トリプトファン・5・モノオキシゲナーゼのアクチベーター)と相同性のあるイネ cDNA の特徴
 °木藤新一郎, 加藤敦之¹, 内宮博文(東大・応微研, ¹北大・理・植物)
- 10:15 3aE06 イネ *wx* 座の遺伝子発現は 20°C 以下の弱低温で活性化される
 °平野博之, 佐野芳雄(国立遺伝学研究所)
- 10:30 3aE07 イネの進化過程における SINE 様レトロポゾンの転移
 °平野博之, 梅田正明¹, 大坪久子¹, 大坪栄一¹, 佐野芳雄(国立遺伝研, ¹東大・応微研)
- 10:45 3aE08 イネのホメオドメインを持った遺伝子の組織特異的スプライシング
 °松岡信, 南栄一¹(農業生物資源研究所, ¹農業環境技術研究所)
- 11:00 3aE09 イネ増殖細胞核抗原 PCNA 遺伝子プロモーター領域に結合するタンパク質因子 cDNA のクローニング
 °小杉俊一, 大橋祐子, 鈴鹿巖¹(農水省・生物研, ¹家衛試)
- 11:15 3aE10 イネ・スーパーオキシドディスムターゼの遺伝子構造の特徴
 °坂本敦, 大菅裕之, 奥村剛一, 田中浄¹, 田中國介(京府大・農化, ¹国立環境研)
- 11:30 3aE11 イネ α -アミラーゼ遺伝子 5'上流領域の解析
 °光永伸一郎, 山口淳二, 赤沢堯(名大・農・生化学制御)
- 11:45 3aE12 日本型イネより検出されインド型イネからは検出されない RNA の構造及び機能
 °福原敏行, 森山裕充, 百武博¹, 新田毅(東京農工大・一般教育・生物, ¹理研・薬剤作用)
- 12:00 3aE13 イネ Vp1 遺伝子の構造と発現
 服部束穂(三重大・遺伝子)

第3日 3月31日(火) <午前の部>

- 12:15 3aE14 原核・真核生物間接合——酵母受容菌染色体へのプラスミドの組み込みの分子機構
西川正信, 鈴木克周, °吉田和夫 (広島大・理・植物)
- 12:30 3aE15 D1 蛋白質合成の光による制御の機構——クラミドモナス生細胞を用いた解析——
°黒田洋詩, 佐藤公行 (岡山大・理・生物)
- 12:45 3aE16 明暗切り替えによって出現する D1 タンパク質の翻訳中間体
°稲垣言要, 佐藤公行¹ (岡山大・自然科学, ¹岡山大・理・生物)
- G会場 光合成 (VI)**
- 9:00 3aG01 ホウレンソウ RuBisCO 活性調節機構モデルの構築
村山寛, 和田野晃, °横田明穂 (大阪府大・農化)
- 9:15 3aG02 ホウレンソウ RuBisCO 活性調節部位へのリブソスビスリン酸の結合とその活性への影響
東岡雅也, °横田明穂 (大阪府大・農化)
- 9:30 3aG03 ホウレンソウ RuBisCO 活性調節部位の構造解析
°渡海寛, 横田明穂 (大阪府大・農化)
- 9:45 3aG04 沈水処理中の CO₂ 濃度が *Eleocharis vivipara* の光合成変換に及ぼす影響
°内野彰, 鮫島宗明¹, 石井龍一, 上野修¹ (東大・農・農業生物, ¹農水省・生資研)
- 10:00 3aG05 *Synechocystis* Pcc 6803 の無機炭酸輸送に必須な *ictA* 遺伝子産物の同定
小川晃男 (理研・太陽光科学)
- 10:15 3aG06 黄色変異イネ葉と一般栽培種のイネ葉における in-vivo Rubisco 活性と電子伝達能力の関係について
°日出間純, 牧野周, 前忠彦, 小島邦彦 (東北大・農・農化)
- 10:30 3aG07 異なった窒素レベルで栽培されたコムギ葉の最大光合成能力と Rubisco 含量
°牧野周, 前忠彦, 日出間純, 小島邦彦 (東北大・農・農化)
- 10:45 3aG08 無機炭素固定に必須な新しい遺伝子 *icfA* の解析
°福澤秀哉, 鈴木英治¹, 宮地重遠² (京都大・農・農化, ¹茨城大・理・生物, ²海洋バイオ研)
- 11:00 3aG09 ホヤと共生している *Prochloron* のカーボニックアンヒドラーゼ活性
°Dionisio-Sese, M., 嶋田敦弘, 丸山正, 宮地重遠 ((株)海洋バイオ研)
- 11:15 3aG10 C₄ 植物葉肉細胞原形質膜のカーボニックアンヒドラーゼ
宇都宮詠子, °武藤尚志 (東京大・応微研)
- 11:30 3aG11 C₄ 型 PEP カルボキシラーゼのリン酸化に関与するプロテインキナーゼ
°小川紀之, 奥村暁, 泉井桂 (京大・理・化)
- 11:45 3aG12 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 II. 酵素活性の変化
°白田秀明, 下河原浩介 (帝京大・医)
- 12:00 3aG13 ラン藻の CO₂ 濃縮機構と光呼吸のコンピューターモデルによる解析
和田野晃 (大阪府大・農・農化)
- 12:15 3aG14 大豆葉層の光合成特性と葉肉の構造
苗以農, 許守民, 朱長甫, 劉学軍, 姜艶秋 (中国東北師範大学生物系)
- 12:30 3aG15 Glutamine induces the N-dependent expression of PEP-carboxylase and carbonic anhydrase genes in detached maize leaf
Bambang Sugiharto, JN. Burnell¹, T. Sugiyama (Sch. of Agric., Nagoya Univ., ¹Queensland Univ. of Tech.)

シ ン ポ ジ ウ ム

1aG 01 フラボノイドの構造修飾のメカニズム——メチル化及び配糖体化反応

石倉成行 (熊本大・理・生物科学)

天然のフラボノイドの化学構造の修飾は、水酸化、メチル化、配糖体化及びアシル化によって最終的に決定する。これらの反応のうち、メチル化並びに配糖体化を触媒する酵素について古くから研究されてきているが、最近いずれの反応もフラボノイドの置換位置に対応して触媒する酵素はお互いに異なっていることが判ってきた。そこで、演者らが見出したいくつかの酵素例を紹介し、それらの性質、並びにフラボノイドの置換位置に対する特異性及び反応の順序等を検討したい。

メチル化——*Chrysosplenium americanum* (ユキノシタ科) から四種類の位置特異的 O -メチルトランスフェラーゼ (OMT) のほかに、さらに最近フラボノールの $2'$ -ないしは $5'$ -の O -メチル化を触媒する酵素が見出されている¹⁾。この新しい酵素は分子量は約 57,000 で、活性部位に SH 基が関与しているとみられることなどから他の酵素と類似しているが、 pI 値が 5 以下であること、基質特異性が高いことで著しく異なる。一方、ソメイヨシノの若葉から抽出した OMT は、イソフラボン配糖体のソホリコシドをメチル化して 7 位にメトキシル基を持つプルネトリンを生じる²⁾。しかし、基質特異性は低く、さまざまなフラボノイドの 7 位に対しても反応する。同酵素は上記のいずれの酵素とも異なって、分子量は約 36,000 で小さく、 pI 値が 4.1 であった。このように、フラボノイドに対して反応する OMT は位置特異性が非常に高いが、フラボノイドの種類から見た基質特異性はかなりさまざまである。なお、ソメイヨシノの葉の各成長段階でのプルネトリン含量と OMT 活性の変動を調べたところ、春期の展開しつつある葉ではプルネトリン量、OMT 活性ともに急速に高まり、秋期の葉では OMT 活性はほとんど見られないことが判った。これらの事柄を基にしてフラボノイドのメチル化反応の特徴を検討したい。

配糖体化——フラボノイド配糖体を構成する単糖として D-グルコースが最も一般的であるが、この他にも幾種類かの糖が知られている。最近、演者らはソメイヨシノの葉から UDP-グルコース：フラボノール 3- O -グルコシルトランスフェラーゼ (F3GT) 及び新規な酵素 UDP-グルコース：イソフラボン 4'- O -グルコシルトランスフェラーゼを見出した³⁾。両酵素は分子量がともに約 51,000 であるが、イオン交換クロマトグラフィーによって完全に分離することができる。また、コマユミ (ニシキギ科) の葉からフラボノールの 3 位の水酸基に、UDP-D-キシロースからの D-キシロースを転移する酵素 (F3XT) を見出した⁴⁾。F3XT は同一植物に見出されるフラボノールの 3 位及び 7 位の水酸基に D-グルコースを転移する酵素 (F3GT 及び F7GT) とは分子量が約 48,000 で等しいが、イオン交換クロマトグラフィーによって両者を完全に分離することができる。また、F3XT はフラボノールに対してかなり特異的に反応する。これらの配糖体化反応の特徴について、メチル化反応と合わせてフラボノイドの構造修飾のメカニズムを検討したい。

¹⁾ Khouri, H. E. et al. *Phytochemistry* **25**: 2475 (1986). ²⁾ Ishikura, N. et al. *Bot. Mag. Tokyo* **105**: (1992) in press. ³⁾ Ishikura, N. and K. Yamamoto. *Pl. Cell Physiol.* **31**: 1109 (1990). ⁴⁾ Ishikura, N. and Z. Yang. *Z. Naturforsch.* **46c**: 1003 (1991).

高等植物に広く分布しているフラボノイドの生合成は、紫外光により誘導または促進されることが培養細胞や植物体での研究によって明らかにされている。

フラボノイド化合物はおもに植物の花、葉、茎、根などの表皮系の細胞で合成され液胞内に蓄積されている。また、フラボノイドは、230～380 nmの紫外域に強い吸収を示す。これらのことからフラボノイドは、有害な紫外線から植物を保護する役割を持っているものと考えられている。

ヤグルマギクの茎から得られた培養細胞（1 ppmの2, 4-D, 0.1 ppmのカイネチンを含むMS培地、振とう100ストローク/分）は、暗所で培養する時にはフラボノイドの合成をしないが、UVを含む光を照射するとフラボノイドの一種アントシアニン [Cyanidin 3-(6'-malonyl)glucoside]の合成を誘導する。この細胞系でのアントシアニンの生合成誘導の現象で、有効な光は何か、生成された色素を蓄積する細胞はUVに対して耐性をもっているのかどうか、また色素生成の誘導機構について検討を加えてきた

色素合成の誘導と光：基礎生物学研究所の大型スペクトログラフを用いて色素生成の作用スペクトルを測定した。400～700 nmの波長域の光照射では色素生成は認められなかったが、260～380 nmの紫外域で色素生成が誘導され、入射光量子強度-反応曲線が得られた。適当な光エネルギー量の範囲では反応曲線はいずれも互いに平行であり、アントシアニン生成に関する光生物学的反応系が同一であることを示唆した。この反応曲線から得られた光作用スペクトルは280 nmにピークをもつ曲線を示した。

アントシアニンの蓄積と細胞の紫外光にたいする耐性：培養細胞への紫外光をふくむ光の照射時間が増すにつれて細胞内に蓄積する色素量が増加する。また、細胞からメタノール系溶媒で抽出される物質の紫外部の吸光度は高くなる。この細胞では紫外部吸収物質のおもなものはアントシアニンであった。暗所で培養して色素を含まない細胞と、光を照射して色素を蓄積した細胞とで、FDA染色法により紫外光に対する耐性を比較したところ、細胞内に蓄積する色素量が増すにつれて耐性は増加した。また、紫外線による損傷としての pyrimidine dimerの形成量を紫外光の照射直後に測定して比較したところ、色素を蓄積した細胞では明らかに減少しており、色素が紫外光の防御をしていることを示した。

色素生成の誘導機構：アントシアニン生合成に関連する酵素群の活性 [フェニルアラニンアンモニアリアーゼ、チャルコンシンターゼ (CHS)、チャルコンフラボノンイソメラーゼ、マロニルトランスフェラーゼ] は、紫外光の照射によりいずれも急激に上昇する。このうちCHSの活性は、暗所で培養した細胞では検出限界以下であるが光照射によって誘導され、鍵酵素的に働いている。また、ノーザンブロットハイブリダイゼーションで調べた結果、CHS mRNAは紫外光照射により検出されるようになり、転写レベルの調節であることが判った。大型スペクトログラフを用いてCHS mRNA生成の誘導に関する入射光量子強度-反応曲線を求めたところ、色素生成に関するものに近い曲線が得られ、紫外光によるCHS遺伝子の発現にかかわる光受容体の色素部位は、280 nm近辺にピークをもつものと推定される。

小関良宏 (東大・教養・生物)

アントシアニン合成系は、花片などの分化した特定の組織・器官で特定の時期に発現しており、また紫外線などの環境要因によっても誘導される。このアントシアニン合成系の発現と分化との関係、さらに環境からのシグナルによる発現の機構を解明するために、ニンジン培養細胞をモデル系として研究を行った。2,4-D を含む培地中で脱分化的に増殖しているニンジン培養細胞を 2,4-D を含まない培地に移植すると、不定胚形成とともにアントシアニン合成が誘導される。ここにおけるアントシアニン合成の誘導と不定胚形成の誘導との間には、生理学的に見て密接な相関関係が見られ、ここにおけるアントシアニン合成の誘導は、不定胚形成という形態的分化に対し、二次代謝系の“代謝的分化”と考えられた。

このアントシアニン合成にかかわるどの酵素が 2,4-D により発現制御を受けているか調べたところ、phenylalanine ammonia-lyase (PAL) と chalcone synthase (CHS) が 2,4-D により発現が制御されていることがわかった。特に、PAL についてはアントシアニン合成時に CHS とともにゆっくりとした時間経過を経て誘導され、2,4-D が培地に添加されることにより CHS とともにその発現が抑制されるものと、培地中の 2,4-D の有無にかかわらず、細胞を新鮮培地に移植するという培養細胞における一種の傷害である希釈効果により、一時的・一過的に誘導されるものとが存在することがわかった。この両者に対する cDNA の構造の解析から、両者の mRNA は全く異なる、すなわち両者は異なった核遺伝子としてニンジン核内に存在していることがわかった。さらに、これらに対する核遺伝子クローンを得てその構造を解析したところ、希釈効果により発現が誘導される PAL について、cDNA と完全に塩基配列の一致した 2 種類のクローンが得られた。この 2 つのクローンは 5' 上流約 -400 bp から上流においては塩基配列が全く異なっており、このことは mRNA レベルでは全く区別つかない 2 つの PAL 遺伝子がニンジン核内に存在していることを示すものである。この 2 つの PAL 核遺伝子のうち、その両者とも希釈効果によって誘導されるのか、あるいはどちらか一方のみで、他方はそれ以外の環境要因により誘導されるのか、現在検討中である。また、アントシアニン合成に関与し 2,4-D によって発現制御される PAL 核遺伝子についても、mRNA と完全に塩基配列が一致したクローンが得られた。これに対し、この核遺伝子クローンと非常に相同性の高いクローンも得られ、これがどのような分化状態の細胞で発現しているのか興味深い。

以上のことから、ニンジン核内には PAL 遺伝子は最低でも 4 種類存在し、同一の PAL 活性を発現するものでありながら、アントシアニン合成の時にはその中の特定の PAL 遺伝子しか発現していないことがわかった。この研究を進めることによって、オーキシンにより制御されている分化の誘導のシグナルを受けて、そのシグナルが細胞内でどのような過程を経て伝達されて、特定の PAL および CHS 遺伝子の発現が制御されて、アントシアニン合成系が発現するのかが明らかにされるものと考えられる。

植物培養細胞・根の選抜により、目的アルカロイドを高産生する素材を得て、目的物質の生合成経路とその生合成過程の各段階を律速する反応機構を解明し、さらに遺伝子工学手法を用いて新しい植物作成する研究領域が開かれた。

I. ベルベリン高産生セリバオウレン培養細胞のベルベリン生合成過程において、テトラヒドロコロンバミンからベルベリンに至る生合成経路は(S)-テトラヒドロベルベリンを経ることが明かとなり、またノルラウダノソリンから6-0-メチルノルラウダノソリン、スコウレリンからテトラヒドロコロンバミンに至る両メチル化反応の律速性ならびに、これらの酵素を分離、精製した。このベンジルイソキノリンアルカロイドの二量体であるビスベンジルイソキノリンアルカロイドは、タマサキツヅラフジ培養根ではアロモリン、ベルバミン、イソテトランドリン、ホモアロモリン、シクレアニンとして認められ、特にアロモリン、ベルバミンの産生量は非常に高かった。さらにアロモリンとベルバミンの生成量は強い正の相関関係にあり、アロモリン結晶の単離収率は1.2%以上、且つアロモリンはチロシン4分子から生合成されることが証明された。

II. 代表的なトロパンアルカロイドであるスコボラミン生合成能の高い培養根系を確立し、この系でオルニチンからスコボラミンに至る全生合成過程の主要な物質変換反応機構を明らかにした。特に生合成の最終段階を形成する[S]-ヒヨシアミンからスコボラミンへの変換反応は極めて重要であるが、この実験系により、[S]-ヒヨシアミンが2-オキソグルタール酸依存型ジオキシゲナーゼによって、6β-ヒドロキシヒヨシアミンに変換すること、さらに本酵素が6β-ヒドロキシヒヨシアミンにも作用して脱水素最終産物であるスコボラミンを生合成することが示された。そこで本酵素の遺伝子を解析し、さらにその遺伝子を[S]-ヒヨシアミンを主最終産物とするベラドンナ組織に形質転換して、この組換え細胞から個体再生した。この遺伝子組換えベラドンナ植物は茎葉に、より重要なスコボラミンのみを集積し、新しいアルカロイド産生植物が作成された。

F. Sato et al. *Phytochem.* 23, 281 (1984); Y. Sugimoto et al. *FEBS Lett.* 273, 82 (1990); T. Hashimoto et al. *J. Biol. Chem.* 266, 4648 (1991); J. Matsuda et al. *J. Biol. Chem.* 266, 9460 (1991)

原 康弘 (三井石化・化学生物研究所)

植物細胞の大量培養に用いられる技術や装置の中には、微生物培養の知見を参考にしたものが多いが、植物細胞は大きさ、かたさ、比重、細胞塊形成などの点で微生物と異なるため、細胞の生産能力を十分に引き出すには、それらにあった大量培養処方工夫をすることが必要である。本講では、主に、演者らがこれまでに取り組んできたムラサキ細胞の大量培養によるシコニンの生産を例に、スケールアップにおいて注意を要する点を紹介する。

1. 培地組成およびpH

基本的には、スケールアップの際に培地組成やpHを修正する必要はないが、装置が大型になって小試と培地滅菌法が変わると、熱などによる培地成分変化の程度が異なってくるので注意を要する。シコニン生産は、これら培地の熱変化の影響を強く受けたので、小試結果の再現を図るために滅菌時の加熱時間や温度を検討する必要があった。

2. 培養温度

シコニン生産の最適温度範囲は22-25℃であり、この範囲をはずれると生産量が急激に低下した。実験室では恒温槽などを利用して厳密な温度制御が可能であるが、熱媒体による加熱・冷却で温度制御を行う大型培養装置では、培養期間を通じて温度むらなく均一に制御するため、温度検知や加熱・冷却の方法に工夫を要した。

3. 酸素の供給速度

(1) 通気方法 細胞への酸素供給は、酸素移動容量係数(k_La)と溶存酸素濃度(DO)に支配される。シコニン生産は k_La の影響を強く受け、フラスコ培養では k_La $10h^{-1}$ 以上で生産量が最大になった。また、シコニン生産に対する最適DOは5-8ppmにあり、それ以上では生産量が急激に低下した。細胞の増殖によって培養途中にDO低下がみられるときには、通気ガスへの酸素の混合などによってDOを一定に制御する必要があったが、ムラサキ細胞の場合には、 k_La が $10h^{-1}$ になるように空気の通気速度を設定すれば、培養期間中、上述の範囲内にDOを維持することが可能であり、シコニン生産量を最大にすることができた。

(2) 細胞の分散方法 細胞に効率よく酸素を取り込ませるためには、細胞を培地中に均一に分散させることが前提となる。しかし、植物細胞は微生物に比べて沈降しやすく、また、固くて脆い細胞壁と大きな液胞を持っているために攪拌によるシェアストレスによって増殖や物質生産が抑制されることがある。したがって、シェアストレスはできるだけ小さくすることが望ましいが、これと細胞の分散とを同時に満足させるのは難しく、植物細胞の大量培養で最も大きな課題といえる。演者らが取組んだ細胞の中でも、ムラサキ細胞はシェアストレスに弱く、小試におけるシコニン生産性を再現するのに、攪拌翼や装置の形状に工夫を要した。

なお、本講では上述のムラサキ細胞に関する知見と対比させてオウレン細胞やニチソウ細胞の大量培養についても触れたい。

(1) 植物生理学における光合成研究： 最近の科学研究は専門化し、また細分化されてややもすると隣接分野の動向すら見失うことも多い。植物生理学の中における光合成の研究もまた相当に専門化し、一見閉鎖系ともいえるような学問的雰囲気の中で光合成研究に限った情報交換がおこなわれている場合が多い。しかし、このような専門化・分極化の傾向は光合成の研究に限ったことではなく、他の分野においても大なり小なりみうけられる現象である。植物生理学の研究の将来の発展を考えると、このような細分化と閉鎖性の打破が必須であると考えられる。光合成の研究において最も重要なことは、生物学の他の分野にも影響を与えうる研究成果に対して高い評価を与えることである。光合成の研究にしか影響を与えない研究には次点の評価が適当であると考えられる。

(2) 光合成と環境： 光合成の分子機構が詳細に解明されてきたのに伴い、環境ストレス下における光合成の研究に興味を持つ研究者が徐々に増えてきている。植物は常に環境の変化に曝され、最適条件下で光合成をおこなうことはほとんどない。植物は種々のストレス下においても、ストレスを回避し、損傷を修復し、環境に適応して光合成の能力を維持している。この際、植物は環境応答に関連する遺伝子の発現を制御することによって、高い効率の光合成を可能にしている。我々の藻類を用いた研究によれば、主要なストレス要因である低温、高温、高塩、強光によって第一次の損傷を被るのは光合成、それも光化学系IIである。そのため、植物のストレス生理学の分子機構の解明において、光合成の研究の果たす役割は大きいと考えられる。

(3) 遺伝子工学はどこまで有用か？： 光合成の制御機構を支配している遺伝子の解析は現在着実に前進している。また近い将来（例えば5年以内）にはこれらの遺伝子の操作により、ストレス耐性の種々の形質転換植物を作製できるようになることは確実である。これは次の2点において重要な意義を持つ。第1は、ストレス耐性の形質転換体の解析から、植物のストレス耐性（および環境応答）の分子機構の解明が飛躍的に進展することである。第2は、ストレス下においても生存し、あるいは高い効率の光合成を営むことのできる農作物の作出が可能になる点である。しかし現在考えられる最も楽しい夢は、砂漠や極地のような極限環境下においても生存可能な植物を作り、これを将来の砂漠緑化等の戦略の一つとして用いる可能性を索ることである。生態学者とともに地球の生態系を考えることは、植物生理学者が近い将来真剣に取り組むべき課題の一つであると考えられる。

(4) しかしながら、このような現時点で考えることのできる研究は、「将来の研究」ではなくて、「現在の研究」である。新しい研究の動向は、現在では測り知ることのできない新事実の発見から生じてくることが多い。このことを考えると、光合成研究の将来を予測することは本当は不可能なのであろう。しかし、新事実の発見も常に新しい方向を目指す研究姿勢があってはじめて可能になる。したがって、我々は常に将来の研究の動向を考えながら研究を進めることが重要であると考えられる。

I. はじめに

植物とは何か？ 答えの多くはこの生物を最も特徴付ける機能に集約するであろう。その一つは光を利用した独立栄養のはたらき、すなわち光合成による生合成機能である。このはたらきは、生物圏における化学エネルギーの供給とガス環境のバランス維持を決定するが故に、植物科学における中心的な研究課題であり得る。この研究領域における将来の方向について話題を提供したい。その目指すところは植物の個体そして願わくば群体レベルでの生合成に関わる高次秩序の理解である。

II. 現状での研究の趨勢と問題点

光合成の生合成経路、とりわけ炭素と窒素の同化について今日の分子レベルでの知見は多様である。代謝の機序とコンパートメンテーションは光合成様式の異なる植物を問わず解明されており、主要な構成酵素の構造とその遺伝子構造の解析も進み、代謝系の構成についての大筋は理解されたと言ってよかろう。また、これらの代謝系の動的な側面、すなわち細胞での生合成系間の相互関係の理解も限られたものではあるが得られつつある。この代謝のいわば2次元的な視点を獲得の切っ掛けは内外の環境要因に対する酵素の活性調節の研究と中間体や産物の細胞内・間の輸送にかかわる研究であった。なかでも中間体輸送の研究は基本的には細胞下の生合成秩序を理解するにとどまっていたこれまでの研究に細胞生物学的な観点をもたらした。この新しい方向は分子遺伝学的手法をも踏まえたタンパク質のオルガネラへの局在化の研究において一層明確にされた。

細胞を基本単位と見なすこれらの研究においても未解決な課題は多い。例えば、遺伝子発現の調節という今日では一般化された命題についてシグナルやその伝達の実体はいぜん不明である。その核心には酵素・タンパク質が関わりと推定される、究明には遺伝学的な解析が有効であろう。それに適した原核光合成生物、単細胞光合成生物、植物培養細胞のモデルとしての重要性は高い。また、生合成の代謝系におけるそれら相互のもしくは他の異化代謝系とのコミュニケーションとそのしくみについては、基質や中間体レベルでの理解を除き未知の部分が多い。その理解は遺伝子発現のシグナル伝達の解明にも欠かせないであろう。それにはストレスの遷移過程の解析が有効であろうことは大腸菌などバクテリアにおける研究例から示唆される。

III. 今後の研究の方向性

光合成の生合成秩序を細胞から組織・器官へと発展させる研究にも萌芽がみられる。光合成産物の組織・器官間での輸送、光合成産物による光合成遺伝子発現の制御、遺伝子発現における組織・器官間での相互作用の研究などはその例である。これらの研究の延長上にはシンク/ソース機能や細胞・組織・器官の間の物質のコミュニケーションという多細胞系に固有の高次な生体秩序がある。また、光合成の生合成は分化、進化や適応の根幹でもある。斯様な視点からのアプローチによって他の研究領域との接点を広げることが植物科学としての発展には欠かせないであろう。基礎研究の社会での理解は専門化が進むにつれてますます困難となる。研究への努力とともに生物学の社会への翻訳努力もなされなければなるまい。

手元の古い講演要旨集を調べてみると、第9回国際光合成会議に向けてという副題付きのシンポジウムは、昨年(1987)の第31回岡山大会の折りにすでに一度開催されており、加藤栄先生が今回と同じ「光エネルギー変換系」のタイトルで講演された。さらに調べると、一昨年の第30回東京大会でも「植物生理の古い問題の新しい展開」なるシンポジウムが持たれており、やはり加藤先生が「H₁I₁L₁反応」と題する講演を行っておられる。今更なで自分が、というのが偽りのない心境であるが、委細電談即決の際には上の分析は到底不可能だったのである。

この手のシンポジウムの意図はなにか? 当該研究分野を位置づけ、現状を分析してその学問的鉅脈の広さ深さと魅力をを示し、近未来に開拓すべき研究の方向を提示するというのが学問的正論に違いないが、同時に、その採掘(研究)効率の良さ、ひいては研究費の豊富さを誇示して研究者間の世論形成を促すという学会政策的な側面もあるのだろう。しかしながら、文部省ではなく科学技術庁の研究機関に所属し、熱発光という特殊な手法によって酸素発生反応の研究を進めているスペシャリストにとっては、いずれも手に負える代物では無い。だが、企画委員の仲人口に乗った責任は取らねばなるまい。皆様の耳を煩わせることを予めお詫びしておく。

光エネルギー変換系研究における最近の画期的な成果は、いうまでもなく光合成細菌反応中心のx線結晶構造解析の成功であり、これがP S II反応中心研究に与えたインパクトは膨大で、到底この紙面に納めることはできない。幸いこれらの点については、三木ら、高橋と佐藤の各氏による優れた総説(蛋核酵 vol 34, No 6, 1988)があるのでそれを参照して頂くことにし、ここでは上の総説で指摘された両反応中心の間のおおまかな類似点と相違点を列挙しておく。類似点は主として還元側に集中している: D1D2 vs LM-subunits; Special pair; Pheo; QaQb; non heme Fe; herbicide binding site; だがD1D2はaccessory Chlに対するリガンドをもたない? これに対して酸化側では、LMはヘム鉄を結合しているがD1D2はMn-clusterを結合しており水を分解する; D1D2はアミノ酸残基電子伝達体ZDを持つが、LMにはこれが無い等かなりの相違点がある。上記の文献にはまた、伊藤、桧山両氏によるP S Iに関する総説が収録されているので、それらについてもここに列挙しておく。

P S I型(FeS型)反応中心 vs P S II型(QaQb型)反応中心; 紅色細菌RC vs P S II, 緑色嫌気性細菌RC vs P S I, 反応中心の進化; P 700二量体の構造は? A0, Fxの構造は? これらの空間配置は? P S I, P S IIともホモダイマーの反応中心は存在するか? 反応中心を取り巻く小型ポリペプチドの役割は? 等々興味ある問題が目白押しである。

さて、細菌反応中心とP S IIの最大の相違点、水分解系はどうか? 疑問と謎が山積している。触媒であるMn-クラスターの構造が不明。二分子の水からO₂が生成する反応の中間体の構造が不明。塩素イオン、カルシウムイオン等必須因子の役割が不明。ではなにも研究が進んでいないのかというと、そうでもない。EPR, XAFS, FTIR, Site-directed mutagenesis, 解体再構成, TL, 結晶化等あらゆる手法を動員して研究が進められており、Mnのリガンドアミノ酸や原子価が明かにされようとしている。Mnを含みO₂を発生するP S II粒子の結晶化も話題にのぼるようになった。西播磨に建設中の放射光施設SPRING 8に期待したい。

わが国のエネルギー変換系研究陣のレベルはなかなか高いが、進歩が速いだけに競争が激しいという悩みもある。しかしながら、光合成は植物を他の生物から区別する最も特徴的な機能であり、エネルギー変換はその中核に位置する反応である。短期的な評価や研究効率ばかりに捕らわれることなく、じっくり研究に取り組むことのできる環境を作り出して頂きたいと、本学会の諸先生方をお願いします。

○森川弘道、鎌田光宜、檜垣朝、濃野昌子、中田政司
(広大、理、植物)

大気環境汚染は今や地球規模で問題となっていることは周知のところである。従来、植物学研究の立場からの大気環境問題への取り組みは例えば、悪環境耐性植物あるいは環境指標植物などの研究が主流である。演者らはこの発想を転換し、植物の環境応答能力の解析を通して、悪環境を”好み”、環境汚染物質を栄養源として生育するような植物、すなわち”好大気汚染物質植物”(Air-Pollutant-Philic Plant)を開発することにより、大気汚染問題を植物学研究(植物バイオ)の立場から解決できるのではないかと考える。

光合成の素過程と密接に関連した光合成組織の環境応答の興味ある例として、植物葉は大気環境汚染物質の代表例の一つであるNO₂ガスを気孔を通して吸収、葉緑体内の硝酸同化経路で同化し、NO₂由来の窒素をアミノ酸、タンパク質に固定する能力を有すること(例えば米山ら1978年)がある。この植物のNO₂吸収・同化は植物の生長生理においてどのような意義があるのかは分かっていないが、この知見は植物はNO₂ガスを”窒素肥料”として生育する潜在的能力を有することを示している。

演者らはまず、自然界において植物のNO₂吸収・同化能力にはどれほどの幅があるのか、また、高いNO₂吸収・同化能力を有する植物が得られないかと期待して、スクリーニングからまず始めた。道路端の野生植物、栽培植物、および樹木を対象植物とした。植物体(主に実生)を一定濃度の¹⁵N O₂に明条件下、一定時間曝露させ、植物体を回収、洗浄、乾燥後、ケルダール分解してまず、還元態窒素の総量を定量し、他方質量分析により、還元窒素中の¹⁵N/¹⁴N比を定量し、両者から試料乾物重当りのNO₂ガス由来の窒素量を求めた。これまでに、約140種の植物種について調査し、野生キク科(たとえばダンドボロギク)にNO₂吸収・代謝能力の高い種が見つかった。また、一般に野生イネ科植物(たとえばイヌムギ)はこの能力が低く、最大能力の植物と最小能力の植物では約40倍の差異があることが分かった。また、キク科の栽培植物(例えばペニバナ)やシロイヌナズナもNO₂吸収・同化能力が高いことが分かった。樹木は調べた限り、本能力は一般に低かった。他方、同一種での個体による能力の差異は最大10倍あり、能力の高い植物種での個体別のスクリーニングを進めることにより、将来NO₂ガス浄化能力の高いクローンが得られることが示唆された。

また、NO₂吸収・同化能力の高い植物と低い植物について、気孔開閉応答に対するNO₂の効果を重量法により調べた。その結果、本能力の高い植物でもNO₂曝露により気孔を開くもの、応答しないものまた閉じるものがあり、また、本能力の低い植物でも同様に3つのケースがあった。このことから、植物のNO₂同化能力の高低は気孔開閉応答では説明できないと結論された。従って、おそらくNO₂(またはNO₃⁻)の細胞内への透過または細胞内でのNO₃⁻の代謝が植物のNO₂同化能力を規定しているものと推定された。硝酸代謝酵素遺伝子の発現は概日リズムの影響を受けるとされており、葉緑体ゲノムへの遺伝子導入・形質転換を含めた、トランスジェニック、またはトランスプラスミック植物を用いた研究も植物のNO₂ガス浄化機構を解明する上で興味ある課題であり、本研究についても現在進めている。この様に演者らは光合成研究の一局面としての植物のNO₂ガス代謝機構の解析を進め、大気環境問題を積極的に解決する植物の開発を目指したいと考えている。

植物の背丈の長短は、茎頂の「一次伸長分裂組織」(Sachs, R.M.1965) の activity によって決まるといえよう。すなわち、茎の伸長速度は細胞分裂による細胞増殖の速度と、細胞周期をはずれた細胞の拡大(特に伸長)速度及びその程度とによって律せられる。特に、細胞伸長の過程は貢献度が大きい。

細胞増殖の速度は細胞周期の進行速度であるが、これはその4つの素過程の時間によって決められる。細胞拡大の速度は、細胞壁と液胞に関わる細胞の機能と性質に依存している。すなわち、液胞の発達と吸水による細胞容積の増加と、それと平行して起こる細胞壁表面積の増加である。吸水の原動力は液胞の浸透ポテンシャルとアポプラスト液の浸透ポテンシャルとの差であり、潜在的には液胞の浸透物質の濃度によって影響される。細胞壁表面積の増加は、既存の細胞壁構造の緩みと、新しい細胞壁成分の合成添加によって起こる。他方、個々の細胞がどの程度まで大きくなり得るかということは、細胞の潜在的な拡大容力にも依っていると考えられる。この力を決めるものが何であるかは明らかではないが、1つの可能性は核の倍数性と関係があるかもしれない。すなわち、4C核細胞よりも8C核細胞の方が潜在的により大きく拡大し得るということである。

いずれにしろ、植物の背丈の調節は、以上のような細胞の素過程の調節を通しておこなわれるはずである。

細胞分裂・細胞伸長の調節因子として最も重要なものは植物ホルモンである。従って、これらのホルモンの内生レベルの多少は背丈に著しい影響を与える。背丈の正常な伸長に必要なホルモン(GAやオーキシン)の生合成系を触媒する酵素に異常があると、ホルモンの供給は抑えられ、植物は矮性化する。また、ホルモンの受容体またはそれに続く信号伝達系に関与するタンパク質因子に異常があっても同様のことが起こるのであろう。ホルモンの内生レベルが高いにかかわらず、矮性成長を示す場合はそのような可能性が高い。また、ホルモンの輸送に関する異常も背丈に影響すると考えられる。

正常の場合でも、植物ホルモンの内生レベルは、いずれなんらかのしくみで調節されているはずである。特に光などの環境因子がホルモンのレベルに大きく影響することはよく知られている。植物の背丈は赤色光で低くなり、暗黒で最高に徒長する。そして、暗黒で育てた方がGA含量が多い。また、フィトクロムの異常な突然変異株の中には光照射下でも徒長するものが知られており、やはりGA含量が多い。これらの事実は、フィトクロムは内生GAの合成速度の調節にあずかることにより、植物の背丈の調節している可能性が高い。

他方、ホルモンの生成と作用には異常がないが、作用を受ける標的が異常である場合にも背丈は影響を受けるであろう。例えば、細胞壁構成多糖の生合成・高分子化、多糖間架橋の形成などの過程に異常がある場合である。

ジベレリンやオーキシンなどが少ないために矮性を示す突然変異系統は昔から数多く知られてきたが、そうした突然変異も結果的には細胞壁がホルモンの影響を受け、そのために矮性となっていることが多い。また植物ホルモンとは一応無関係に細胞壁が直接突然変異を起こし、その結果矮性となった例もあり、農業上重要な半矮性穀類に多く知られている。

1 ホルモン量の変化による矮性突然変異

a. オーキシン 11種類の一遺伝子突然変異系統オオムギ幼葉鞘の細胞壁を調べたところペクチン、セルロース含量では特別の差は見られなかったが、ヘミセルロース中の比較的微量成分であるガラクトースとマンノース含量が成長速度との間に正の相関を示した。

b. ジベレリン ジベレリン非感受性のエンドウ *1k*, *1ka*, *1kb* とジベレリン感受性のエンドウ *1w*, *1s*, *1e* にジベレリンを処理すると、感受性のエンドウは茎の伸長を促進したが、非感受性のエンドウは茎の伸長を促進しなかった。しかしジベレリン処理を行なった非感受性エンドウの茎をよく観察すると、茎が太くなっていた。細胞壁を抽出して分析すると、ジベレリン処理で、ペクチン量はあまり変化しなかったが、ヘミセルロースとセルロース含量はジベレリンによる伸長成長とは無関係に、いずれも著しく増加していた。このことはジベレリンが細胞壁成分の生産を促進しているが、細胞壁中に含まれるセルロースミセルの方向性を一定にすることができないために、ある系統は茎が太くなり、他の系統は茎が縦方向に長く伸長していることがわかり、ジベレリンは矮性と関係をしているが、一方ジベレリンはほとんどの場合細胞壁の合成を促進しており、成長を直接あるいは間接に制御していることが明らかになった。

2 ホルモンを直接經由しないとされる矮性突然変異

a. ヘミセルロース成分の変化による矮性化

一遺伝子突然変異系統オオムギOUM145の幼葉鞘はオーキシンを大量に含むにもかかわらず、伸長成長速度が遅い。この系統の細胞壁を分析すると、ペクチンやセルロース含量に特に差は見られなかったが、ヘミセルロース中のアラビノースとキシロースが特に多く、セルロースミセル間を糊のように接着しているアラビノキシラン含量が多いために、矮性となっていると思われる。

b. セルロース含量が少ない矮性突然変異

オオムギの中に茎が折れやすい突然変異があり、それぞれ *fs*, *fs2*, *fs3* の3種の異なった遺伝子の存在が知られている。一遺伝子突然変異の *fs2*, *fs3* はそれぞれ正常系統に比べて背の高さが低かった。野外に成育したオオムギの稈を用い、細胞壁構成成分を測定したところ *fs2*, *fs3* はそれぞれ正常系統に比べてセルロース含量が1/5から1/6と少なく、セルロース含量の少なさが矮性と折れやすさの2つを支配していると考えられる。さらに *fs3* は *fs2* にくらべて若い時期に発現することから、この遺伝子はセルロース合成のtimingを支配している遺伝子であると考えられ、おそらく5'の上流域でセルロース合成時期を制御していると思われる。

ジベレリン (GA) は植物の茎葉部に対して顕著な節間伸長促進活性を示し、矮性発現と深い関わりのあるホルモンである。現在までに高等植物から70種以上のGAが単離、構造決定されているが、そのうち、すべてのGAが伸長促進活性を示すのではなく、GA₁、GA₄などの特定の化学構造をもつものだけが活性を示す。

植物の矮性突然変異体はGAの生合成研究に極めて有効な材料であり、二つに大別することができる。第一のグループはGAの生合成に欠損が起こり、活性型のGAを生産できないために矮性を示すもので、これらの突然変異体は活性型GAを外から投与することにより正常型と同等の生長を示す。第二のグループはGAの受容体またはそれ以後の活性発現までの情報伝達系のどこかに異常を示すもので、外から活性型GAを与えても矮性が回復しない。矮性突然変異体の90%以上が第二のグループに属するが、その研究はまだ殆ど明らかにされていない。

GAの生合成に異常のある突然変異体は欠損部以降のGA生合成中間体を外から与えると矮性が回復することからGA生合成のどの段階が欠損しているのか予想することができる。しかし、イネの矮性種の短銀坊主 (dx) は生物検定ではカウレンの生合成に異常があると予想されたが、内生のカウレン量は正常型と短銀坊主の間に有為の差がないことがGC-MS分析によって山根らによって示されたので生物検定法のみによる判断は注意を要する。

GAの生合成は20段階以上の反応であり、大きく3段階に分類できる。第一段階はメバロン酸からカウレンまで、第二段階はカウレンからGA₁₂-アルデヒドまで、第三段階はGA₁₂-アルデヒドから各種GAまでである。第一段階で重要なカウレンの環化酵素は現在、筆者の研究室でカボチャと *Gibberella fujikuroi* から単離、精製が進められている。第二段階を触媒する酵素はNADPHを要求する一原子酸素添加酵素で、膜結合型のチトクローム P450 酵素である。第三段階は α -ケトグルタル酸要求型の酸素添加酵素によって触媒される反応である。とくにGAの活性発現に重要な 3β 水酸化酵素やC-20 GAからC-19 GAへの変換酵素はこのグループに含まれる。筆者のグループをはじめとして、いくつかグループが現在この酵素群の精製を進めているが、酵素が極めて不安定なために、精製に難航している。しかし、近い将来に酵素が精製され、その蛋白質をコードしている遺伝子も解析されると思われる。

一方最近、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用いて遺伝子の側からGAの関係する矮性発現機構を明らかにしようとする研究が進められている。GAがないと発芽できない突然変異体がいくつかとられている。Tai-ping Sun は *ga1* が遺伝子欠損型突然変異体であることに着目して、*ga1* の欠損している遺伝子の塩基配列の一部を明らかにした。*ga1* はカウレンを外から与えると矮性が回復するのでカウレンの環化酵素が欠損しているのではないかと考えられたが、Zeevaartらが *ga1* の未熟莢からセルフリー系を調製したところ *ga1* は正常型と同様にメバロン酸をカウレンに変換することができ、環化酵素は欠損していないことが示された。Brain Hauge は *ga1* と同様に発芽にGAを要求する *ga2* の遺伝子を明らかにするために chromosome walking を行なっている。目的の遺伝子に近づいているらしいが未だ成功したという報告はない。

光合成にその生存の基盤をおく植物にとって光は最も重要な環境要因の一つであり、植物は光環境の変化に敏感に反応する機構を発達させてきた。植物の伸長成長も周りの光環境に大きく左右されることが知られている。植物の光形態形成反応を制御している光受容系としては、フィトクロム系や“青色光受容色素”系などが知られているが、本講演では最も詳しく研究されているフィトクロム系について最近の我々の研究を中心にご紹介する。

遺伝子導入タバコを用いた研究；我々は、フィトクロムの作用の分子機構を調べるため、遺伝子工学的技術により植物体内のフィトクロムの状態を操作しその効果を調べている。その第一歩としてイネ・フィトクロムA遺伝子をタバコに導入したところ、分光光学的活性をもつイネ・フィトクロムA蛋白質(phyA)の発現が確認された(Kay等、1989)。さらに、光による茎の伸長阻害をこれらの植物で調べたところ光に対する感受性が高まっていることが観察された。またこの反応は赤・近赤外光可逆的であった(Nagatani等、1991)。したがって、導入したイネphyAがタバコに本来備わるシグナル伝達系を通じて茎の伸長を制御していると考えられた。またN末端付近のアミノ酸配列を人為的に改変したphyA遺伝子を用いたところ光に対する感受性をさらに高めることができた(Stockhaus等、本大会口頭発表)。この実験系を用いることにより今後フィトクロム分子の構造と機能の関係が次第に解明されて行くことが期待される。

突然変異体を用いた研究；最近の生化学的・分子生物学的研究によりフィトクロムには複数の分子種(phyA、phyB、etc.)が存在することが明らかになり、各分子種の役割分担を調べるのが次の課題として浮上してきた。我々が様々な光形態形成の突然変異体でフィトクロムの有無を調べたところ、キュウリの*lh*(Lopez等、1992)と*Arabidopsis*の*hy3*(Nagatani等、1991)はともにphyBを欠くことがわかった。これらの突然変異体では、下胚軸の徒長とともに成熟植物体の徒長が既に報告されている(Adamse等、1988a)。一方、phyAを欠く可能性が高いトマトの突然変異体*aurea*(Koornneef等、1985；Sharma等、本大会口頭発表)では、下胚軸の徒長は認められるものの成熟した植物体の形態はほぼ正常であることが報告されている(Adamse等、1988b)。つまりphyBは長期にわたり茎の伸長を制御しているが、phyAは発生初期にのみ働いている可能性がある。今後はこの点を明確にすると同時に、phyAとphyBの情報伝達系の差異についても研究を進めたい。

謝辞；遺伝子導入植物に関する研究はRockefeller大のN.-H. Chua研究室、突然変異体に関する研究の一部はSalk研究所のJ. Chory博士、Wageningen大のR. E. Kendrick博士との共同研究である。また、その他の部分は全て理化学研究所の古谷雅樹研究室で行なわれた。共同研究者の方々にこの場をお借りしてお礼申し上げます。

我々は、Riプラスミドによる形質転換実験を行い、TL-DNAのみを保有する形質転換体を作出した。得られた形質転換体をノーザン法で分析したところ、rolCのmRNAの発現量が最も多いことを示した。そこで、rolCのみをもつトランスジェニック・タバコを作出し、rolC遺伝子による節間の短縮、草丈の低下、花の小型化、花柱の突出、開花期の促進などの変化を見出した。

つぎに、rolC遺伝子のコードするタンパク質についての情報を得るため、大腸菌中でRolCと β -ガラクトシダーゼとの融合タンパク質を発現させ、それを抗原としてRolC抗体を作成した。アフィニティー精製したRolC特異的抗体を用いて形質転換体の抽出物を調べたところ、約22kDaのポリペプチドが検出された。また、細胞分画によりRolCは可溶性タンパク質として細胞質中に存在することを明らかにした。また、最近、ドイツ・マックスプランク研究所のグループはrolC遺伝子産物が、サイトカイニン・グルコシド複合体よりサイトカイニンを解離する酵素活性を示す事を報告している。

rolC遺伝子のプロモーター活性を検出するためにGUS遺伝子とのキメラ遺伝子を植物へ導入し、その発現部位を調べた。その結果、rolCプロモーターは主として維管束細胞(師部柔細胞)で特異的に発現する事が確かめられた。さらに、このような組織特異的発現に関与するシス・トランス因子の解析も進行している。

rolC遺伝子の発現はなんらかの外的、内的シグナルにより制御されているものと思われる。我々は、糖によるrolCプロモーターの発現促進効果を見出した。すなわち、タバコの幼植物を0.4Mシヨ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。従って、プロモーターの活性化には浸透圧ではなく、シヨ糖の代謝が関与しているものと考えられる。この様なシヨ糖によるrolCプロモーターの活性化は師部細胞を通して行なわれている。以上の知見を総合してrolC遺伝子による矮性発現の分子機構を考察する。

(文献)

- Sugaya, S., Hayakawa, K., Handa, T. & Uchimiya, H. : *Plant Cell Physiol.* 30, 649-653 (1989)
- Matsuki, R., Onodera, H., Yamauchi, T. & Uchimiya, H. : *Mol. Gen. Genet.* 220, 12-16 (1989)
- Kanaya, K., Tabata, T., Iwabuchi, M. & Uchimiya, H. : *Plant Cell Physiol.* 31, 941-946 (1990)
- Fujii, N. & Uchimiya, H. : *Plant Physiol.* 95, 238-241 (1991)
- Oono, Y., Satomi, T. & Uchimiya, H. : *Gene* 104, 95-98 (1991)

植物生理学で扱う典型的な矮性とは、正常と比較して背丈のみ低く他の形質は殆どかわらない植物体を指す。こうした矮性形質は遺伝し、単一遺伝子の変化によるものも多い。矮性現象が注目されるのは、植物の生長、形態形成における遺伝子発現の解析に好適な材料であるばかりでなく、農業栽培のうえでも有用なためである。私達は矮性の分子機構を探る手がかりとして、「矮性と正常では幾つかの遺伝子発現様式が異なる筈」という作業仮説を立てて一連の実験を行った。

動物細胞での研究によると、活発に mRNA を転写している遺伝子 DNA は沈黙状態の遺伝子 DNA に比べて 5 メチルシトシン (m^5C) の量が少ない事が見出されている。DNA メチル化と遺伝子発現は逆相関にある、というものである。私達はこうした現象に着目して、正常と矮性の間での遺伝子発現の差を m^5C をマーカーとして調査した。その結果、トウモロコシとイネにおいて m^5C の分布に差のある事、5 アザシチジン (azaC) というメチル化阻害剤で芽生えを処理すると脱メチル化がおこり、同時に矮性化も誘導される事、これらの形質は遺伝すること、などを見出した。これらの結果は DNA メチル化が植物遺伝子発現においても大切な制御機構のひとつであることを示唆するものである。そこでどのような遺伝子が脱メチル化で発現制御を受けたかを調べたところ、ヒトプロトガン遺伝子 ras に類似した遺伝子 rgp1 が得られた。

GTP を結合する分子量 25k の蛋白質 (rgp1-p25) をコードする。 rgp1 の転写は azaC で誘導された矮性イネでは正常に比べてかなり低下しており、その傾向は少なくとも M_4 まで遺伝した。その生理作用を調べるために rgp1 の蛋白質コード部位をタバコに導入したところ、矮性、頂芽優勢の消失、花の異常、という 3 つの形質変化を起こした。とりわけ頂芽優勢の消失に伴う枝分れは組換え体の 80% 以上に見られた。頂芽優勢はオーキシンとサイトカイニンの微妙なバランスによって保たれているので、 rgp1 導入の組換え体ではこれらホルモンの代謝系あるいは受容系に変化をこうむったらしい事が知られた。しかし、その構造から考えて rgp1 蛋白質そのものが直接ホルモンの合成/利用系に係わっている可能性は少ないように思われる。むしろ外界からの情報の伝達系に位置しており、この系を制御しているのではないだろうか。 rgp1 の導入によって正常な情報伝達系の働きが狂ってしまい、情報過多あるいは情報不足におちいった結果ホルモンバランスを崩した、とも考えられる。

細胞のシグナル応答システムは複雑だが、一般に外界の刺激を受容したのち、その信号を細胞内の化学信号に転換し、増巾する事が基本となっている。たとえばカルシウムイオンチャンネルの活性化、イノシトール燐酸化化合物の移動、cAMP を介した蛋白質のリン酸化カスケードなどが具体的に知られている。多数の蛋白質がこの経路に関与しており、 ras もその一員である。外界からのシグナルはこうした経路を通して最終的に転写調節因子に伝えられ、遺伝子の転写がスイッチオン/オフされる事によって応答が決定される。 rgp1 を起点としてこれらの経路を解明して行けば矮性現象の理解の手がかりが得られるのではないだろうか。

°南川隆雄、山内大輔（都立大・理・生物）

マメ科果実の成熟期にはソース器官である葉からシンク器官である種子への大きな物質の流れが生じるが、この中で規模こそ小さいがさや（種子を除く果実）も1つのシンク・ソース機能を発揮する。すなわち、マメ科のさやは単にその中にある未熟種子を保護しているだけではなく、種子の成長のための一時的な貯蔵器官としての代謝的役割も果たしている。インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*) のような未熟種子を食用に供する種類ではこの傾向は顕著であるとみられる。

果実の成長はまずさやへの養分の集積によって始まり、ついで種子形成期をむかえるとさやはセネッセンス期に入る。さやは比較的短期間のうちにシンク機能からソース機能への転換が起こるところがユニークであり、また時期を限ればさやでは両方の機能が同時進行している可能性も考えられる。ここではまずインゲンマメ及びケツルアズキ (*Vigna mungo*) 果実成熟期におけるさやでのタンパク質および炭水化物の動態を概観し、ついでこれらの分解に主要な働きを果たすエンドペプチダーゼと α -アミラーゼの発現について述べる。

エンドペプチダーゼ：インゲンマメ果実成熟期のさやでは開花後 8-12日目 (8-12 DAF) からタンパク質含量は増加し始め、17-21 DAF にピークに達して、その後減少に転じるが、さやのセネッセンスの始まる 17-21 DAF は種子発達の開始期に一致する。セネッセンス期のさやではエンドペプチダーゼ活性は著しい上昇を示し、この上昇は種子完熟期に相当する 22-27 DAF まで続く。このようなさやの抽出液中には少なくとも 5 型のエンドペプチダーゼが存在する。このうち主要とみられる酵素 EP-C1 を精製し、cDNA クローンを単離した。この cDNA の塩基配列から導き出されたアミノ酸配列は、別にケツルアズキ発芽種子子葉から単離したシステイン・エンドペプチダーゼ (SH-EP) のそれと 94% の相同性があった。EP-C1 と SH-EP は免疫学的にも相同であるが、分子量にはわずかな差がみられる。EP-C1 cDNA をプローブにしてインゲンマメのゲノムライブラリーから 4 個のクローンを単離し、そのうちの 1 個に含まれる EP-C1 遺伝子の塩基配列と転写開始点を決定した。EP-C1 遺伝子のイントロンの構成や位置は SH-EP 遺伝子のものと一致した。また、この cDNA を用いて果実成熟期のさやにおける EP-C1 mRNA 量の経時変化を測定し、酵素活性や EP-C1 量の変動と比較した。

α -アミラーゼ：インゲンマメ及びケツルアズキの果実成熟期のさやでは、上記のタンパク質ほど顕著ではないが、テンブンの集積とそれに続く分解が観察される。さや当りの α -アミラーゼ活性はインゲンマメでは 17-21 DAF に、またケツルアズキでは 15 DAF にピークを示す。われわれはこれまでの研究によりケツルアズキ発芽期の子葉中で活性上昇を示す α -アミラーゼを単離し、その抗体を用いて同子葉の cDNA ライブラリーより α -アミラーゼ cDNA クローン (λ AMY11) を得、挿入部の配列を決定している。この子葉の α -アミラーゼと免疫学的に相同な酵素が上記の両植物のさや中にも検出された。免疫プロットングにより観察された果実成熟期さやでの α -アミラーゼ量の経時変化及び λ AMY11 cDNA をプローブにした同 mRNA レベルの経時変化を調べ、酵素活性のそれと比較した。

金山喜則、山本昭平（名古屋大・農）

果実が健全に成長し、食品として十分な価値を持つに至る過程で、光合成産物の転流とその集積が担う役割は大きい。リンゴ・ナシ・モモなどのバラ科果樹での転流糖は主にソルビトールであるが、その研究はショ糖転流植物に比べると予備的なものにとどまっていた。我々はソルビトール代謝の機構を明らかにするため、まず関連酵素の探索から開始し、続いて各酵素の精製及び遺伝子の単離を行うこととした。

主にリンゴで検討されてきた代謝経路を概説すると、およそ次のようになる。まず葉において、ソルビトール6リン酸脱水素酵素（S6PDH）によりグルコース6リン酸がソルビトール6リン酸へ変換され、ソルビトール6リン酸ホスファターゼによる脱リン酸化反応によりソルビトールが合成される。S6PDHの細胞内局在については、ショ糖密度勾配遠心法などにより、可溶性画分及び葉緑体のチラコイド膜に存在することが示唆されている。一方果実へ転流したソルビトールは、主にNAD依存型ソルビトール脱水素酵素（SDH）およびソルビトール酸化酵素（SOX）によってそれぞれフルクトース、グルコースへ変換され蓄積する。若いリンゴ果実の液胞には700mM余りの糖が集積しているが、その大部分はフルクトースとグルコースである。すなわち転流されたソルビトールは、細胞の可溶性画分に存在するSDHによりフルクトースに変換され液胞に取り込まれる一方、細胞壁、細胞膜等に存在するSOXによりグルコースに酸化される。液胞に直接吸収されたソルビトールも、SOXによりグルコースへ酸化されることが確認されている。SDHに関しては、NADおよびNADP依存型の両酵素の存在を確認しており、果実生育にともなう活性の変動からNAD-SDHが重要であると考えられる。NAD(P)を使わないソルビトール代謝酵素としてはSOXが部分精製され、その反応様式、Km値（100mM）及び至適pH（4.0）が明らかになっているが、ソルビトールキナーゼは検出されていない。

ソルビトール合成のKey酵素と考えられるS6PDHは、リンゴ実生より約2000倍にまで精製され、SDS-PAGEにおいて約36kDaの単一バンドを示した。分子量はゲルろ過で約65,000であり、ビワにおける本酵素と同様に二量体であると考えられた。VmaxはS6P合成反応において高く、特に中性付近でこの傾向が顕著であった。S6P合成反応における活性調節物質を探索したところ、糖および糖リン酸エステルはあまり影響しなかったが、ATPが顕著な活性阻害をみせた。ADPも阻害作用を見せたことと対照的に、AMPはほとんど活性に影響を与えなかった。解析の結果これはNADPHに対する競争阻害であり、ATP、ADPに対するKi値はそれぞれ0.18mM、0.30mMと求められ、生体内でもこれらの物質の濃度比によってソルビトール合成が調節されている可能性がある。リンゴ実生cDNAライブラリーより、ビワS6PDH抗体を用いて本酵素のcDNAクローニングを行い、上記精製酵素の一部アミノ酸配列との比較及び大腸菌における活性の検出により同定した。このcDNAクローンは310のアミノ酸をコードする930塩基対の翻訳領域をもち、計算分子量は35,000と精製標品のものとほぼ一致した。そのアミノ酸配列からアルドース・ケトース還元酵素ファミリーとの相同性が認められた。

今後は、SDHとSOXに関しても精製及び遺伝子の単離を行うと共に、これらソルビトール関連酵素の発現の検討を行い、園芸作物における糖集積能の増進あるいはソルビトール合成能の導入を考えていきたい。

○山形裕士、増沢拓也、岩崎照雄（神戸大・農・農化）

数種の果実中には、その生理的意義は不明確であるが、プロテアーゼが多量に存在する。パイナップル、プロメライン、フィッシュ、アクチニジン等のチオールプロテアーゼについては古くから多くの研究の蓄積があり、植物酵素の中でも物理化学的、酵素化学的性質や構造等がよく解析された酵素となっている。これに対して、植物起源のセリンプロテアーゼに関する研究は少ないが、メロン果実中にはユニークな耐熱性のアルカリ・セリンプロテアーゼ(MSP)が多量に存在し、プリンスメロンの酵素は、金田らによってククミシンと命名されている。

我々は、これまで、二つの観点からMSPを材料として生理生化学的研究を行ってきた。一つの興味は、セリンプロテアーゼの分子進化についてであり、これまで不明であった植物起源セリンプロテアーゼの一次構造を解明して、その分子進化上の位置づけを行なうことである。もう一つの興味は果実タンパク質遺伝子の発現調節機構の解明と、その応用としての、異種有用タンパク質を果実に発現・蓄積するトランスジェニック果実の作出である。これら二つの目的を達成するための共通の出発点は、cDNAの構造解析である。そこで、MSPタンパク質の精製、キャラクタリゼーションに続いて、果実での合成様式の解析とcDNAのクローニング及び構造解析を行ってきたので、これまでに得られた結果について報告する。

受粉後の時期の異なるアミメロンについて組織別にカゼイン分解活性を測定した結果、MSPは果実のネット形成期までの生長初期に合成され、その後完熟まで量的に変化せず、果芯部の果汁中に蓄積した。またtissue blotting分析よりMSPの合成部位は種子に接した周囲の組織と考えられた。果実の種子周囲の限られた組織が果実タンパク質の合成部位であるとする報告は極めてまれである。さらに組織ブロックのバルス標識実験よりMSP前駆体の存在が示唆された。果汁への蓄積と前駆体が存在することから、本酵素は分泌酵素であると推察された。また成熟酵素のnative型67 kD MSPは果実の成長後期に果汁中で限定自己消化し、54 kD MSPに変化した。この54 kD MSPはnative型MSPのカゼイン分解活性を100%保持していた。

一方、成長期のメロン果芯部よりmRNAを調製し、そのcDNAをλgt11に組み込んでcDNAライブラリーを作製した。免疫スクリーニングの結果、5個のポジティブクローンを単離したが、これらはいずれも同じMSPをコードする不完全長クローンであった。そこでさらにこのcDNAをプローブとしてライブラリーをスクリーニングし、全長と考えられる約3 kbのクローン(λMSP 177, 211)を単離した。これまでに決定した部分塩基配列から推定されるアミノ酸配列の中に、枯草菌のセリンプロテアーゼと高いホモロジーを有する領域が存在した。このことは、植物セリンプロテアーゼが、動物のトリプシンファミリー等のセリンプロテアーゼではなく、微生物のズブチリシンファミリーのセリンプロテアーゼと進化的に類縁関係にあることを示唆した。一方、ゲノミックサザン分析の結果、MSP遺伝子はハプロイドゲノムあたり唯一つ存在した。現在、MSP遺伝子のクローニングを進行中である。

今後はMSP遺伝子の構造解析とともに、タンパク質工学的手法によるMSP前駆体のプロセッシング機構の解析、MSP cDNAのタバコでの発現解析、さらには別のウリ科果実での発現解析等を進めて行きたいと考えている。

果実は糖を蓄積するシンク器官である。果実には主にショ糖を蓄積する果実とグルコースやフルクトース等還元糖を蓄積する果実がある。例えば栽培種のトマト果実は還元糖を蓄積するが野生種の果実にはショ糖を蓄積するものがあり、果実の全糖量はショ糖を蓄積するタイプのものが多い。一般にショ糖を蓄積する果実ではショ糖を分解する酸性インペルターゼ(INV)活性は低く、果実のショ糖の含量とINV活性は逆相関が有るといわれている。私達はショ糖を蓄積するメロンとカキ果実、還元糖を蓄積するトマト果実のINVの性質を比較検討した。

一般に果実には酸性(pH4-5)の低塩濃度緩衝液で抽出される可溶性型とその条件下では細胞壁に結合しており0.5MのNaClまたはpHを上昇させることにより可溶化される細胞壁結合型の少なくとも2種類のINVアイソザイムが含まれていると考えられている。私達はINV活性の高いトマトとカキの成熟果実からINVを精製した。トマトとカキの成熟果実の主要なINVは細胞壁結合型でトマト果実では分子量約50kDa、カキ果実では約70kDaの糖タンパク質であった。その至適pHは4.5、Km値や阻害剤に対する性質は大麥の細胞壁結合型INVに似ていた。一方メロン果実では受粉後果実の肥大に伴ってINV活性は増加したが、果実の成熟に伴って活性は著しく減少し成熟果実にはほとんど含まれていなかった。活性の最大値を示す受粉後14日目の果実から可溶性型と細胞壁結合型のINVを抽出し部分精製した。さらにトマト果実のINVの抗体を用いてウエスタンブロッティングをすると両酵素とも分子量70kDaのポリペプチドであった。トマト果実のINV抗体との反応性をもとにSDS-PAGEでタンパク質を精製しStaphylococcus aureus V8プロテアーゼで分解しペプチドマップを比較すると、両酵素はきわめて似たタンパク質であった。果実の可溶性型及び細胞壁結合型INVは至適pHが5.5と4.5で異なりアイソザイムと考えられるが、この両酵素が抽出する際のアーティファクトで生成するのではなく、組織内で細胞内と細胞外に局在するか調べた。すなわち受粉後14日目のメロン果実の果肉を切片にしてその切片を0.5M NaClを含む酢酸緩衝液(pH 5.0)で洗い細胞間隙に含まれるタンパク質を抽出しINV活性を測定したところ、その画分に至適pH4.5の細胞壁結合型の酵素が主に含まれており可溶性型酵素と細胞内の局在性が異なることが示された。同様の実験をカキ果実の果肉組織よりシングルセルを調製し同様の実験を行ったところカキ果実の酸性INVも細胞壁に局在していた。トマト果実には微量の可溶性型酵素の存在が認められたがカキ果実では検出できなかった。この結果は果実のショ糖の蓄積と可溶性型INV活性は逆相関があることが示唆された。現在私達は果実のINVタンパク質の構造や発現の機構を調べるためにcDNAのクローニングを試みている。トマト果実の精製酵素をSDS-PAGEで分離し50kDaとその分解物の約20kDaのポリペプチド断片をアミノ酸シーケンスを行った。その配列に相補的なオリゴヌクレオチドを合成しそれをプライマーにしてcDNAを合成しさらにPCRでトマト果実のINVのcDNAをクローニングし塩基配列を解析中である。この結果をもとに他起源のINVと構造を比較検討する。

エチレンには様々な生理作用が知られているが、その中で最もよく知られ、農業上の応用面も含め、我々に最も関わりが深いのは、果実の追熟促進である。そのため、エチレンは追熟ホルモンと呼ばれることもある。このエチレンの生成は、生合成経路の律速酵素であるACC合成酵素によって調節を受けている。我々はACC合成酵素の発現調節機構を明らかにすることによって、エチレン生合成機構の解明を試みている。エチレンは果実の追熟時のみならず、傷害などのストレスや、オーキシンの作用によっても生成されてくるが、これらの時に誘導されてくるACC合成酵素が、それぞれに特異的なアイソザイムであることを証明してきた。ここでは果実という組織に注目して、発現の様相をまとめてみる。

クライマクテリックな果実として代表されるトマト果実には少なくとも2種類のACC合成酵素、すなわち追熟誘導型(R型)及び傷害誘導型(W型)が発現している。R型とW型酵素を活性や、抗体で区別することは難しいが、cDNAの塩基配列は72%の類似性で相互に分子対合せず、かつmRNAの分子量がそれぞれ1.8, 2.1 kbであるので分子生物学的手法を用いれば、両者を区別することは容易である。したがってまず、トマト果実追熟過程では両ACC合成酵素がどの様に発現してくるか解析した。R型は追熟に伴い発現し、その発現パターンは果実の着色と相関している。しかし、果実に傷害を与えても、R型遺伝子の発現は増加しないでむしろ減少する。一方、W型もR型と同様に追熟にともなって発現してくるが、傷害を与えると未熟組織においても顕著に誘導されてくる。ここで、組織に人為的に傷害を与えなくても、追熟の進行により引き起こされる軟化は、細胞にとって傷害の一要因と考えられる。トマトの果実におけるACC合成酵素の発現は、第1に遺伝的にプログラムされたR型が追熟開始の時期、シグナルを感知して発現し、追熟が開始され、その結果として、W型の誘導を引き起こして更に追熟が進むと推測することができる。このことを明らかにするためには、追熟開始の初期にR型から発現してくることを証明しなくてはならない。

リンゴもクライマクテリックな果実の代表であるが、この場合、R型は追熟果実でよく発現しているけれども、組織に傷害を与えても顕著なACC合成酵素の誘導はみられず、W型が果実では発現していないように見える。

カボチャやキュウリは非クライマクテリックな果実といえよう。これらの追熟果肉組織では、傷害を与えるとW型ACC合成酵素が著しく誘導される。けれども傷害を与えない場合には、極めて低い活性しか検出されない。つまりR型が発現していないように見える。一方、追熟組織にオーキシンを与えてもACC合成酵素は誘導されないが、未熟組織の場合はオーキシン誘導型ACC合成酵素(A型)が発現してくる。このときW型も僅かに誘導されてくるが、これは高濃度のオーキシンを与えたことによるストレスにより誘導されてきたものと考えている。さて、ここでオーキシンと果実の関わりを教科書から拾ってみると、トマトなどは受粉しなくてもオーキシン処理することにより着果、子房の肥大を引き起こすことができたり、イチゴの果実の成長をオーキシンが促進することはよく知られたことである。これらの現象と、未熟果実でのA型ACC合成酵素の誘導は、無関係ではないように思える。この推測に証拠は何もないが、何らかの結果を報告をしたいと考えている。

そのほか、アボカド、バナナ果実の例も挙げて報告したい。

丸茂晋吾 (名古屋大・農・農化)

1989年 文部省重点研究「高等植物における生殖機構の細胞・分子生物学的解析」が発足し、その一環として「生殖生長への転換機構」班が組織された。本班の主要なる目標は、花成現象に内包される様々の生理活性物質の探索であったが、その最たるものは勿論花成ホルモンである。本研究班においては数種類の植物の花芽形成現象に内包される活性物質の探索研究が精力的に行われた。そのなかには、大変注目すべき実験結果を出したグループもある。本シンポジウムでは私共のタバコの研究を紹介するが、時間が許せば全体としての研究の進展にも言及したい。

タバコの *in vitro* 花芽形成系とクロロオーキシシン・アンチオーキシシンの効果

我々は、活性物質の検索に用いるバイオアッセイとして、タバコの花梗表皮を用いた組織培養を採用した。その際、培地中に加えるオーキシシンとして、IAAのほか、4-chloroindole-3-acetic acid(4-Cl-IAA)および、5,6-dichloroindole-3-acetic acid(5,6-Cl₂-IAA)を検討した。また、アンチオーキシシンを加える実験も行い、5,7-dichloroindole-3-isobutyric acid(5,7-Cl₂-IIBA)と共に、既知の p-chlorophenoxyisobutyric acid と 2,3,5-triiodobenzoic acid も検討した。その結果、新たなバイオアッセイ系としてBAP 1 μM、IAA 5 μM、5,7-Cl₂-IIBA 5 μM を添加した花芽形成検定系(以下(1-5-5)系と称す)を確立し、同時に、既存のBAP、IAAをそれぞれ1 μM 含む培養系((1-1-0)系)も併用した。

タバコ葉滲出物に含まれる花芽形成物質の精製・単離

我々の用いたタバコ品種MCは短日植物であり、外観葉数10枚の植物体を花成誘導短日条件(16時間暗期-8時間明期)または花成非誘導条件(連続光照射)下で2週間栽培した後、若葉2枚を葉柄基部で切断し、葉滲出液を採取した。滲出液のpHは短日処理区(7.79)が長日処理区(7.15)より明らかにアルカリ側を示した。乾燥重量も、短日処理区(平均0.70mg)は長日処理区(0.30mg)を上回った。次に、滲出液をバイオアッセイにかけたところ、短日処理区のみが(1-5-5)、(1-1-0)両系において花芽数を増加させた。サンプル量を葉の1/2~1枚分加えた場合に無添加の約2倍にまで増加させた。この花芽数の増加は両系で同様であったが、花芽の形態は(1-5-5)系のみで花芽が大きく外観も正常な形状で生長した。

我々は次に、タバコMCの大規模な栽培を行い、短日処理葉1300枚からの葉滲出物を、始めにSephadex G-25 superfine、次にCM-セルロースカラムクロマトグラフィーを行い、酢酸-トリエチルアミン緩衝液で展開し、230nmでモニターしながら分取し、各フラクションを凍結乾燥して重量を測定した。その結果、活性は230nm吸収を示さない後から溶出されるピークにあることが分かった。続いて、Cosmosil 75C₁₈-OPN 逆相オープンカラムで2回展開、最後にDevelosil ODS-5 逆相HPLCを用いて2回精製した結果、HPLC上単一ピークとして活性物質を単離した。このようにして単離した活性物質は、約0.1ppmで、花芽数をサンプル無投与群に比して約2倍に増加させた。現在、単離された花芽形成物質の研究を進めている。なおここに得られた活性物質は、生物検定にタバコ花梗を用いたことから、花成誘導か花芽促進活性か不明であり、この点についてはさらに精密な生物検定実験が必要である。

高等植物の花芽形成では、大まかに分けて環境情報の受容・応答、花芽形成の開始 (evocation)、花芽形成 (morphogenesis) といった過程を経ると予想されている。受容した環境シグナルの伝達には、フロリゲンが関与すると予想され、古くから植物生理学分野において最も活発に研究されてきた。最近の竹葉らの研究は、1つの答えにたどりつく可能性が期待される。また、花芽形成あるいは花芽完成については、キングヨソウ、シロイヌナズナなどのホメオティック突然変異体の利用と遺伝子のクローン化により、急速に理解が深まりつつある。演者らの最大の興味は、evocation周辺にあり、本発表でもevocationにまつわる研究につき話題提供したい。

分子生物学的に花芽形成の開始を理解するとは、その過程に関わる遺伝子を明らかにし、その作用機構・発現機構を理解することであるから、まず、関与する遺伝子単離を目指して研究はスタートする。現在、主要な方法として特異的発現を示すcDNA単離する方法と、突然変異体を単離し用いる方法の2つが用いられる。

前者の方法では、タバコ、シロガラシを用いて花芽形成特異的cDNAのいくつかの候補が得られた。一般性がある方法であるが、他の植物を用いた系では成功例が報告されていない。また、当初考えられたほど感度が高くなく微量な制御遺伝子産物が同定できるか不明である。PCR法などと結びつけた技術的改良法が提案されており、今後の発展に期待される。

後者の方法は、遺伝学的解析との結合が容易なシロイヌナズナを主要な研究材料として行なわれる。シロイヌナズナでは、花芽形成の遅延する突然変異体が古くより知られていたが、最近になりようやく詳しい解析がなされ始めた。その結果、環境との相互作用、内在的プログラムなどに欠損のあることが解り、花成の開始機構研究の好材料であることが示されてきた。したがって、遺伝子の単離によりその遺伝子作用を明らかにしたいと考えられてきた。現在のところ、遺伝子歩行法で突然変異遺伝子を単離しようと考え、YACライブラリーなどを用いて研究途上である。しかし当初考えられたほど、遺伝子歩行は容易ではない。

花芽形成（完成）すなわち形態形成の分野では、成功を取めている主要なアプローチ法は、突然変異体を単離・解析し、遺伝子を単離する方法である。いくつかの遺伝子がDNA結合性タンパク質をコードしていることが予想され、DNA結合タンパク質の調節による発生過程の調節機構が予想されつつある。形態形成が主要な作用点でありながら、evocationとかなり密接に関連して作用するらしい遺伝子も明らかにありつつある。キングヨソウ花序では、花芽形成と頂芽の無限成長がおこるが、花芽に変換しない floricaula 変異体あるいは頂芽が花芽になり成長停止する centroradi alis 変異体が単離された。シロイヌナズナでも各々対応する leafy 変異体、termian l flower 変異体が単離された。これらの変異体の一次的な作用点は、花芽形成の形態形成開始シグナル関連と推定されるが、その時間的作用点は花芽形成開始 (evocation) シグナルと密接な相互作用を予想させこのような形態形成の上流に作用点のある遺伝子の研究は、evocation研究にとっても重要な意味を持つと予想している。

遺伝子型の異なる系統間で掛け合わせを行ってF1を作ると、親植物の組み合わせ方次第ではF1雑種が両親を凌ぐ生育力や繁殖力を示すことがある。実用的な規模でF1を得るには好ましい両親組み合わせを選んだ上で、多数の母株の雄しべを取り除き自家受精を防ぐ工夫をしなければならない。この場合、母株を遺伝的に雄性不稔（花粉不稔）にしておけば、安価なハイブリッド種子を大量に生産できることになる。有性生殖の制御という育種の基本操作に重要な役割を果す雄性不稔性はどのようなメカニズムによって発現するのであろうか？

ミトコンドリアゲノム：演者らが実験材料として用いているテンサイ (*Beta vulgaris*) の細胞質雄性不稔 (CMS) 株と正常 (N) 株との間で葉緑体DNAを比較すると殆ど構造差は見付からないが、ミトコンドリア (mt) ゲノムの分子構造は著しく相違する。最近N型mtDNAについてゲノムウォーキングにより358.3kbpから成る環状のマスター染色体を構築することができた。トウモロコシやペチュニア等のmtDNAの場合と同様、テンサイのmtゲノムにも分子内又は分子間組み換えを担う反復配列が見出された。この反復配列はrrn26遺伝子コード域を含み、マスター染色体上に3コピー存在するようである。

CMS型mtDNAについては英国グループが全長386kbpの環状マスター染色体を仮定した地図を報告したので、これとN型地図を比較した。その結果、遺伝子の配置は両ゲノム間で著しく相違し、多数の変異サイトがゲノム全体に散在していることが判った。こうした変異の大部分がCMSの発現と直接関係のないことは想像に難くない。しかし一方、ゲノム再編成によってミトコンドリア遺伝子の構造や発現の変異がもたらされる場合もある。

ミトコンドリア遺伝子変異：演者らはN型とCMS型のmtゲノム間で遺伝子の構成や分子構造ならびに発現に関する比較解析を進めている。これまでにcoxII、atpA、atp6の3遺伝子の構造と転写パターンが両ゲノムの間で異なることを明らかにした。

例えばN型mtゲノムのcoxII遺伝子は単一コピーである。これに対してCMS型からはcoxIIクローンが2種類 (Scox-1, Scox-2) 得られ、ScoxII-1とScoxII-2はNcoxIIと較べて開始コドンの50bp上流から5'側の塩基配列が相同性を全く失っていることが明らかとなった。この領域は転写調節にかかわると考えられるが、事実NcoxIIのメッセージは1.3kbであるのに対してS型ミトコンドリアからは1.6kbのメジャー転写物と2種のマイナー産物が得られた。一方ScoxII-2においてはコード域内に組み換えが起こり、その結果ORFが3'側に101コドン分伸長していることが判明した。

テンサイのcoxII遺伝子にみられるように、CMS植物のmtゲノムからはしばしばキメラ遺伝子や欠損遺伝子が見付かる。ペチュニアCMS株から発見されたS-pcf遺伝子、トウモロコシTexas型CMS株で同定されたT-urf13遺伝子はその好例といってよい。このシンポジウムではこれらの事例を中心に細胞質雄性不稔の分子機構に関する最近の研究動向について話題提供したい。

小林敏之、田畑哲之、堀田康雄（名大・理・生物）

減数分裂は有性生殖に不可欠の過程であり、第一分裂は染色体凝縮、相同染色体対合、遺伝子組換え、染色体分配などは減数分裂特異性がみられ、これらのプロセスを司る遺伝子の活性化、蛋白合成が起こることが知られている。減数分裂特異的な遺伝子の発現機構を知るため、ユリ花粉母細胞を材料として、減数分裂前期の細胞に由来するcDNAライブラリーを作製し、サブトラクシオン法によるステージ特異的遺伝情報を含むクローン（ステージ特異的クローン）の分離、それらの一時構造の解析とデータベースの検索、他生物種の相同的遺伝子の検索を行った。ステージ特異的クローンの選抜は、減数分裂前期各ステージの細胞からpolyA⁺ RNAを鋳型として³²P-cDNAを合成し、これに栄養増殖を行っている若い葯由来の約30倍量のpolyA⁺ RNAを加え、ハイブリダイゼーションを行った。反応後、一本鎖分画を精製し、サブトラクトプローブとした。このプローブを用いて前期ライブラリーをスクリーニングし約500のクローンを得、さらにクロスハイブリダイゼーション法、ノザン分析法を使って最終的に特異的クローンを得た。これらは転写産物の80～100%の領域を含み、塩基配列決定を行った結果翻訳可能領域（ORF）を持っていた。データベース検索の結果、Heat-shock protein (Hsp70) やsmall heat-shock protein と相同性を示すものが3種あり、出芽酵母のRAD57 と類似性をもつもの1種が認められた。

18種のクローンを用いた発現パターンの解析から、根・茎・葉などでの発現は全く見られなかったが、減数分裂においては（1）前期前半に転産物量が増加し、後半には減少するもの、（2）減数分裂前期にも低レベルで存在し、対合期に急増し、厚糸期に入ってから減少をはじめ、四分子では殆ど消滅するもの、（3）対合期に急増し、その後同レベルを四分子期まで保ち続けるもの、の3種類に分類できた。このような情報発現はプロモーターなどの調節を受けていると考えられるため、その機構解明を急いでいる。現在減数分裂特異的プロモーターは、分裂酵母の減数分裂誘導に働く*mei2* 遺伝子にだけ知られている。*mei2*プロモーターをGUS遺伝子上流に連結して、ユリ減数分裂前期のプロトプラストに導入するとtransient発現がおこった。このDNAはカルス細胞プロトプラストでは発現しなかった。GUS遺伝子上流に35Sプロモーターをつけたものはカルス細胞プロトプラストでは強く発現するが、減数分裂細胞では発現しない。*mei2*プロモーターに変異をいれると変異の種類によって発現低下が起こり*mei2*プロモーターはユリにおいても減数分裂特異的に働くことが示された。この結果ユリの減数分裂特異的プロモーターの単離と解析に可能性が開けている。

アブラナ科の自家不和合性は孢子体的に働く 1 座位の S 複対立遺伝子系によって支配されており、他殖性を高める機構である。近年、S 遺伝子と関連して遺伝する S 糖タンパク質 (SLG)、この遺伝子と関連し、そのレセプター部分のアミノ酸配列について SLG と相同性が高いプロテインキナーゼ遺伝子 (SRK)、SLG とアミノ酸配列の相同性が高いが SLG とは独立な糖タンパク質 (SRA)、SRA と似ているがまた別の座位にあるといわれる遺伝子 (SRB)、などが雌蕊の柱頭で知られるようになった。花粉の側の特異物質は何か、認識反応の機構はどうか、多数の複対立遺伝子はどのような構造になっているのか、などの興味がある。

ここでは、1、S 遺伝子と S 糖タンパク質 (SLG) の集団内・集団間における変異性、2、NS 糖タンパク質 (SRA) と自家不和合性との関係、3、花粉側の特異物質 (SAP) の探索について話題提供する。

(S 遺伝子の変異) Brassica campestris はカブやハクサイの類であるが、この種は中近東を起源とし、シルクロードを通して中国に渡来し、日本には弥生時代に伝播したといわれている。本研究ではトルコのバルチェシュメ地域と山形県小国町の野生集団の B. campestris を材料にして、集団中の S 遺伝子と S 糖タンパク質の存在状態、それらの変異性について比較調査した。

トルコの野生集団と小国の集団の S 遺伝子構成は比較的良く似ていることが分かった。全世界には恐らく 100 を越す多数の S 遺伝子が存在すると推定した。S 遺伝子が突然変異して別の S 遺伝子となってもそのまま集団に維持・蓄積され、ランダムドリフトによってのみ失われる。従って世界規模では多数の S 遺伝子が存在していることになる。

(NS 糖タンパク質 : SRA) S 糖タンパク質とホモロジーの高い NS 糖タンパク質の存在を指摘し、更に、NS 糖タンパク質に対する抗血清を作成して検討を重ねた。その結果、B. campestris には少なくとも 4 個の複対立遺伝子が存在し、S 遺伝子とは独立して遺伝することを明らかにした。NS 糖タンパク質はアブラナに近縁の各種野生種にも一般に保持されており、更にその発現の時期が S 糖タンパク質と類似していることから考えると、花粉の受粉反応には何等かの働きをしているものと思われた。しかし、自家不和合性との関連性について検討したが、自家不和合性は専ら S 遺伝子によって説明され、NS 遺伝子の関与は認められなかった。

(薬に見いだされた S 糖タンパク質様タンパク質 : SAP) 自家不和合性においては同じ S 遺伝子が柱頭と花粉の両者にある時に不和合性となるので、花粉側における S 遺伝子由来のタンパク質の発見が期待されていた。本実験では、S 糖タンパク質に対する抗血清を得、それに反応するタンパク質を花粉側に探した。この抗血清と反応する物質は、柱頭タンパク質の 10 倍量程度のタンパク質の分析でようやく検出できる程度に微量に含まれ、等電点が 5 付近にあり、糖を含まないタンパク質である。花粉と薬壁を分けた実験から、この物質は小孢子期に薬のタペート細胞中に作られ、そこから花粉の方に移行すると考えた。この様な状況証拠は、この物質が S 遺伝子と関連することを伺わせるが、柱頭 S 糖タンパク質のような等電点の変異は認められず、S 遺伝子との関係がまだ十分に分かってはいない。

植物の組織培養において、受精卵以外の細胞から個体が再生するという現象は広く一般に知られており、植物バイオテクノロジーの基盤であるとともに発生学上のきわめて重要な研究課題である。本発表では個体再生の典型として 1)ニンジンの不定胚形成と 2)タバコ未成熟花粉からの不定胚形成を取り上げ、細胞の不定胚形成能とその誘導機構に関する最近の研究成果を紹介したい。

ニンジン (*Daucus carota*) カルスからの不定胚形成過程は、優れた同調培養法も確立されており、極性分化や細胞の組織化など形態形成に関する研究のための優れた実験系を提供している。実際分子生物学的手法によって不定胚とカルスの比較などから興味深いタンパク質や遺伝子発現が次々報告されてきている。しかし外植片から不定胚形成能のあるカルスを誘導するためには長期の培養を要する上に不均質な細胞集団を生じるため、不定胚形成能の誘導過程を特定して研究対象とすることはむずかしい。最近、ニンジンの種子や実生組織に種々のストレスを与えることによって表皮からの直接的な不定胚形成を誘導できることが報告され、ストレスが不定胚形成能の誘導機構に関与することが示唆された。興味深いことに、その様なストレス処理を施された組織の表皮細胞には不定胚形成能のあるカルスに特徴的に見いだされる31kDタンパク質が免疫組織化学的に検出された。このタンパク質は不定胚形成能を持たないカルスや不定胚自身には検出されないが、不定胚にアブジジン酸を与えると出現し、ワタの受精卵に存在するLEAタンパク質と高い相同性がある。今後 31kDタンパク質の機能解明が期待される。

本来は不定胚を形成しない細胞に特定の処理を施すと、不定胚を形成するようになる場合がある。このとき、その処理は細胞に不定胚形成能を誘導したと考えることができる。その実例としてセイヨウナタネ (*Brassica napus*) および *Nicotiana* 属の未成熟花粉を用いた培養系がある。前者では10時間程度32.5°Cの熱処理によって、後者では数日の飢餓処理によって、特定の発達段階の未成熟花粉に不定胚形成能を誘導することができる。処理の過程で不定胚形成能の実体が細胞内に現れてくるはずである。タバコ花粉の培養系では飢餓処理の過程で一群のリン酸化タンパク質の出現が見られ、それらのN末端配列を明らかにすることができたがこれまでに相同性の高い既知タンパク質は見つかっていない。

ニンジン、未成熟花粉いずれの系でも不定胚形成能は非日常的な刺激 (ストレス) によって誘導されるという点で共通しており示唆的である。今後、異なる植物種や培養系に共通した、不定胚形成能と相関性の高いタンパク質をさらに検索してゆくとともに、それらの機能を検証するための実験系を開発していく必要があると考えられる。その様な研究動向の行先に不定胚形成能の物質的実体が解明されることを期待したい。

一 般 講 演
第1日 3月29日(日)

一般講演

第1日 3月29日(日) 午前部

- A会場 生体膜
- B会場 光生物学
- C会場 成長調節物質(I)
- D会場 分子生物学(I)
- E会場 分子生物学(II)
- F会場 光合成(I)

1aA 01

イネ細胞膜H⁺-ATPase cDNAのクローニング

[○]和田雅人、高野誠¹、笠毛邦弘²(筑波大・生物、¹農水省・生資研、²農水省・食総研)

イネ培養細胞(日本晴、K-1株)から細胞膜H⁺-ATPaseのクローニングを行ったので報告する。まず、10gの培養細胞からグアニジンチオシアネート/LiCl法でRNAを抽出し、oligo(dT)カラムでpoly A RNAを精製、そこからcDNAを合成した。一部は、λgt10に挿入し、ライブラリーとした。真核生物の保存配列、CSDKTGT, TG DG VNDをもとにオリゴヌクレオチドを合成した、5'GTICCTGTT/CTTITCI(GA/CT)ICA3'と5'ACIGGIGAT/CGGIGTIAAT/CGA3'。この2種のヌクレオチドをPCRプライマーとし、合成したcDNA鋳型にPCR反応を行うと、予想された大きさ(約0.8Kbp)のDNAが増幅した。このDNAをプローブとし、λgt10のライブラリーを約100万ブランク、スクリーニングし10個のクローンを得た。インサート長や制限酵素の切断パターンから2種のクローン(OSA1, OSA2)が、クローン化された。OSA1は、完全に配列決定が行われ、高等植物のH⁺-ATPaseであることが明かとなった。OSA1のコードするアミノ酸は、956個で、予想される分子量は105,078Da, Hydropathy plotから、少なくとも8箇所の膜貫通ドメインを持っている。他の植物のH⁺-ATPaseのアミノ酸配列と比較すると、*L. esculentum*(87.8%), *N. p. lumbaginifolia*(87.4%), *A. thaliana*(79.2%), また真菌の*S. cereviceae*は、35.5%であった。高等植物間で高い相同性を示したが、OSA1のN端から731-756のアミノ酸26個の配列は完全に独自のもので、この部位は、N端から膜貫通ドメインの6番目と7番目の間に位置し、細胞質側に面している。しかし、この配列に相似な配列は、databaseの中に見いだせなかった。

1aA 02

ホソバノハマアカザ培養細胞の耐塩性

中町美香子 間藤 徹 関谷次郎
(京大農化植栄)

塩生植物であるホソバノハマアカザ(*Atriplex gmelini*)の培養細胞から、200 mM NaCl存在下で生育できる細胞を選抜しその耐塩性機構を検討した。

細胞が高塩濃度環境下で生育するためには①体内浸透圧を上げて膨圧を維持すること②過剰の電解質を細胞質から排除することが必要である。細胞を等張なソルビトール溶液で洗浄した後溶質の分析を行ったところ、コントロール細胞にくらべ、200mM NaCl細胞ではNa, Cl, アミノ酸, 糖が増加していた。アミノ酸は両者で100mMを超えていたがプロリン、ベタインはどちらの細胞でも5 mM以下であった。体内浸透圧の上昇に最も寄与していたのはNaであった。しかし、細胞質の酵素はNaに対して耐性を示さなかったので、Naは細胞質から液胞へ隔離されていると考えられた。そこで、液胞膜小胞を調製し、そのNa/Hアンチポート活性を測定した。ATPaseによって形成された内側酸性の膜小胞からのH流出速度をキナクリンの蛍光によって測定し、Na塩によるH流出の促進分をNa/Hアンチポート活性とした。コントロール細胞ではアンチポート活性はほとんど検出できなかったが200mM細胞ではアンチポート活性が認められた。従って、この培養細胞の耐塩性には、Na/Hアンチポート機構が重要な役割を果たしていると考えられた。現在このタンパク質を単離するため、可溶性再構成の方法を検討している。

1aA 03

海産ラフィド藻 Heterosigma akashiwo 細胞膜 ATPases の cDNA の解析

和田雅人、庄野真理子、浦山修¹、原諭吉¹、井川洋二¹
佐藤忍、藤伊正(筑波大・生物、¹東京医歯大・医・生化)

海産ラフィド藻 H. akashiwo の細胞膜に2種のATPaseが存在し、リン酸化反応中間体の同定により、Naイオンで活性化するATPaseは、SDS-PAGE上で140kDa、一価カチオンで活性化するATPaseは、95kDaの分子量を示した。またNa活性型140kDaのATPaseは、高等動物のNa⁺, K⁺-ATPaseと免疫学的相同性を有していた、以上のことを本学会で報告してきたが、これらのATPaseのより詳しい構造や機能、また他生物との関係を調べる目的で、cDNAのクローニングを行ったので報告する。H. akashiwo培養液50l(約1x10⁹)からGTC/CsTFA法で2-4mgRNAを抽出、oligo(dT)カラムでpolyA RNAを精製、これからcDNAを合成した。真核生物バナジン酸感受性ATPaseの保存アミノ酸配列をもとにPCR primerを合成PCR反応を行いcDNAから約0.75kbpのDNAを増幅した。このDNAをプローブとし、スクリーニングを行い、2種のクローンを得た(HAA1, HAA13)。両クローンとも配列決定を行い伴にATPaseの保存部位を持つことが示された。HAA13は約3.3kbpで完全長だったが、HAA1は約2.0kbpで5'上流が欠けていた、この2クローンの相同性は、核酸、アミノ酸レベル伴にほぼ70%であり、他生物との比較では、原生動物 L. donovani が52%、高等植物 A. thaliana 38%、高等動物のものとは30%以下の相同性を示した。これらのcDNAと H. akashiwo 細胞のATPaseとの関係をはっきりさせるためHAA13とHAA1のそれぞれ一部分を発現ベクターにいれ、大腸菌で融合タンパク質を作らせ、それに対する抗体を作製し、H. akashiwo細胞との反応性を検討した。Western Blotでは、HAA13の産物に対する抗体が95kDaの蛋白質に反応した。HAA1に対する抗体は、作製中である。

1aA 04

細胞膜に結合した細胞膜領域の存在

— 18kDa膜タンパク質の挙動 —

後藤康成、佐藤忍、藤伊正 (筑波大・生物)

我々は、細胞壁と細胞膜を糖鎖を介して架橋する細胞膜タンパク質の存在を仮定し、ニンジン (Daucus carota) の培養細胞のプロトプラストの細胞膜に 18 kDa タンパク質を検出した(1990 植物学会)。本研究では、インタクトな細胞を磨砕し遠心分画した際に、18 kDa 細胞膜タンパク質が細胞壁と挙動を共にすることに注目し、その結合様式について検討した。(1) ニンジン培養細胞を用いて、細胞小器官の遠心分画を行い、800 xg 沈澱(細胞壁画分)を調製した。この細胞壁に富む沈澱を7 M 尿素や1% Triton X-100等を含む50 mM Tris-HCl(pH7.4)中で再度磨砕し遠心したところ、18 kDa タンパク質は800 xg 沈澱に局在した。(2) この沈澱を50 mM Tris-HCl(pH7.4)中で超音波処理し、再度遠心分画したところ200k xgで沈澱が生じ、18 kDa タンパク質はこの沈澱に局在し、800 xg 沈澱には、ほとんど見出されなかった。(3) この沈澱はリン脂質に富み、マイクロソーム様の生体膜であると考えられた。(4) この沈澱には18 kDa タンパク質のほか、19 kDa および14 kDa タンパク質が局在し、界面活性剤を用いた分別溶出の結果、全て膜内在性のタンパク質であることが示唆された。これらの結果より、細胞壁と強く結合した特殊な細胞膜領域の存在が示唆され、18 kDa タンパク質をはじめとするタンパク質がその結合に関与している可能性が示唆された。

1aA 05

細胞性粘菌の細胞接着タンパク質 gp 64 の 3 次構造
とツニカマイシン処理

齊藤玉緒、中田宣之、山根聖巳、¹熊崎 隆、福沢
雅志、[○]落合 廣 (北大・理・植物、¹薬)

昨年の本大会において細胞性粘菌 *Polyspondylium pallidum* の接着タンパク質 gp64 の構造について、GPI アンカー、6 か所の Asn 結合糖鎖を持つこと、36 残基の Cys がすべて S-S 架橋を形成している事を報告した。そこで、次に S-S 架橋部位の決定を行った。また Asn 結合糖鎖の細胞接着における役割を明らかにする為、糖鎖結合阻害剤ツニカマイシンの処理を行った。gp 64 は尿素存在下でも 37°C では各種プロテアーゼで消化されず、きわめて強固な構造をもつことが示唆された。そこで 60°C でサーモライシンで消化したところ急激に断片化し、これを逆相 HPLC で分離・精製しアミノ酸組成分析とエドマン分解により分析を行った。おおくの S-S 架橋は比較的近くの Cys のあいだに形成されていた。

gp 64 には 6 か所すべてに Asn 結合糖鎖が在ることが分かった。そこでこれらの糖鎖が細胞接着にいかに関与するか、Asn 結合糖鎖の生合成阻害剤である tunicamycin(TM) を処理し糖鎖の細胞接着に於ける関わりを調べた。2 μg/ml の TM 濃度では強い接着阻害を示した。TM を除くと細胞接着能の回復が見られ、この接着阻害効果は細胞死によるものでない。TM 処理により gp 64 の糖鎖がどの程度欠損したか調べたところ、64 kD のバンドは TM 濃度に比例し減少し、30 kD のバンドは増加した

1aA 06

大麦根液胞膜の PPi 依存 H⁺ ポンプ活性の制御に対する
細胞内 Ca²⁺ の関与

[○]葛西身延、佐々木昌生、山本洋子、松本英明
(岡大・資生研)

高等植物細胞の液胞膜に存在する PPi 及び ATP 依存 H⁺ ポンプは、細胞内 pH の恒常性の維持や、様々な物質の輸送とコンパートメンテーションを通じて間接的に細胞内の物質代謝に寄与している重要なイオン輸送体である。われわれは、これらのポンプ活性能の細胞内制御因子を明らかにすることを目的とした。

大麦根の細胞内の酸性化処理(酢酸、Cl⁻、プロトノフォア-処理)もしくは Ca²⁺ 動員のための Ca²⁺ イオノフォア-A23187 処理は、処理後に単離された液胞膜に富んだ膜小胞の PPi 依存 H⁺ ポンプ活性を上昇させた。反対に、アルカリ処理(K⁺ 処理)や細胞内の Ca²⁺ を低下させる EGTA と A23187 を用いた処理によって PPi 依存 H⁺ ポンプ活性は減少した。PPi の加水分解活性も、ポンプ活性と同様の変動を示した。これらの結果は細胞内の H⁺ や Ca²⁺ の濃度変化が PPi ポンプ活性能の調節因子であることを強く示唆している。

液胞膜に存在する ATP 依存 H⁺ ポンプ活性能の制御因子についても報告する。

1aA 07

病原菌によるエンドウ病害抵抗性の制御 (2)
ポリホスホイノシチド代謝系の関与
豊田和弘、白石友紀、一瀬勇規、山田哲治、
奥 八郎 (岡山大・農・植病)

エンドウ褐紋病菌エリシター(E)で1時間以内に誘導されるピサチン合成酵素群の遺伝子発現は、本菌サプレッサー(S)の処理で約3時間遅延することが明らかにされている。Eの認識から遺伝子発現に至る過程に原形質膜ATPaseやプロテインキナーゼの関与が示唆されているが、ピサチン蓄積誘導における初期情報伝達の詳細は不明であった。そこで、EやSで処理した原形質膜(PM)におけるポリホスホイノシチド代謝系の変動を *in vitro* で解析した。調製したPMにEと γ -[^{32}P]-ATPを加えた後、経時的に膜脂質を抽出し、PIP及びPIP₂への放射活性の取り込みを測定した。この結果、E処理では水処理区と比較して ^{32}P -PIP、PIP₂の増高が認められたが、Sが共存すると両分子への ^{32}P の取り込みが顕著に抑制された。また、Eによるピサチン蓄積を阻害するNa₃VO₄、K-252a、Neomycinの効果調べたところ、何れもPI又はPIPのリン酸化を阻害することが判った。一方、合成ジアシルグリセロールで処理したエンドウ胚軸にはピサチン蓄積が誘導されることが判明した。以上の結果から、1)E受容後の初期情報伝達過程にポリホスホイノシチド代謝系が関与すること、2)Sは、E受容以降の本代謝系の活性化を阻害することが強く示唆された。

1aA 08

トウモロコシ根のリン酸輸送系
I. 原形質膜小胞による取り込み
下河原浩介、白田秀明 (帝京大・医・化学)

植物根細胞は、土壤中のリン酸(1~10 μM)を約1万倍にもおよぶ濃度勾配に逆らって、細胞内(1~10mM)に取り込む事ができる。単離根や単離細胞によるNetでのリン酸の取り込み実験により、このようなリン酸の輸送は、プロトンの原形質膜内外の電気化学ポテンシャル差によって駆動される、H⁺/Pi共輸送系によることが推測されている。今回、我々は単離原形質膜小胞をもちいて、 ΔpH 依存性のリン酸輸送の測定に初めて成功したので報告する。

【方法と結果】トウモロコシ根より水性二層分配法により調製したRight side out原形質膜小胞を、pH7.0に保ちながら[^{32}P]無機リン酸を添加して膜内外のリン酸分布をあらかじめ平衡化しておき、一定時間後に酸性緩衝液を添加してpHを5.0に下げた。この過程で小胞内に分布する ^{32}P リン酸の変化をメンブレンフィルター濾過法により測定したところ、小胞内リン酸の濃縮が観察された。この結果により、リン酸イオンの細胞内への取り込みが、プロトンとの共輸送によって起こっていることが証明された。

この系を用いて明らかになった、トウモロコシ根リン酸輸送系の若干の性質についても併せて報告する予定である。

1aA 09

キクイモ塊茎組織のカルス誘導への細胞膜H⁺-ATPaseの関与

長谷 昭 (北海道教育大・函館・生物)

植物組織の脱分化=カルス化の機構については、母組織からの切り出しに伴う激しい障害反応のために、特にその初期過程の解明が困難である。そこで本研究では、障害によってきわめて速やかに反応が起きる細胞膜に注目し、その中でも、カルス誘導初期過程になんらかの役割を果たしていると思われるH⁺-ATPaseを中心に調べた。

【材料と方法】北海道大学構内から採集したキクイモ(*Helianthus tuberosus* L.)塊茎の柔組織からの組織切片を、0.1mg/l 2,4-D添加のMS培地(12時間培養までは液体、1日以上は寒天、controlは2,4-D無添加)で26°C、暗所で所定時間培養後、分画遠心と水性二相分配法で細胞膜を単離し、H⁺-ATPase活性を調べた。又、細胞膜タンパク質の合成の変化をSDS-PAGE-fluorographyによって調べた。

【結果】細胞膜H⁺-ATPase活性は培養開始後ほとんどlagなしに急増し、培養12時間目までに、2,4-D添加の培地での培養組織では塊茎組織の3.8倍、controlでも3.6倍となり、その後この高い活性が維持された。特に培養12時間目までは常に前者の活性がや、後者を上回った。又この時期に、H⁺-ATPaseと思われる分子量98kDのタンパク質の活発で特異的な合成が、前者で後者の1.8~2倍高く認められた。このような培養12時間目までのこの酵素のより高い活性化及び合成が、キクイモ塊茎組織のカルス誘導にどのように関与しているか、阻害剤及び促進剤を用いて調べている。

1aA 10

液胞膜H⁺-ATPase活性へのリン脂質分子種及び関連脂質の影響

○山西弘恭 笠毛邦弘 (農水省・食品総合研究所)

液胞膜ATPaseはリン脂質の添加で活性化される典型的なリン脂質要求性の膜蛋白である。前回演者らによって原形質膜ATPaseのホスファチジルコリン分子種による活性化はすでに報告されたが、液胞膜ATPaseに関してはなされていない。今回は、液胞膜ATPaseについての活性化に及ぼす種々の脂質、および活性化の程度の大きいホスファチジルコリンの分子種の影響について調べたので報告する。

暗所で生育させたヤエナリ(*Vigna radiata* L.)の下胚軸から液胞膜を単離し、リゾレシチンで可溶化後、Mono Qイオン交換FPLCでATPaseを精製した。ATPase活性は超音波処理をした種々の脂質を反応液に直接加えて測定した。

リン脂質はasolectin>PC>PS>PE>LPC>PG>PI>PAの順で活性化した。リン脂質構成成分である極性部、グリセロール、脂肪酸などでは活性化は認められず、中性脂肪、ステロール、セレブロシドなどの脂質類でも活性化は認められなかった。ホスファチジルコリン分子種の影響を調べると、二本の飽和脂肪酸をもつ分子種では鎖長が長くなるに従い活性化が低くなり、また二本の不飽和脂肪酸をもつ分子種では不飽和度が高くなるに従い活性化が低くなった。いずれか一本が飽和脂肪酸、他方が不飽和脂肪酸である分子種では、一般に活性化の程度が大きかった。またasolectin存在下で遊離不飽和脂肪酸ほど活性を強く阻害した。

1aA 11

NBD-C1のCF₁αβγ複合体への結合と活性阻害

○鍵田 文子・笠毛 邦弘（農水省 食品総合研究所）

以前我々は、CF₁-ATPase活性発現のための最小単位は、この酵素のαβγ複合体であることを報告した。今回は、この酵素の活性中心の調節機構を明らかにするため、微量でαβγ複合体のATPase活性を完全に阻害するNBD-C1(7-chloro-4-nitrobenzofrazan)をATPの存在下あるいは非存在下でαβγ複合体に処理して、その結合体の特性、とくに吸光スペクトルを測定し、考察した。その結果、①ATP存在下および非存在下でNBD処理されたαβγ複合体は、共にATPase活性を阻害されており、410-420nmに吸収ピークを示した。そのときの吸光係数と反応速度論を用いた解析から、NBD分子は、1分子のシステイン残基に結合していることが示唆された。②ATP存在下でNBD-C1処理した場合には、410-420nmのピークは時間とともにほぼ消滅し、それと共に活性は徐々に回復した。③ATP非存在下でNBD-C1処理した場合には、410-420nmのピークは時間と共にNBD-リジン結合の吸収極大である470nm付近に移った。この場合活性の回復はなかった。これらのことから、NBD-C1はまずシステイン残基に結合し、順次リジン残基へ分子内転移すると思われる。しかしATPがあらかじめ存在した場合、既にリジン残基にATPが結合しているため、この分子内転移は起こらないと思われる。したがって、NBDは基質結合部位から離れたシステイン残基に結合することによって酵素の立体配座に変化をおこし、酵素活性を阻害すると考えられる。

1aA 12

イネK-1細胞膜及び液胞膜H⁺-ATPaseの酵素活性と膜流動性の関係

○新谷 俊通、笠毛 邦弘¹、太田 英二（慶大・理工、¹農水省・食総研）

生体膜の物理的性質である膜流動性の生物学的意味を調べるために、イネK-1（日本晴）培養細胞の細胞膜及び液胞膜から抽出したH⁺-ATPaseの酵素活性と膜流動性の関係について調べた。H⁺-ATPaseはダイズマメから抽出したリン脂質であるAsolectinで再構成され、膜流動性はコレステロールを付加することにより変化させた。膜流動性は、DPHを用いた蛍光偏光解消法によって測定し、H⁺-ATPaseの酵素活性は、H⁺-ATPaseによりATPから遊離した無機リン酸P_iの量と定義した。

再構成膜内コレステロール濃度が0-2%(wt.% / lipid wt.)では膜流動性・H⁺-ATPase活性は共に減少するのに対し、2-10%では、膜流動性は大きくは変化しないが、H⁺-ATPase活性が増加するという傾向が見られた。0-2%での振舞いは、膜流動性とH⁺-ATPase活性の相関の可能性を示唆している。2-10%での振舞いは、コレステロールの介在する脂質-H⁺-ATPase相互作用の変化による可能性がある。

しかし、脂質-コレステロール相互作用は複雑であり、単一脂質系における相互作用についても未だよく分かっておらず、ここで得られた結果についても詳細な分子論的考察が困難であるので、当日は、コレステロール以外の物質で膜流動性を変化させる実験についても議論したい。

1aB 01

気孔の青色光効果におけるカルモジュリン依存性ミオシン軽鎖キナーゼの関与

○島崎研一郎、木下俊則¹、西村光雄¹

(九大・教養・生物、¹九大・理・生物)

ソラマメ葉孔辺細胞プロトプラストとマルバツユクサ表皮を用いて、青色光に依存する気孔開孔に関与する情報伝達系について調べた。青色光に依存する孔辺細胞プロトプラストからのプロトン放出は、動物細胞の情報伝達系に重要な働きを持つとされるプロテインキナーゼのなかでキナーゼAとキナーゼGの阻害剤、H-8とカルモジュリン(CAM)キナーゼIIの阻害剤、KN-62に全く阻害されず、キナーゼCの阻害剤H-7とカルフォスチンCにわずかに阻害された。しかし、CAM依存性ミオシン軽鎖キナーゼ(MLCK)の阻害剤、ML-7やML-9に強く阻害された。この時、阻害の強さはML-7>ML-9であった。MLCKはその活性をCAMに支配されるので、CAM拮抗剤の影響を調べた。CAM拮抗剤、W-7、トリフルオペラジン、コンパウンド48/80、プレニラミンおよび、HT-74のいずれもが強い阻害効果を示した。これらの阻害剤は異なる作用機構を持ち、上記の結果は気孔青色光効果におけるCAMの関与を示唆している。

つぎに、これらの阻害剤の光に依存する気孔開孔に対する効果をマルバツユクサ表皮を用いて調べた。気孔開孔は、H-7やW-5にはほとんど阻害されず、W-7, ML-9に強く阻害された。以上の結果は、青色光における気孔開孔にCAM依存性のMLCKが関与することを示している。

1aB 02

気孔孔辺細胞26kDa蛋白質の近赤外光による脱リン酸化と暗所におけるリン酸化

○木下俊則、島崎研一郎¹、西村光雄

(九大・理・生物、¹九大・教養・生物)

ソラマメ(*Vicia faba* L.)孔辺細胞プロトプラストを用いて、様々な光条件下での蛋白質のリン酸化を調べた。プロトプラスト懸濁液に [³²P] 正リン酸を加え、暗所で80分間インキュベート後照射をおこない、SDS-PAGEにより蛋白質を分離し、オートラジオグラフィーにより蛋白質のリン酸化を検出した。

暗所では42kDa, 34kDa, 32kDa, 26kDa及び22kDaの蛋白質がリン酸化されていた。これらに光を連続照射(20分)すると、26kDa蛋白質が顕著に脱リン酸化された。さらに、この蛋白質は照射を停止することにより再びリン酸化された。そこで、この26kDa蛋白質の脱リン酸化に有効な波長域を干渉フィルター(400nm, 510nm, 601nm, 660nm, 730nm, 800nm)を用いて調べたところ、近赤外光(730nm)の連続照射により最も効果的に26kDa蛋白質が脱リン酸化された。他に800nm, 400nm, 660nmの光は効果が認められたが、510nm, 601nmの光はほとんど影響を与えなかった。つぎに、26kDa蛋白質の細胞内分布についてプロトプラストをナイロンメッシュにより破碎後、遠心分離により調べると、この蛋白質は400×g, 6分の遠心操作で沈殿する葉緑体が含まれる画分に局在していた。730nmの光による脱リン酸化は、オカダ酸により阻害されることからプロテインフォスファターゼの関与が考えられる。オカダ酸による阻害の濃度依存性、その他阻害剤の影響などからフォスファターゼの種類についても報告する予定である。

1aB 03

エンドウ121KDaフィトクロム光変換中間体の吸収
スペクトル測定岩上淳、吉澤直也¹、井上康則¹、浜口宏夫²、真鍋勝司(横浜市大・文理・生物、¹東理大・理工・応生、²神奈川科技アカデミー)

岩上等は、黄化エンドウより単離した"native"フィトクロムの光変換過程を、昇温法による低温スペクトル変化を指標に調べ報告したが(日本植物学会56回大会、東京)、一定温度で各中間体がPrへの光照射で生成して来るのかは不明であった。そこで、今回は一定温度でPrに光照射して生成する中間体が前回の報告と一致するか、光照射量と反応量の間にはどのような関数関係が成立するか、さらに、可能な限り各中間体の絶対吸収スペクトルを算出することを試みた。

その結果、-183℃ではlumi-R、-80℃ではmeta-Ra、-40℃ではmeta-Rb'、-20℃ではmeta-Rc、0℃ではPfrに由来すると考えられる吸収変化が得られ、その際元のPrとPr+各中間体の混合物が等吸収点を持つことから、各温度ではPrと各中間体の2成分で反応が平衡していることが明らかになった。また、-40℃においては照射光強度を上げると、吸収の増大を伴わずに666nm付近の吸収のみが減少する現象が観察され、中間体meta-Rb (Eilfeld & Rudiger, 1985)がmeta-Rb'より派生していることも明らかとなった。さらに、各中間体の生成反応量は照射光量の1次反応となっておりことも明らかになった。これらの情報を元に、光平衡状態におけるmeta-RcとPfrの生成量をButler et al.(1964)の方法で計算すると、それぞれ75%、86%となり、両状態の絶対吸収スペクトルが計算可能となった。しかしながら、それ以外の中間体に関しては中間体だけに吸収を持つ波長域が狭く、同方法を適用できないので、現在計算方法を検討中である。

1aB 04

Immunochemical Analysis of PHYA and PHYB Protein in
aurea Mutant of TomatoSHARMA, R., LOPEZ, E., NAGATANI, A., KENDRICK, R.E.¹ and
FURUYA, M., FRP, RIKEN Institute, Wako and ¹Agricultural
University, Wageningen

Photomorphogenetic mutants of tomato (*Lycopersicon esculentum*) have been widely used to analyze the molecular mechanism of action of phytochrome. Previous studies on tomato *aurea* mutant revealed that both spectrally and immunochemically, phytochrome can not be detected in etiolated seedlings(For a review see Kendrick and Nagatani (1991) Plant Journal 1, 133). We used monoclonal antibodies raised against gene products of phyA and phyB to analyze phytochrome level in *aurea* seedlings. In contrast to wild type, the level of PHYA polypeptide in etiolated *aurea* seedling was about 20%. Furthermore in *aurea*, PHYA did not show any characteristic properties of spectrally active phytochrome viz. down regulation of polypeptide level in light grown seedlings and differential endogenous proteolysis of Pr and Pfr species *in vitro* as seen in wild type. Currently experiments are underway to determine if lack of spectral activity in PHYA in *aurea* results from deficiency of available chromophore.

In contrast to PHYA, in *aurea* seedling PHYB level is equal to wild type. Ion exchange chromatography of phytochrome isolated from green leaves of *aurea* indicated presence of spectrally active phytochrome and its elution profile correlated with elution pattern of PHYB. These results would be discussed in relation with molecular function of phytochrome species in growth and development of plants.

1 aB 05

西洋わさび毛状根からの不定芽形成における光の効果と
光受容体の検出

○齋藤 力、鎌田 博、原田 宏、渡辺 正勝¹、
徳富 哲¹（筑波大・生物、¹基生研）

西洋わさび (*Armoracia rusticana*) の葉柄に *A. rhizogenes* 15834 株を感染させると、その感染領域に毛状根が形成される。この毛状根は、暗所下では根の形態を維持しつつ活発に増殖するが、明所下では植物ホルモン無添加培地上で不定芽形成がみられる。これまで我々はこの不定芽形成の制御因子について検討してきたが、今回は、基生研の大型スペクトログラフを用い、光作用スペクトルを得ることを試み、光による不定芽形成に関与している光受容体を検討し、さらに毛状根中でのフィトクロムの検出を試みた。

得られた毛状根を材料とし、260-730 nm間の波長について、不定芽形成率および不定芽数について照射光量反応曲線を作成した。この照射光量反応曲線より光作用スペクトルを作成したところ、380 nm、440~460 nmおよび660 nm付近に極大を持つ曲線が得られた。次に、460 nmまたは660 nmの光を照射した直後に近赤外光(730 nm)を照射したところ、不定芽形成が抑制されることがわかった。したがって、この現象には光受容体としてフィトクロムが関与していることが考えられた。そこで、毛状根を用いてその検出を試みたところ、666 nmおよび730 nmに吸収極大をもつフィトクロムが検出された。また、その存在は根の先端に比べ基部に多く、不定芽形成部位と一致することがわかった。

1 aB 06

フィトクロムのトリプトファン残基に対する化学修飾部位の検討: PrとPfrにおける違い

○中沢美紀、真鍋勝司（横浜市大・生物）

黄化アラスカエンドウより精製した121 kDaフィトクロムをヒドロキシニトロベンジルブロミド(HNB-Br)を用いて化学修飾した時の修飾部位を決定するため限定分解法によるペプチド断片のアミノ酸分析を行なった。エンドウフィトクロムのHNB-Br修飾による修飾残基数は分光学的測定により、Prでフィトクロム単量体1分子あたり5残基、Pfrは7残基であった(日本植物学会第55回大会 1990)。この修飾フィトクロム中の非修飾トリプトファン残基を定量するため修飾フィトクロムをSDS-PAGEし、PVDF膜上へのブロッティングの後、減圧下で3Nメルカプトエタンスルホン酸を用いた176℃、25分間の気相加水分解を行なった。その後ニンヒドリン法によるアミノ酸分析を行なった結果、Prでフィトクロム単量体1分子あたり7残基、Pfrで5残基の非修飾トリプトファンが検出された。このことからHNB-Brにより修飾されたトリプトファン残基はPrで3残基、Pfrで5残基であると推定された。さらに、HNB-Br修飾したフィトクロムをトリプシンを用いて限定分解し、生じた断片をSDS-PAGEにより分離し、PVDF膜上へのブロッティングの後、各断片のアミノ酸分析を行ない、化学修飾部位の検討を行なった。

1aB 07

クロレラ白色変異体のカリウムイオン放出に対する赤色光効果

神谷明男 (帝京大・薬・化学)

光による情報伝達の過程で、イオンの膜透過制御の可能性が考えられる。今回クロロフィル・カロチノイドを欠く *Chlorella* 白色変異株を用いて K⁺イオンの膜透過に対する光質の効果を検討した。その結果、赤色光 (>600 nm) は K⁺の放出を促進し青色光は逆に極めて微量ではあるが K⁺の取り込みを数分続くラグタイムの後促進した。また、K⁺channel blocker の TEA (2mM) 存在下では、赤色光による K⁺放出は起こらない。この K⁺放出に対する作用スペクトルには、二つのピーク (666, 735 nm) が認められた。K⁺の膜透過は膜電位の変化を伴うこと、膜電位の変化に伴い蛍光強度を変える蛍光プローブが知られている。そこで、蛍光プローブにシアニン色素 (diO-C₉- (3)) を用い検討した。ヘキソースの取り込みは H⁺symport を伴い膜電位は脱分極し、同時に K⁺の放出が認められる。同じ条件 (6-deoxyglucose 添加) で diO-C₉- (3) の蛍光強度は増大した。K⁺存在下で Valinomycin 添加により、膜は脱分極する。同じ条件で diO-C₉- (3) の蛍光強度は増大した。次に、赤色光照射により diO-C₉- (3) の蛍光強度は増大し、dark にすると減少した。これらのことから、赤色光照射により、膜の過分極が誘導され、暗中でもどる (脱分極) ことが示唆された。

1aB 08

紅色酵母 *Rhodotorula minuta* の UV-B 照射による脂質抽出効率の増大

・ 秦 恵、橋本徹 (神戸大・理・生物)

B-領域紫外光 (UV-B) は、多くの高等植物や菌類における光形態形成を引き起こすことが知られているが、その光受容体やそれに関連する反応に関する知見は極めて少ない。照射によって速やかに現れる現象を見出すことは、この問題を解明するための大きな手掛りになると考えられる。我々は、UV-B 照射によってカロチノイド合成が誘導される紅色酵母 *Rhodotorula minuta* を用いて、照射後速やかに起こる細胞内反応の検索を行い、これまでに吸収スペクトルの変化 (日本植物学会, 1989)、K⁺の放出 (日本植物学会, 1991) 等の現象を見出してきた。今回は、照射による菌体脂質の変化について報告する。

暗所で培養した菌体に UV-B を照射し、脂質の抽出・分画を行い、量および組成比を照射しないものと比較した。照射したものでは、膜成分で大きな割合を占めるリン脂質の抽出される量が増加した。その中で最も著しいのは、Phosphatidyl choline (PC) 量であった。この照射効果は、照射直後が最も高く、暗黒中 1.5 時間の半減期で減衰した。細胞を破碎し膜を分画して脂質を抽出した場合、および徹底的に破碎を行って抽出した場合には、脂質の抽出量は大きく、その結果照射の効果は認められなかった。即ち照射は脂質の抽出効率を高める作用ものと考えられる。これらのことから、UV-B 照射は細胞膜の存在様式を可逆的に変えることが示唆された。

1aB 09

UV-B吸収物質 chromosaponin Iの分解と

酸化還元電位

○辻野 義雄¹, 鶴見 誠二¹, 橋本 徹², 大塚 利行³

(¹神戸大・自然科学, ²神戸大・理, ³神戸大・教養)

アソサニン合成誘導の作用メカニズムや他の知見に基づきその存在が示唆されているUV-B光受容体の候補物質として、我々は、295 nmに吸収極大を示すchromosaponin I (CSI)をエンドウ芽生えから単離し、soyasaponin I (SI)と γ -pyronの縮合体であることを明らかにした(Tsurumi et al, 1992)。エンドウ芽生えにおいてSIは遊離形では存在せず、これまでその存在が報告されたSIは γ -ピラノンであることを報告した。しかし、CSIは細胞摩擦液中において徐々に酸化的にSIに分解される。今回は、CSIの細胞摩擦液中の安定化について報告する。

7日齢黄化エンドウ芽生え(*Pisum sativum* L.cv.Alaska)をMOPS緩衝液中で摩擦する際、アスコルビン酸を添加することによりCSIの分解が抑制された。そこでサイクリックホルトメトリーを用いて様々な還元剤の酸化電位を測定した結果、分解抑制効果と酸化電位との間には相関関係が認められた。アスコルビン酸や亜二チオン酸などCSIの酸化電位(0.4 V付近 vs. Ag/AgCl)より負の電位にある還元剤は、安定化作用に優れ、チオソコ酸やチオ硫酸など正の電位にあるものは、その電位の増大に伴って劣った。このことから、CSIの分解は酸化反応であることが明らかである。しかし、油性の還元剤は分解抑制効果をほとんど示さず、摩擦液中での分解作用は、ミセルや細胞膜中ではなく主に水相で起こっていることが示唆される。

1aB 10

アラスカエンドウの暗発芽第3節間の

ATP-GTP(NTP)結合蛋白質と光信号伝達の分子機構

○蓮沼仰嗣、浜田徹、W.R.Briggs¹ (横浜市大・

木原生研、¹カーネギー研・植物部門)

アラスカエンドウの暗発芽第3節間をノクトヴィジョンを用いて赤外光下に切取った。以下の操作も同様に行なった。3種の蛋白質分解酵素阻害剤を含む緩衝液で磨砕後、ナイロン布で濾過し、9Krpm 10分遠心後、39Krpm 30分の沈殿を粗膜分画とした。これをさらに水性二層分配法で原形質膜を精製した。(α-³²P)ATP, (α-³²P)GTPを膜分画に結合させ、UV照射によりその結合蛋白質にクロスリンクさせた。5-20% SDSゲル電気泳動により分画後エレクトロブロットにより蛋白質をニトロセルロース膜に移し、オートラジオグラフィーを取った。(α-³²P)ATP, (α-³²P)GTPを結合する25種の蛋白質が同定された。これらのうち11種は内在性ADP-リボシル化酵素によりADP-リボシル化された。これらの結合は抗Ha-ras抗体の前処理で強く阻害され、トランスデュースン抗体、抗Go抗体、抗Gs抗体での前処理では比較的弱かった。(α-³²P)ATPの結合に対して10⁻⁴M ATPは最も強くその結合を阻害した。(α-³²P)GTPに対しては10⁻⁴M ATPとUTPが10⁻⁴M GTP, CTPよりも強く阻害を示した。切り取られた第3節間を赤色光照射し、直後に原形質膜を調製した。(α-³²P)ATP, (α-³²P)GTPの結合促進が21KD, 32KD, 37KDと40KDに見られた。内在性ADP-リボシル化酵素により21KD, 40KD蛋白質のADP-リボシル化が促進された。21KD蛋白質のADPリボシル化がコレラ毒素で、37KD蛋白質は百日咳毒素でADP-リボシル化が促進された。

1aB 11

アカパンカビのATP-GTP(NTP)結合タンパク質
と光信号伝達の分子機構

○小田 和司、蓮沼 仰嗣
(横浜市大、木原生研)

完全暗黒下で調製したアカパンカビ膜分画に(α - 32 P)ATP, (α - 32 P)GTPを加えて青色光を照射すると、放射線ラベルされるタンパク質が4種見いだされた。全ての操作過程は、照明用赤外線と赤外線カメラ(ノクトビジョン、NEC社製)を用いて行った。アカパンカビbd株の菌糸をFries液体培地で34時間培養した。菌体をホモジナイズし、9 Krpm, 10分遠心した上清を、39 Krpm 30分遠心して得られる沈澱物を膜分画とした。実験方法; 0.1% Triton X-100, 160nM(α - 32 P)ATP, (α - 32 P)GTP反応液となるように膜分画を加え40 μ lとする。これに青色光(λ max 355nm)を照射した後1時間25°Cで保温する。UV照射クロスリンク法で既に結合しているヌクレオチドをタンパク質に固定する。5~20% SDSゲルで電気泳動した後、ニトロセルロース膜にブロットし、オートラジオグラフィを行なった。結果; 58KD, 77KD, 83KDのタンパク質は青色光照射により(α - 32 P)ATP, (α - 32 P)GTPを強く結合し、129KDのタンパク質は(α - 32 P)GTPを強く結合した。この光効果は反応時に 10^{-5} ~ 10^{-4} MのNADを投与することにより安定に再現できることが判明し、ADP-リボシル化が関与する可能性が示された。トランスデュースン抗体による前処理により77KD, 83KDへの(α - 32 P)GTP結合に阻害があった。また、ヌクレオチド特異性を調べたところ、ATP, GTP, CTP, UTP間でアロステリック効果が示唆された。

1aB 12

ヤエナリ黄化幼葉のATP-GTP(NTP)結合蛋白質と
内在性ADP-リボシル化酵素

○蓮沼仰嗣、浅井久恵¹、今関英雅¹(横浜市大・
木原生研、¹基生研)

ヤエナリの暗発芽黄化幼葉を3種類の蛋白質分解酵素阻害剤と0.25 M 蔗糖を含む緩衝液ですりつぶす。30 μ m ナイロンメッシュで濾過後、9 Krpm 10分遠心した上清を39 Krpm 30分遠心し、その沈澱を上記の緩衝液中でテフロンホモジナイザーにより懸濁し、膜分画とした。遠心上清は可溶性分画とした。膜分画、可溶性分画に(α - 32 P)ATP, (α - 32 P)GTPを結合させた後に、UV照射し、ヌクレオチドを結合蛋白質にクロスリンクさせた。5-20% SDS-PAGE後、エレクトロブロットにより蛋白質をニトロセルロース膜に移し、オートラジオグラフィを行なった。可溶性分画に13種の(α - 32 P)ATPを結合する蛋白質を見出し、そのうち8種は(α - 32 P)GTPを(α - 32 P)ATPより弱く結合した。膜分画には少なくとも22種類の(α - 32 P)ATP, (α - 32 P)GTPを結合するATP-GTP(NTP)結合蛋白質が存在した。膜分画を内在性ADP-リボシル化酵素により(32 P)ADP-リボシル化させると少なくとも21種の蛋白質がADP-リボシル化された。これらの内在性ADP-リボシル化酵素によるADP-リボシル化は膜分画をHa-ras抗体で前処理することにより部分的に阻害された。さらに百日咳毒素及びコレラ毒素により(32 P)ADP-リボシル化を行なった。百日咳毒素は20KD, 22KD蛋白質を特異的に(32 P)ADP-リボシル化した。コレラ毒素は多数の蛋白質の(32 P)ADP-リボシル化を強く促進した。全ての(32 P)ADP-リボシル化は1 mM ATP, GTPの存在下に促進された。

1aC 01

ノルエピネフリン (NE) 由来の花成誘導物質

I. 熱処理による NE の活性化

○瀧本 敦、貝原純子¹ (京都生研、¹京大・農・応用植物)

多くの植物、とくにアオウキクサ、アサガオの水抽出物が、アオウキクサ 151 に対して高い花成誘導活性を示すこと、これら活性物質の生成にノルエピネフリン (NE) が関与していること、及びアルカリ処理した NE が花成誘導活性をもつことはすでに報告した。今回は、熱処理した NE も花成誘導活性を示すことを報告する。

0.1 N 以下の濃度の KOH 溶液に NE を加えて熱処理 (熱湯中で 10 分) を行うと、その溶液は、3 - 10 μ M NE 相当濃度で花成誘導活性を示し、KOH を全く含まない水に加えた NE も熱処理を行うと (弱酸性) 高い活性を示す。しかし、1 N KOH に溶かした NE は熱処理を行うと活性を失う。NE の塩酸塩 (酸性) は熱処理を行っても活性を示さず、燐酸緩衝液に加えた NE は pH が 6.5 以上の場合にのみ熱処理によって活性化される。

熱処理後の NE 溶液の活性は、1 - 2 日後に著しく低下するが、その後再び上昇し、溶液の活性は時間とともに不規則に変動する。しかしながら、熱処理後、酸性にすると活性は安定化する。アルカリまたは熱処理によって NE が酸化され、酸化途中の不安定な中間産物が活性を示し、この成分は酸性にすると安定化されるものと考えられる。アオウキクサ磨砕液の遠心分離による沈澱物に加えた NE は非常に高い活性を示し、この活性は安定している。

1aC 02

ノルエピネフリン (NE) 由来の花成誘導物質

II. 植物体との接触による NE の活性化

○貝原純子、篠崎真輝、瀧本 敦¹ (京大、農、応用植物、¹京都生研)

アルカリまたは熱処理を行った NE 溶液、および無傷のアオウキクサを浸しておいた NE 溶液が高い花成誘導活性を示すこと、また、アスコルビン酸存在下では、活性物質がつくられないこと、などは、NE が植物体に接触することによって酸化され、活性物質に変わることを示唆する。

植物体 (100 mg) 磨砕液の遠心分離による沈澱物の懸濁液に加えた NE (0.1 mg) も同じようにして活性化されるものと考えられるが、この場合は、わずか 0.15 μ M NE 相当濃度で活性が認められる。しかし、沈澱物の懸濁液を熱処理した後、これに NE を加えると、1.5 μ M NE 相当濃度以上でしか活性が認められない。200,000xg の超遠心による上清に加えた NE も 1.5 μ M 相当濃度でしか活性を示さず、この上清を熱処理した後に NE を加えても同様の活性が認められる。これらのことは、沈澱物に含まれる熱に不安定な成分 (おそらく酵素) が存在する時にのみ高い活性が現われることを意味する。15,000xg の上清に加えた NE も 0.15 μ M 相当濃度で活性を示すので、上記の結果は膜系に存在するある種の酸化酵素の働きで NE から活性物質がつくられることを示唆する。ただし、オートクレーブした沈澱または上清に加えた NE も 1.5 μ M NE 相当濃度で活性を示すので、酵素以外の熱に安定な有効成分も存在すると考えねばならない。

1aC 03

タバコ培養細胞 BY-2 の細胞周期に対するオーキシン類の影響

○網野真一、長田敏行 (東京大・理・植物)

タバコBY2の懸濁培養ではアフィディコリン処理により細胞周期がG1/S期でブロックされ、これを除くと約9時間後に分裂指数の高いピークがある高率の同調培養が誘導される。この細胞周期の進行は50 μ M程度のオーキシン類を加えることによって著しく阻害されたが、このうち阻害の顕著な2,4,6-Tを用いて以下の検討を行なった。

アフィディコリン除去と同時に2,4,6-Tを添加する実験では50 μ Mでその後の分裂指数の上昇は全く見られなくなった。この阻害は相当程度に可逆的であったが、2,4,6-Tを加えていた時間にほぼ対応して分裂指数のピークの遅延が観察された。2,4,6-Tはタンパク質合成などの細胞の代謝活性を低下させると考えられたが、トリチウムラベルチミジンのDNA相当画分への取り込みでみると、S期のDNA合成への阻害はそれほど大きくなかった。ほぼ4時間のS期の後、2,4,6-Tを除去してもDNA合成の大きな回復はなかった。

しかし、2,4,6-Tを同調培養の開始と同時に与え4時間目に洗浄除去する実験において、新たにアフィディコリンを添加すると、ほぼ4時間遅れて現われる分裂指数のピークが著しく抑制された。以上の結果は、2,4,6-Tが細胞周期の進行に関わるDNA合成に関与していることを示唆している。

1aC 04

水中並びに気中培養イネ幼葉鞘の成長とオーキシン含量

○保尊隆享、増田芳雄¹、P.E. Pilet² (大阪市大・理・生物、¹帝塚山短大・食品、²ローザンヌ大)

イネ幼葉鞘の伸長成長は水中で著しく促進される。この水中での速い伸長成長は、低酸素濃度、エチレンや二酸化炭素の蓄積、浮力による自重の軽減などにより、部分的に説明される。これらの要因と並んで、オーキシンの関与も指摘されている。特に、水中ではIAA酸化酵素の阻害剤が蓄積してIAAレベルが高く保たれる、という仮説(Wada 1961)は、水中での成長促進をうまく説明できる。しかし、水中並びに気中で培養したイネ幼葉鞘に含まれるIAA含量については、生物検定法を用いたOhwaki(1970)の報告があるのみで、機器分析による正確な定量はなされていない。そこで、GC-MSを利用した定量を試みた。

両培養条件下で生育したイネ幼葉鞘に²H₅-IAAを内部標準として加え、常法によりIAA画分を抽出した後、HPLCで精製し、GC-MSを用いて定量した。幼葉鞘1本当たりのIAA量は成長に伴って増加したが、生重量あるいは乾重量当たりでは低下した。IAAレベルは、どのベースで見ても、成長の遅い気中培養幼葉鞘で高かった。また、IAAレベルは、気中培養幼葉鞘では、幼葉鞘の先端で高く、基部に向かうにしたがって低下したが、そのような勾配は、水中培養幼葉鞘では明瞭でなかった。以上の結果より、両培養条件下におけるイネ幼葉鞘の成長速度の差は組織から抽出されるIAAの量によっては説明できないことがわかった。

1aC 05

ヤマザクラ系およびエドヒガン系における I A A 関連物質の存在と作用

早乙女真紀、福地佳子、栗本優美子、趙徳以、川口正代司¹、橘和丘陽²、石井幸夫³、中村輝子（日本女子大、¹東大・教養、²島津、³森林総研）

すでに、ヤエベニシダレの接木の、伸長方向を上方から下方へ変えつつ伸長する枝の伸長過程を調べることににより、枝の屈曲は偏差生長ではなく枝や葉の自重を支えきれずに生ずる機械的なものであること、および頂芽の伸長方向は屈曲した枝の傾きにより決まり、遺伝的に頂芽が正の重力屈性を示すものではないことを示した。今回は、ヤマザクラ系とエドヒガン系の枝垂れ型および正常型の成木の枝を用いて、枝の屈曲にかかわると考えられる諸生理学的性質を比較検討した。枝の伸長速度、浸透圧および伸展性（細胞壁に10gの荷重をかけた時の伸び）は両型において差が示され、いずれも枝垂れ型において高い値が認められた。頂芽の I A A および I A M 含量、T₀（マックスウェルの粘弾性モデルによる最小緩和時間）および細胞壁多糖類の含量比においては大差が認められなかった。幼植物を用いた予備実験の伸長テストにおいて、I A A、I A M 共に伸長促進効果を示し、最適濃度の I A A + I A M の場合には I A A のみの場合と同様の効果が示された。今回の結果から、枝垂れ・正常型を問わずサクラの枝の伸長において I A A が主要な生長物質としてかかわっており、また I A M がこれの前駆物質である可能性が考えられる。両型において差が認められた浸透圧にかかわる生長物質についても検討を進めたい。

1aC 06

オートムギ幼葉鞘切片の成長に対するジャスモン酸の阻害作用：細胞壁合成に対する影響

上田純一、宮本健助、桃谷好英、神阪盛一郎¹（大阪府大、総合科学、¹大阪市大、理）

オートムギ幼葉鞘切片を用いた成長実験系において、ジャスモン酸はオーキシンの誘導成長を不競争的に阻害する。演者らは、成長に関係する種々のパラメーターに対するジャスモン酸の影響を調べ、その成長阻害機構を検討したところ、ジャスモン酸は少なくともオートムギ幼葉鞘切片の細胞壁の合成と分解にかかわる糖の代謝系に影響を及ぼし、オーキシン誘導成長を阻害することが示唆された。

そこで本研究においては、特にジャスモン酸の細胞壁合成に対する影響を検討した。ジャスモン酸によるオーキシン誘導成長の阻害はショ糖、ブドウ糖あるいは果糖の添加により部分的に回復した。この場合、添加した糖によるジャスモン酸の結晶型への転換をガスクロマトグラフ/質量分析計を用いて測定したところ、その転換促進効果は認められなかった。一方、¹⁴C-グルコースの細胞壁多糖分画への取り込みに対するジャスモン酸の影響を調べたところ、ジャスモン酸はオーキシンによって促進された¹⁴C-グルコースのマトリックス多糖およびセルロース分画への取り込みを、未だ切片の成長抑制が認められない処理2時間目においてすでに約15%程度阻害した。さらに、この阻害は切片の成長が停止する4時間目まで続いた。以上の結果から、ジャスモン酸は少なくともオートムギ幼葉鞘切片の細胞壁合成を阻害することによって切片の成長を阻害することが明らかとなった。

1aC 07

かぼちゃ根導管液の不定根形成と葉の伸長に対する効果

○永井 猛、佐藤 忍、藤伊 正 (筑波大・生物)

〔目的〕主に根毛から吸収される導管液の成分を調べる。〔方法〕根の生理作用を調べる。〔結果〕根の生理作用を調べる。〔結論〕根の生理作用を調べる。〔考察〕根の生理作用を調べる。〔参考文献〕Duchesne; cv. Shintosa-ichigou) を用いた。〔要旨〕根の生理作用を調べる。〔キーワード〕根の生理作用、不定根形成、葉の伸長、かぼちゃ根導管液、Cucurbita maxima。

1aC 08

花粉に存在するブラシノステロイドの免疫細胞化学的解析

J. M. Sasse、 P. Taylor、 ○横田孝雄¹ (メルボルン大・植物、¹帝京大・理工・バイオサイエンス学科)

花粉においてはブラシノステロイド(BR)の含量が高いことがよく知られている。一方、BRは他の植物ホルモンより花粉管伸長作用が一桁強く、またBR処理によりトウモロコシ、コムギ、イネ等の稔実度が向上することも知られている。本研究では花粉および発芽中の花粉に存在する内生BRの分布と動態を免疫細胞化学的に明らかにすることを目的にした。

ライグラスの成熟花粉および発芽した西洋アブラナの花粉を各々バラホルムアルデヒド/グルタルアルデヒド混液または非水固定法(anhydrous fixation)にて固定を行った後に、超薄切片とし抗ブラシノライド/カステステロン抗体(ウサギ)を反応させた。ヤギの抗ウサギIgG抗体に金コロイドを結合させたもので標識したのち銀増感反応を行い、ウランついで鉛染色を行ってから、電子顕微鏡観察を行った。

ライグラス成熟花粉ではBRはアミロプラストに特異的に存在していた。西洋アブラナの伸長中の花粉においてはBRがプラスチドからその近傍に拡散する様子が見え、また核および近傍の細胞質にも存在した。さらに細胞壁より拡散する様子が見られた。従って、花粉においてはプラスチドがBRの貯蔵場所であり、発芽初期にはBRがプラスチドから核へ移行する一方、柱頭ついで花柱へと浸透して行く可能性が考えられた。

1aC 09

クレス発芽種子の他感作用物質

○長谷川宏司・天野みどり・水谷純也・小瀬村誠治¹・山村庄亮¹(新技術事業団・水谷植物情報物質プロジェクト, ¹慶応大・理工)

植物は動物と異なり、能動的にその生育の場を変えることが出来ないために、他の生物の分化・成長に影響を与える化学物質を生成したり、体外に放出したりして自己の生命を防御する機構をもつ。植物間における攻撃・防御・共益の機構を解明する目的で、簡便で繰り返し実験の容易な栽培植物を用いて植物間の相互作用を調べた。

ヒモゲイトウ、クレス、トマトおよびレタスの種子および芽生えをいろいろ組み合わせてシャーレ中に共存させ、暗所25°Cで一定期間培養して、それぞれの下胚軸と幼根の長さを測定した。その結果、クレス種子の発芽時において他の植物に対して下胚軸の伸長を促進し、逆に幼根の伸長を阻害する物質が放出されることが分かった。その他ではトマトの芽生えの幼根から他の植物の種子発芽を阻害する物質の放出も観察された。クレスに関しては吸水時に種子の周囲にゼリー状の被膜を形成するが、上述の植物に対する、所謂、他感作用物質(分子量5千以下)はこの被膜の中にも含まれていることも分かった。この被膜には *Pyricularia oryzae* や *Pythium aphanidermatum* に対して強い抗菌活性を示す物質(分子量10万以上)も含まれていることが分かった。

つまり、クレスの種子発芽において種子の周囲に被膜を形成し、一方で高分子の物質によって菌の侵入を防ぎ、他方で低分子の物質が他の植物に影響を与える等して、自己の生命を守っている可能性が示唆される。

1aC 10

トウモロコシ芽生えにおけるオーキシン活性抑制物質の単離と同定

○長谷川宏司・東郷重法¹・浦島三真子・水谷純也・小瀬村誠治²・山村庄亮²(新技術事業団, 純心女子高¹, 慶応大²)

高等植物の茎の光屈性に関して、1975年に Bruinsma らがヒマワリ下胚軸でオーキシン(インドール酢酸, IAA)が光・影側で不均等には分布しないことを機器分析で見出して以来、ダイコン、アベナ、トウモロコシ、エンドウ等の芽生えの光屈性において、いずれの場合でも抽出性および拡散性IAAが光・影側に均等に分布していることが、種々の機器分析あるいは免疫学的方法で明らかにされてきた。また、これらの植物でオーキシン活性に対する抑制物質が光側で増量し、光側の伸長抑制の原因となっていることも明らかにされた。特にダイコン下胚軸の光屈性ではラファヌサニン等、その抑制物質の本体が明らかにされ、さまざまな光屈性刺激による分布変化が詳細に調べられた。しかし、アベナやトウモロコシではその本体は明らかにされていない。そこで、今回はトウモロコシ幼葉鞘におけるオーキシン活性抑制物質の本体を明らかにするために、トウモロコシのシュートを材料にして大量抽出を行った。3日令のトウモロコシ黄化芽生えに2時間白色光(2 W/m²)を上方から照射し、シュートを1.2kg集め、80%アセトンで抽出した。抽出液から酸・中性の酢酸エチル可溶区を得、種々のクロマトグラフィーを行った後、HPLCで精製を繰り返した結果、3.8mgの無色針状結晶を得た。IR, MS, ¹Hおよび¹³C NMRより、6-methoxy-2-benzoxazolinoneであることが明らかになった。この化合物はアベナ屈曲テストで0.1 mg/l以上でオーキシン活性を有意に抑制した。また、この化合物はチモシーやヒモゲイトウの芽生え、特に幼根の伸長も顕著に抑制した。

○田岡健一郎¹、岩淵雅樹¹、藤本宜充²、三上浩司³、南真樹^{1,3}、川田健文¹、(日本石油㈱、岩淵雅樹・発生生物学、藤本宜充・発生生物学、三上浩司・分子植物学、南真樹・分子植物学)

ヒストンH1は、DNAパッケージングにおいてヌクレオソーム同志をつなぐリンカーの役割をしているクロマチンタンパク質である。このタンパク質の遺伝子発現調節の研究は、これまで動物のH1遺伝子についてなされてきた。しかし植物H1遺伝子については、最近 *Arabidopsis* とコムギから遺伝子がクローン化されたばかりで解析は全く進んでいない。本研究では、植物におけるH1遺伝子の転写調節機構を解析するために、コムギH1遺伝子のクローン化とその構造解析及びその転写調節に関するいくつかの実験を行ったので報告する。

クローン化されたH1遺伝子 (TH315) は、イントロン (130bp) を持っていた。イントロンを持つ動物ヒストン遺伝子は、ポリ(A)⁺mRNAとして細胞周期非依存的に転写されることが知られている。しかし、遺伝子の上流域には、コムギヒストンH3遺伝子のシスエレメントであり、全ての植物H3、H4遺伝子の上流域に保存されているオクタマー配列 (CGCGGATC) と、哺乳類・鳥類のH1遺伝子のS期特異的転写を調節しているサブタイプ特異的なAC及びCCAATボックスに類似した配列がみられた。従って、コムギH1遺伝子はS期特異的に転写されるものと予想される。実際、ノーザン解析によって、コムギH1mRNAは細胞周期に依存して転写されていることが確かめられた。現在、上記の特徴的な配列と転写調節との関係について解析を進めている。

○桂真昭¹、藤本宜充²、三上浩司³、川田健文¹、(日本石油㈱、岩淵雅樹・発生生物学、藤本宜充・発生生物学、三上浩司・分子植物学、川田健文・分子植物学)

コムギ核タンパク質HBP-1a及びHBP-1bはコムギヒストンH3遺伝子のシス配列の一つであるヘキサマーモチーフ (ACGTCA) に特異的に結合するロイシンジッパー型転写因子である。すでに、両因子がH3遺伝子のS期特異的転写調節に関与しているらしいことが示唆されているが、両因子の結合特異性が異なっているため、転写調節における機能的な役割分担があると考えられている。そのことを明らかにする研究の一貫として、両因子の遺伝子の構造及び発現制御について解析を行った。

HBP-1a及びHBP-1b遺伝子はともにイントロンにより分断されており、それらの構造的特徴である塩基性領域とロイシンジッパーは、それぞれ別々のエクソンにコードされていた。このことは、イントロンを持つ他のロイシンジッパー型転写因子の遺伝子と共通していた。また、イネ培養細胞でのHBP-1b/GUS融合遺伝子の発現において、5'上流域、第1エクソン、第1イントロン、第2エクソンの一部 (ATGは含まない) が正常な位置関係にあることの必要性が示された。さらに、HBP-1a遺伝子の5'上流域にはHBP-1a及びHBP-1bが、HBP-1b遺伝子の5'上流域にはHBP-1bがそれぞれ特異的に結合することが確かめられ、両遺伝子の転写調節におけるautoregulationの可能性が示唆された。現在、この可能性について検討するとともに、autoregulationとコムギH3遺伝子の転写調節との関係についても解析を進めている。

ダイズ7S種子貯蔵タンパク質 (β -コングリシニン) は α 、 α' 、 β の3つのサブユニットを持つが、このうち β サブユニットは種子登熟過程での発現時期、植物の栄養条件に対する応答性、植物ホルモンに対する応答性などの点で他の2つのサブユニットとは異なった制御を受けていることが知られており、遺伝子発現の制御機構を研究するモデル系として興味深い。 β サブユニット遺伝子全体を導入したトランスジェニック・アラビドプシスを用いて β サブユニット遺伝子発現の硫酸イオン欠乏応答性を解析した。ダイズにおいては硫酸イオン欠乏により β サブユニットタンパク質の蓄積が約3倍に増加することが報告されているが、 β サブユニット遺伝子を持つトランスジェニック・アラビドプシスを硫酸イオン欠乏条件下で栽培すると β -mRNA の蓄積が数倍に増加した (一部本会1990年度年会にて発表)。この反応は独立に得られたトランスジェニック・アラビドプシスでもみられ、硫酸イオン欠乏に対する応答性が確認された。さらに、アラビドプシス自身の種子貯蔵タンパク質 (12S: クルシフェリン型および2S: ネイピン型) についても発現レベルを細かく検討した。その結果、硫酸イオン欠乏により12S-mRNAでは30-50%の増加がみられ、アラビドプシス自身が硫酸イオン欠乏に反応して遺伝子発現を制御する機構を持つことが裏付けられた。

ダイズ7S種子貯蔵タンパク質、 β -コングリシニン遺伝子の形質転換植物における種子特異的発現に関しては多くの研究がなされてきている。 α' サブユニット遺伝子プロモータ領域のdeletion analysisによって-257から-79の領域が発現に重要な役割を果たしており、この領域は種子特異的なエンハンサー活性を持っていることが示されている。 β -コングリシニン遺伝子のプロモータ領域に結合する因子(SEF)がダイズ未熟種子粗核抽出液に存在することが知られているが、このうち-257から-79の領域にはSEF3およびSEF4が結合する。SEF4はプロモータの他の部分にも結合するが、SEF3はこの領域以外には結合しない。これらの因子の活性はダイズの登熟にしたがって β -コングリシニン遺伝子の発現と平行して高まることから、これらの因子、特にSEF3は α' サブユニット遺伝子の種子特異的発現に深く関わるものと考えられていた。また、この領域(-257から-79)には種子特異的発現をする遺伝子のプロモータに多く見つかるCATGCATG様の配列も存在している。この配列はTATA boxのすぐ上流側(-60付近)にも存在している。これらの因子及び配列のどれが発現に重要であるかを検定するため、これらの結合因子認識配列及びCATGCATG様配列をin vitro mutagenesisを用いて特異的に改変し、その形質転換植物での発現に及ぼす影響を調べた。改変したSEF3及びSEF4の認識配列をin vitro gel shift assayによってテストしたところ、これらの因子の結合は変異によって阻害された。ダイズ未熟種子粗核抽出物中にはgel shift assayを用いて検出されるCATGCATG様配列に結合する因子は発見されていない。変異のin vivoでの発現に及ぼす影響は、 α' サブユニット遺伝子プロモータ及び2つの異なるpCaMV 35Sとの融合プロモータで検定した。それぞれのプロモータの活性はGUSをレポーター遺伝子としてトランスジェニックタバコを用いて検定した。

SEF3及びSEF4結合配列への変異ではいずれのプロモータでもin vivo活性に及ぼす統計学的に有意な影響は見られなかったが、CATGCATG様配列の変異は有意な影響を及ぼした。まず、 α' サブユニットプロモータの2つのCATGCATG様配列に変異を導入するとその活性が約半分に落ちた。-257から-79の領域にあるCATGCATG様配列への変異の導入は、その領域の種子特異的エンハンサー活性を破壊した。また、CATGCATG様配列に変異を導入した α' サブユニットプロモータ上流域をpCaMV 35Sのコア領域(-90)に接合したプロモータはタバコの種子のみでなく葉でも有意な活性を示した。これらのことはCATGCATG様配列が α' サブユニットプロモータの種子特異的発現に重要な役割を果たしていることを示している。

1aD 05

トランスジェニックイネのゲノムに挿入された
トウモロコシの転移因子 D_s の構造解析
宮崎 力、⁰中井 浄、水谷恵子、¹橋本尚子、
¹島本 功、飯田 滋 (東京理科大・基礎工、¹植工研)

転移因子は染色体上を転移する遺伝因子で、転移に伴い種々の DNA 再編成を引き起こして遺伝子発現に様々な影響を与えることが知られている。我々は、トウモロコシの A_c/D_s 系の転移因子を異種植物に導入して、異種植物中での導入転移因子のふるまいを多面的に検討している。

今回は、CaMV の 35S プロモーターにより発現される A_c の転移酵素遺伝子をもつプラスミドと、転移酵素遺伝子が欠損しているため自らは転移できない D_s が転移によって切り出されるとハイグロマイシン耐性 (Hm^r) となるプラスミドを同時にイネのプロトプラストに導入し、 Hm^r 形質転換体より得たトランスジェニックイネの内の一個体について染色体上の D_s の詳細な構造解析を行った。この個体は、A_c の転移酵素遺伝子をもたず、 Hm^r 遺伝子と D_s だけが 4 コピーゲノムに挿入されていた。サザン法による構造解析や自殖後代の分離などの結果、 Hm^r 遺伝子と 2 コピーの D_s がひとつの染色体上の同じ領域に、1 コピーの D_s が他の染色体に、また 1 コピーの D_s がさらに別の染色体上に挿入されていると推測された。これら D_s を含む領域をクローン化して構造解析を行った結果、単独で挿入している D_s は両方とも 8 b p の標的重複を起こしていた。それに反して、 Hm^r 遺伝子の領域で見いだされた D_s には DNA 再編成が起こっていた。これら再編成 DNA の構造とその生成過程について考察する。

1aD 06

絞り花アサガオの新転移調節因子の単離
稲垣善茂¹、⁰久富恵世、鈴木徹也、井阪有一、
笠原基知治、宮崎 力、飯田 滋

(東京理科大・基礎工、¹薬)

転移因子は染色体上を転移し、種々の遺伝子発現を調節する遺伝因子で、トウモロコシやキンギョソウのアントシアニン色素生合成系を調節して絞り模様 (キメラ斑) の形成に関与していることが知られている。我々は奈良時代に薬用植物として渡来し、江戸時代に各種の園芸品種が作出されたアサガオ (Pharbitis nil) の絞り花も未知転移因子が関与しているのではないかと考え、花色の易変性に関する遺伝子座が明らかにされている絞り花と全色花のアサガオを比較検討したところ、前者のアントシアニン色素生合成系遺伝子 DFR (dihydroflavonol-4-reductase) の中に約 6 kb の DNA 配列が挿入されていることを見いだした。(1991 年度 本大会)

今回、この約 6 kb の DNA 配列の挿入されている DFR 遺伝子領域を絞り花及び全色花のアサガオよりクローン化してその構造解析を行ったところ、末端反復配列と標的重複塩基数などの特徴からこの DNA 配列は、トウモロコシの転移因子 S_pm 類縁の転移調節因子であることが明らかになった。この因子はアサガオより最初に単離同定された転移因子と考えられるので、T_pn₁ (Transposable element Pharbitis nil one) と名付けられた。

1aD 07

トウモロコシPEPCカルボキシラーゼ遺伝子の発現様式
— シス、トランス因子 —

・ 村上 (嘉納) ゆり子¹⁾、沼沢達夫²⁾、松岡 信³⁾
(¹⁾果樹試、²⁾日本ゼオン、³⁾生物研)

PEPCカルボキシラーゼ (PEPC) は C₄ 光合成の重要な酵素である。我々は、この PEPC 遺伝子の光による発現制御の機構を解明する一環として、そのシス、トランス因子に注目してきた。前年度までの本大会において、PEPCの5'上流域に結合するタンパク質 (PEP-I) の存在、及びその結合活性が遺伝子発現に平行して現われる事を報告し、さらにその結合領域の解析及びパーティクルガンを用いたトランジェントアッセイによるシス因子の検討を行ってきた。今回それにひき続いて、さらに詳細なシス領域及び PEP-I の結合領域の解析を行ったので報告する。

トウモロコシ PEPC 遺伝子の 5' 上流から PEP-I の結合領域と考えられる GC に富んだ繰り返し配列を徐々にデリーションし、GUS 遺伝子に結合したプラスミドを作成した。この融合遺伝子を播種後 15-20 日のトウモロコシ緑葉に導入後、MS 寒天培地上、26° 2 日間明所で培養した。その後、その葉を 500 µl の Lysis Buffer 中でホモジナイズし、その遠心上清を 4MUG と反応させ一時間当りに生成した 4MU の量をケイ光で測定し、活性とした。その結果 GC に富んだ繰り返し配列を含む領域を削除すると、活性が低下することが明らかになった。従って、この領域はポジティブなシス因子と考えられる。

一方、PEP-I についてもその結合領域を詳細に検討した結果、GC に富んだ繰り返し配列に隣接する領域も結合部位に含まれることが明らかになった。

1aD 08

イネにおける C₄ 光合成遺伝子の発現様式
— PPDK 遺伝子について —

松岡 信、多田雄一¹⁾、藤村達人¹⁾、田切明美
(生物研、¹⁾三井東圧化学)

C₄ 植物の光合成遺伝子は C₃ 植物にはみられない細胞特異的な発現を示すことから、C₄ 植物には C₃ 植物には存在しない固有な遺伝子発現系が存在する可能性が期待される。我々はこの C₄ 植物に固有な遺伝子発現系に興味を持ち研究を進めており、既にいくつかの転写制御に関わる因子について同定を行ってきた。今回はこれらの因子が C₃ 植物中でどのような働きをするかを検討する目的で、トウモロコシ (C₄) の PPDK 遺伝子を葉構造がトウモロコシと類似しているイネ (C₃) に導入しその発現様式を検討した。トウモロコシ PPDK 遺伝子の 5' 上流域を GUS 遺伝子と結合した融合遺伝子を作成し、本遺伝子をエレクトロポレーション法によりイネプロトプラストに導入後、再分化させイネ個体を得た。これらの再分化個体の内、GUS 活性を有する個体について各組織別の GUS 活性の分布を調べたところ、測定したすべての個体 (5 個体) において葉身の活性が最も高く、次いで葉鞘、枝梗、穎の順であった。また茎、根においては活性は全く検出されなかった。次に、これらの GUS 活性がどの細胞で発現しているかを検討する目的で各組織切片の GUS 染色を行ったところ、すべての組織において GUS 活性は葉肉細胞にのみ検出された。これらの結果は C₄ 植物における PPDK 遺伝子が C₃ 植物中でも C₄ 植物同様葉肉細胞特異的に発現すること、すなわち C₄ PPDK 遺伝子のシスエレメントは C₃ 植物内で有効に働きうることを示している。

1aD 09

ジャスモン酸に応答する大豆リボキシゲナーゼ遺伝子の構造

○加藤 友彦、白野由美子、柴田 大輔
(三井植物バイオ研)

リボキシゲナーゼは広く動物植物界に存在していることが知られている。植物リボキシゲナーゼの生理的役割は耐病性や細胞内シグナル伝達に関わっていることが示唆されており、最近ジャスモン酸に応答するリボキシゲナーゼの存在がタンパク質化学的手法により明かされてきた。私たちは発芽した大豆の子葉で発現するリボキシゲナーゼの遺伝子解析を進めており、今回、ジャスモン酸に反応して発現するリボキシゲナーゼ遺伝子を見いだしたので、その遺伝子発現および構造について報告する。私たちは発芽した大豆の子葉から3種のcDNA (SC514, SC501, SC500) を単離しており、SC514遺伝子の構造を決定している (Plant Mol. Biol. 16, 353-359, 1991)。また、子葉でのタンパク質レベルでの変化についても調べ、新たに3種のリボキシゲナーゼL-4, L-5, L-6を見いだしており、SC501の遺伝子産物がL-4であることを明かしている (Plant Physiol. 1992. in press)。大豆の各種の組織でのこれらの遺伝子発現を調べたところ、これらは若い組織で強く発現していることが明らかとなった。また、ジャスモン酸を気体状態で作用させたところL-4の遺伝子発現が高まることを見いだした。そこでSC501遺伝子の構造を解析した。その結果、SC514遺伝子とイントロン/エキソンの構造は保存されていたが、第1イントロンは約2.5Kbpと他に比べて長かった。この遺伝子のプロモーター領域を解析するために、リボキシゲナーゼ遺伝子の翻訳開始部位を組み込んで発現効率を高めたGUS遺伝子 (Plant Mol. Biol. Rep. 1991, in press) と接続させたコンストラクトを作製し、これを用いて発現の解析を進めている。

1aD 10

PR1タンパク質遺伝子の発現調節

西宮聡、大島正弘¹、上野敬一郎²、野口貴³、廣近洋彦¹
大橋祐子¹ (茨城園試、¹農水省生物研、²鹿児島バイオテック研、³東京農試)

タバコPRタンパク質遺伝子の発現は病斑形成ストレスにより誘導される。最近植物ウイルス感染による病斑形成に伴ってサリチル酸(SA)が増加することが見いだされ、SAがPR遺伝子の内在性インデューサーである可能性が強まっている。PR遺伝子は外から与えたSAにも反応し、その発現誘導が起きる。我々はPR遺伝子のうちでも最も鋭敏にSAに反応するPR1a遺伝子の発現調節機構を調べてきており、本遺伝子のSAによる発現誘導に必要な領域は、転写開始点の上流0.3kb以内にあること、またこの領域にタンパク因子が結合しており、本遺伝子が発現している状態では、この因子が外れていることを示唆するデータを得ている。しかしこの0.3kb断片ではSAに対する応答能が弱い。そこで、CaMV35Sプロモーターの種々の領域をエンハンサーとして上記0.3kbの5'側につけた一連のGUSキメラ遺伝子を作成し、その一過性の発現を調べるためにプロトプラストに導入してGUS活性を調べたところ、0.3kbより上流を含むPR1aプロモーターを用いた場合同様に、SA処理による誘導的発現が増大して認められるようになった。またこの系に上記の0.3kb断片をコンペティターとして加えたところ、GUS活性の増大が認められた。これらの結果は、PR1遺伝子のSAによる発現誘導にはこの0.3kbの領域で充分であり、これに結合しているタンパク因子の解離が発現のトリガーになっている可能性を改めて示唆するものと考えられる。

1aD 11

ニコチアナ属の種間雑種におけるPR1を含むストレスタンパク質遺伝子の非制御的発現

大橋祐子、大島正弘、伊藤博孝¹、松岡信、渡辺紳一郎、村上高、細川大二郎²（農水省生物研、¹カゴメ総研、²東京農工大）

タバコPR1タンパク質遺伝子は病原体感染による病斑形成ストレスや、サリチル酸(SA)によってその発現が誘導される。従来の研究から、我々は本遺伝子の発現は基本的には負の制御を受けていることを示唆してきた。そこで今回はさらに進めて、PR1タンパク質産生異常植物における本遺伝子の発現を調べた。PR1タンパク質を常時作っていることで知られるニコチアナ属の種間雑種 (*N. glutinosa* x *N. debneyi*) では、SA誘導をかけた場合と同様の多量のPR1タンパク質が健全葉から検出されるほか、その他少なくとも数種の両親の健全葉では発現していない遺伝子が発現していることがわかった。これらの遺伝子はSA処理によって初めて発現する。また、塩基性 β -1,3-グルカナーゼやプロテイナーゼインヒビターなど、ストレスタンパク質のうちでもその発現様式がPR1遺伝子とは異なっていると考えられる遺伝子については、このような異常な発現は認められなかった。この植物に、PR-GUSキメラ遺伝子を導入してその発現を調べると、健全葉ですでに非常に高いGUS活性が認められ、SAによる誘導はもはや起こらなかった。これらの結果は、このF1雑種では、交配によって内在性のPR1遺伝子に変異を受けたのではなく、この遺伝子の正常な発現制御に関わる機構に欠陥が起きたことを示唆しているものと思われる。

1aD 12

CaMV35SおよびタバコPR1a geneプロモーターを基本とした高発現プロモーターカセット

*光原一朗、宇垣正志、西宮聡¹、上野敬一郎²、大島正弘、廣近洋彦、大橋祐子（農水省生物研、¹茨城県園芸試験場、²鹿児島県バイオテック研）

植物に外来遺伝子を導入し、その遺伝子の機能を調べたり育種への応用を試みる際に、しばしばその発現量が問題となる。そこで我々は、従来得られている様々な知見を利用して、大量に外来遺伝子を発現する強い発現カセットを作成することを試みた。すなわち、プロモーターとして構成的で強い発現を示すCaMV 35Sプロモーター及び、ストレス誘導的な発現を示すタバコpathogenesis related(PR) 1a protein geneのプロモーターを、エンハンサーとして、35Sプロモーターのエンハンサーを1~7つ直列につなげたものを、そのほかにタバコモザイクウイルス(TMV)の Ω 配列、インゲンのphaseolin geneのイントロン、nos terminator等を用いて発現プロモーターカセットを作成した。これらのカセットによる外来遺伝子の発現を、GUS(β -glucuronidase)をレポーター遺伝子として用いて(1)タバコ葉肉プロトプラストを用いたtransient assay、および(2)形質転換植物で比較した。この結果、エンハンサーの重複および Ω sequenceの導入が発現効率を上げるのに有効であることなどがわかった。また、これらの中で最も発現量の多いカセットは、従来からよく用いられているCaMV 35Sプロモーターと比べ、transient assayで10数倍の、transgenic plantでは数10倍の発現量を示すことが確かめられた。

1 aE 01

パーティクルガン法による遺伝子導入様式の解析 (1)

— 細胞内の金粒子の位置と遺伝子発現の関係

○山下稔哉、服部悦子、関原明¹、飯田精一²、千葉謙介³、
森川弘道 (広島・農¹、²農工エンジニアリング、³(株)麒麟ライフル)

パーティクルガン法による遺伝子導入様式の解析を目的として、*タバコ*懸濁培養細胞に β -glucuronidase(GUS)遺伝子を有するプラスミド pBI221をコーティングした金粒子を導入し、細胞内の金粒子の位置と遺伝子発現の関係を調べた¹⁾。まず、導入処理直後に細胞を3:1エタノール酢酸で固定し、酢酸セルロースで染色して顕微鏡観察した。その結果、調べた導入条件では全細胞の約3%に金粒子(1細胞あたり1個)が認められ、その位置は、核内7.5%、核周辺細胞質内7.5%、細胞壁側細胞質内5.2%、液胞内79.8%であった。この結果は、金粒子が細胞内の各部位に、その体積に応じてほぼランダムに導入されることを示すものと解釈された。核への金粒子(遺伝子)の導入効率 $は 2.2 \times 10^{-3}$ と計算され、独立に求めた GUS 遺伝子の一過発現効率 (3.3×10^{-3}) とほぼ一致した。次に、GUS を発現している細胞内の金粒子の位置を調べた。導入処理後24時間培養した細胞をグルタルアルデヒドで固定し、X-Glucを基質として7ヶ月(2-24時間)を行い、その後3:1エタノール酢酸で再固定し、酢酸セルロースで染色して顕微鏡観察した。この処理により、GUS を発現している細胞はインジゴ由来の青色と、酢酸セルロース染色の赤色により”二重染色”された。X-Gluc添加から2-24時間後にGUS を発現している細胞内の金粒子の位置は、核内93.7-96.6%、核周辺細胞質内0.8-3.4%、細胞壁側細胞質内0.9-2.7%、液胞内0-2.5%であり、GUS を発現している細胞の90%以上が核内に金粒子を有していた。以上の結果から、パーティクルガン法により I)核に導入された外来遺伝子は、ほぼ100%発現に至る、II)核に導入された外来遺伝子は、細胞質の約40倍、液胞の約900倍の効率で発現すると結論された。

1) Yamashita, T., Iida, A., Morikawa, H. (1991) Plant Physiol. 97: 829-831.

1 aE 02

パーティクルガン法による遺伝子導入様式の解析 (2)

— 細胞内の金粒子の位置におよぼす粒子サイズと加速圧力の効果

○服部悦子、山下稔哉、飯田精一¹、渡辺耕一郎²、千葉謙介³、
森川弘道 (広島・農¹、²農工エンジニアリング、³(株)徳力本、³(株)麒麟ライフル)

我々は、パーティクルガン法による遺伝子発現効率が、核内への金粒子の導入効率と密接に関連していることを見出している¹⁾。今回、核内への金粒子の導入効率に影響をおよぼすと考えられるパラメータとして金粒子サイズと加速圧力の効果を検討したのでその結果を報告する。

I. 金粒子サイズの効果: Alfa Chem 社製 (A) と (株)徳力本店製(T5)の2タイプを検討した。まず、SEM により写真撮影した各粒子の形状を観察し、粒径を測定した。両タイプはともに真球状、平均粒径はAおよびT5でそれぞれ $2.0 \pm 0.5 \mu\text{m}$ および $1.1 \pm 0.2 \mu\text{m}$ であった。次に、DNA をコーティングした金粒子を、加速圧力115kg/cm² で1%寒天に撃ち込み、寒天表面からの導入深度を調べた。深度はAおよびT5でそれぞれ $113.5 \pm 36.1 \mu\text{m}$ および $33.5 \pm 17.4 \mu\text{m}$ であり、AはT5の3-4倍深く導入されていた。GUS 遺伝子を有するプラスミド pBI221をそれぞれのタイプの金粒子にコーティングし、同一条件で*タバコ*懸濁培養細胞に導入、X-Glucを基質として7ヶ月を行った。GUS を発現している細胞塊の数は、AおよびT5でそれぞれ1443±547 および7503±1623 (約50万細胞あたり)であり、T5はAの5倍以上の効率を示した。金粒子サイズと細胞内の金粒子導入部位との関係について現在調査を進めている。

II. 加速圧力の効果: 上記遺伝子導入条件で、加速圧力 63, 115, 200kg/cm² の効果を検討した。GUS を発現している細胞塊の数は、A で順に1148±195, 1443±547, 1153±283、T5で順に5537±988、7503±1623、7000±1256であった。ばらつきは大きい、115kg/cm² で両タイプともGUS を発現している細胞塊の数の平均値は最大となった。

1) Yamashita, T., Iida, A., Morikawa, H. (1991) Plant Physiol. 97: 829-831.

1 aE 03

パーティクルガンによる花粉細胞への外来遺伝子の導入と発現 - 導入条件・花粉発達段階の効果

°西原昌宏、伊藤道夫¹、京正晴²、田中一朗³、小野莞爾⁴、今村順⁵、森川弘道（広島大・理、¹静岡大・理・生物、²香川大・農、³横浜市大・文理・生物、⁴熊本大・理・生物、⁵植工研）

我々はパーティクルガンにより、ユリなど数種の植物の花粉への外来遺伝子導入・発現が可能であることを報告した（植物学会第56回大会）。今回は、外来遺伝子発現に影響する導入条件及び花粉発達段階の検討などについて研究した。

テッポウユリおよびマルバタバコ花粉（それぞれ2細胞期初期、中期、後期）に、花粉特異的なプロモーターを含むプラスミド pTG5(Tom2'-gus-Nos) または 35Sプロモーターを含む pBI221(CaMV35S-gus-Nos) を既報の方法により、パーティクルガンにより導入し、X-Gluc または MUG を基質として GUS 活性を調べ、次の結果が得られた。

1. ユリ成熟花粉の場合、Tokuriki-5金粒子、0.2~0.4mg Au/projectile、加速圧力 200kg/cm² の条件で最も高い遺伝子発現が検出された。
2. 一般に、2細胞期初期の花粉に遺伝子導入した場合には、発現はほとんど検出されないのに対し、2細胞期中期~後期の花粉では、明瞭な発現が検出された。
3. ユリ成熟花粉に遺伝子導入し、生殖細胞を単離、観察し、この細胞内に金粒子をみとめた。この結果は遺伝子導入した花粉の受粉により形質転換種子が得られる可能性を示唆するものである。
4. 3日間培養したマルバタバコ花粉（2細胞期中期）に *nptII* 及び *gus* を含むプラスミド (pBN24) を導入、培養し、形質転換植物が得られた。

1 aE 04

パーティクルガンによる植物細胞への mRNA 導入と発現

°田中俊憲、西原昌宏、坂本敦¹、田中國介¹、田中一朗²、伊藤道夫³、森川弘道（広島大・理、¹京府大・農化、²横浜市大・文理・生物、³静岡大・理・生物）

演者らは、パーティクルガンを用いて *in vitro* で合成した GUS mRNA を植物細胞へ導入し、その発現を確認したのでその結果について報告する。

実験材料としてタバコ BY-2 培養細胞およびテッポウユリ花粉（2細胞期初期、2細胞期中期、2細胞期後期）を用いた。GUS mRNA の *in vitro* 合成は Bluescript(SK-) の T3 プロモーター下流に GUS 翻訳領域と poly-A tail を挿入した pBS221A を鋳型として、T3 RNA Polymerase を用いて行い、5' 端に Cap 構造 (m⁷G(5')ppp(5')G) を有するものと有しないものを合成した。mRNA 導入は、加速圧力 200kg/cm²、4 μg/mg Au RNA 量で、パーティクルガンを用いて行った。導入後、細胞を 48 時間、26°C、暗所で培養した後、遺伝子発現を X-Gluc または MUG を基質としてアッセイした。その結果、タバコ BY-2 培養細胞では Cap の有無に関わらず発現が極めて低かったが、テッポウユリ成熟花粉においては、Cap 構造の有無による発現比は >2:1 であった。また、各発達段階にあるテッポウユリ花粉に Cap 構造を持つ mRNA を導入して発現を調べると、発現は 2細胞期初期ではほとんど観察されないが、発達段階とともに増加し、2細胞期後期で最大であった。このことは花粉の発達段階にしたがって RNase 活性の低下 (mRNA の半減期の増大)、または翻訳効率の上昇などによる mRNA レベルでの発現調節の変化が起きている可能性を示唆するものと解釈される。

1 aE 05

パーティクルガンによる葉緑体へのGUS遺伝子の導入と発現

○重本直樹、関原明¹、澤崎達也、杉浦昌弘²、杉田譲²、小野莞爾³、滝尾進、H.U.Koop⁴、森川弘道（広島大・理、¹京都大・農、²名古屋大・遺伝子、³熊本大・理、⁴Univ. Munich）

パーティクルガン法は、核およびオルガネラの形質転換法として注目されている。今回、葉緑体発現ベクターを白色懸濁培養細胞（タバコBY-2）、緑色懸濁培養細胞（フタバネゼニゴケ）、緑色カルス（シロイヌナズナ、マルバタバコ）、葉組織（シロイヌナズナ、タバコ）、に導入しその発現を調べた。葉緑体発現ベクターとして pTRBCL-GUS(tobacco rbcl pro-gus-tobacco rbcl ter)および pHHU3004(spinach "x-gene" pro-gus-spinach rbcl ter, spinach psbB pro-nptII-spinach petD ter)を用いた。コントロールとして pBI221(CaMV35S pro-gus-NOS ter)を用いた。プラスミドDNAをコーティングした金粒子を常法により各細胞、組織に導入し3日間培養後、X-Gluを添加し37°Cで5日間インキュベートした。BY-2細胞の場合、青色スポット（GUSを発現している細胞からなる）の数は、pTRBCL-GUS、pHHU3004を導入したものはそれぞれ、約1500、900個（全細胞約 5×10^5 個あたり）であった。また、他の細胞、組織では一般的にBY-2と比べて低いが、pTRBCL-GUSを導入した場合すべての細胞、組織で、pHHU3004の場合ではシロイヌナズナの緑色カルスにおいてのみ明瞭な発現が認められた。次に、BY-2にプラスミドDNAを導入後 α -アマニチン(50ppm)を含む、または含まない培地で1日間培養し、MUGを基質としてGUS酵素活性を測定した。pBI221を導入したものは α -アマニチン処理により活性が約1/7に減少したのに対し、pTRBCL-GUS、pHHU3004ではそれぞれ約3/4、または、ほとんど同じであった。

1 aE 06

パーティクルガンによるトランスジェニックシロイヌナズナ植物の育成(2)

: NPTII遺伝子の導入

○関原明¹、重本直樹、入船浩平、今村順²、米田好文³、山田康之¹、森川弘道（広島大・理、¹京大・農、²植工研、³東大・遺伝子実験施設）

我々は、圧縮空気圧式パーティクルガン装置を用いて、シロイヌナズナ葉及び根組織への遺伝子導入、発現¹⁾およびトランスジェニックシロイヌナズナ植物の育成²⁾について研究してきた。プラスミド pCaMVNEO(CaMV35S pro-nptII-NOS ter)をシロイヌナズナ根組織に導入し、カナマイシン20ppmを含む選択培地で培養することにより、カナマイシン耐性植物を得た。それらについてNPTIIアッセイを行ったところ、酵素活性を有することが示された。また、サザンハイブリ分析を行い、nptII遺伝子が染色体へ組み込まれていることが示された。さらに再分化当代(R_0 個体)を自家受粉させることにより得た R_1 種子をカナマイシン50ppmを含む発芽培地に置床し、カナマイシン耐性個体と感受性個体の分離比を調べたところその比は約3:1(全個体数=109)であり核ゲノムの単一遺伝子座に組み込まれ、メンデル遺伝していることが示唆された。また、 R_0 および R_1 個体より単離した全DNAを用いてnptII遺伝子をプローブとするサザンハイブリ分析を行ったところバンドパターンは同じであった。1) M.Seki, Y.Komeda, A.Iida, Y.Yamada and H.Morikawa. Plant Mol. Biol. (1991) 17:259-263. 2) M.Seki, N.Shigemoto, Y.Komeda, J.Imamura, Y.Yamada and H.Morikawa. Appl. Microbiol. Biotechnol. (1991) 36:228-230.

1 aE 07

パーティクルガンによるトランスジェニックシロイヌナズナ植物の育成(3): 除草剤(ピアラフォス)耐性遺伝子の導入
澤崎達也, 関原明¹, 重本直樹, 鎌田光宜, 米田好文², 森川弘道
(広島大・理, ¹京都大・農, ²東京大・遺伝子実験施設)

これまでトランスジェニックシロイヌナズナ植物の選抜マーカーとしてカナマイシンおよびハイグロマイシン耐性遺伝子が用いられてきたが, 除草剤ピアラフォス(明治製菓(株))耐性遺伝子(*bar*)を用いた報告例は少ない。*bar*遺伝子によるトランスジェニック植物を得たのでその結果について報告する。プラスミド pARK22 (CaMV35S pro-*bar*-NOS ter) をパーティクルガンを用いてシロイヌナズナ根組織に導入し, 2日後ピアラフォス 2 ppmを含む選択培地に移した。4週間培養後, 径約 2 mmの緑色カルスが生じ, さらに4週間後多数の緑色莖葉が再生した。次にこの莖葉を伸長培地で3週間培養し, さらに発根誘導培地で3週間培養して発根させた。これまでに4系統のピアラフォス耐性シロイヌナズナ植物体が得られた。このうち3系統について*bar*遺伝子をプローブとしてサザンハイブリッド分析を行い, *bar*遺伝子が染色体に組み込まれていることを確かめた。さらに, それらの再分化当代(R₀個体)を自家受粉させて得たR₁種子をピアラフォス 2 ppmを含む培地に播種し, 多くのピアラフォス耐性個体を得た。定量的な分離比については現在調査中である。またそれらの中に形態異常を示す個体が存在しており, 現在その分子遺伝学的解析を進めている。

1 aE 08

パーティクルガン法により得られた形質転換植物染色体における外来遺伝子組み込み様式の解析
清水 克哉, 入船 浩平, 飯田 朝子¹, 森川 弘道
(広島大・理, ¹住化・生命研)

パーティクルガン法で得られた形質転換培養細胞を用いて, 導入した外来遺伝子の核ゲノムへの組み込み様式の解析を行ったので, その結果について報告する。

環状プラスミド pCaMVNEO (CaMV 35S pro.-*nptII*-NOS ter.) をパーティクルガン法により導入して得られたタバコ培養細胞 (BY-2) 8 系統の形質転換体¹⁾ を実験材料とした。各系統の全 DNA を, *Bal*I (pCaMVNEO を *nptII* の中央部で 1 カ所切断する) で完全分解した後, *nptII* をプローブとしてサザンハイブリッド分析を行うと, 各系統とも 3 つ以上のバンドが認められた。このうち 6 系統 (2-1, 2-12, 9-1, A-5, B-1, B-5) では, 4.4 kb のバンドをもち, 2 コピー以上の完全長プラスミド (4.4 kb) がタンデムに連なって組み込まれていることを示唆する結果であった。さらに, 1 系統 (2-1) を用いて 4 種類の制限酵素 (*Bal*I, *Bam*HI, *Eco*RI, *Hind*III) を使って解析した結果, *Bal*I, *Eco*RI (pCaMVNEO を 1 カ所切断する) では, 4.4 kb 以外に 2 つのバンドが認められた。*Bam*HI (*nptII*, 1.0 kb を切り出す) では, 1 kb 以外にバンドが 1 つ, *Hind*III (CaMV 35S pro.-*nptII*-NOS ter., 1.6 kb を切り出す) では, 1.6 kb 以外にバンドが一つ認められることから, pCaMVNEO はタンデムに挿入され, 一端が pUC 部分, 他端が *nptII* 部分にゲノムとのジャンクションをもつと解釈された。 1) A. Iida, H. Morikawa, Y. Yamada, Appl. Microbiol. Biotechnol. (1990) 33:560-563.

1 aE 09

ダイズ種子におけるグリシニン遺伝子プロモーター／ターミネーター活性の測定

○飯田朝子、長澤秋都、田中俊意¹、森川弘道¹、大江田意治（住友化学・宝塚総研・生命工学研、¹広島大・理・植物）

ダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子の発現調節に関与するcis領域の解析については、すでにタバコやアラビドプシスのトランスジェニック植物を用いた系で報告があるものの、ダイズそのものを用いた系での報告はない。今回、パーティクルガン法を用いたトランジェントアッセイにより、ダイズ種子においてグリシニン遺伝子の発現調節領域を解析したので報告する。

まず、GUS遺伝子の上流に約2.8kbから種々の長さに切断したグリシニン遺伝子(GY1)プロモーター、下流に約0.7kbのGY1ターミネーターあるいはNOSターミネーターを接続した発現ベクターを構築した。さらに内部標準として35S-ルシフェラーゼ(LUC)遺伝子を持つプラスミドpD0432を用い、構築した各ベクターと共にパーティクルガン法により未熟種子に導入した。22-48時間後に細胞抽出液を調製してGUS/LUC活性を測定し、プロモーター／ターミネーター活性を比較した。その結果、約1.1kbのプロモーターはそれ以上の長さのものと同程度の活性を示し、本遺伝子発現に必要な主要な遺伝情報を含むものと考えられた。またGY1ターミネーターを接続した場合、NOSターミネーターの場合の約3倍の活性が認められ、ターミネーターにも発現調節領域が存在する可能性が示唆された。プロモーター領域のさらに詳細な解析結果に加え、ダイズ種子高発現ベクターの構築についても報告する。

1 aE 10

二つのヒマカタラーゼ遺伝子の異なった発現制御

○鈴木雅晴、服部東穂¹、旭 正

（名大・農・農化、¹三重大・遺伝子実験施設）

過酸化水素分解酵素であるカタラーゼはマイクロボディに局在する四量体ヘムタンパク質である。当研究室では植物ヒマより2つのカタラーゼ遺伝子CAT1およびCAT3を単離し、これらが生育過程において異なった発現様式を示すことを明らかにしている。両遺伝子の発現制御をさらに詳しく調べるために、各々の遺伝子の5'上流域の下流に大腸菌β-グルクロニダーゼ(GUS)遺伝子を結合させた融合遺伝子を作製し、アグロバクテリウムを介してタバコに導入した。その結果、CAT3遺伝子の5'上流域4.3kbを持つGUS融合遺伝子を導入したタバコでは種子発芽にともなって、吸水後2日目よりGUS活性の劇的な上昇がみられた。さらに組織化学的染色によりその活性は胚乳、胚軸、子葉、根に由来することが明らかとなった。また成熟植物体では全ての器官で強い活性がみられた。一方、CAT1遺伝子の5'上流域1.6kbを持つGUS融合遺伝子を導入したタバコではCAT3-GUS融合遺伝子を導入したタバコと同様に、種子発芽にともなって吸水後4日目までGUS活性が上昇するものの、以後活性は減少した。また、胚軸、根における活性は低く、成熟植物体でも全ての器官でその活性は弱いことが明らかとなった。以上のことから2つのヒマカタラーゼ遺伝子の発現はタバコにおいてもヒマとほぼ同様の制御を受けていることが示唆され、タバコを利用した解析が可能であると考えられる。

1aE 11

ニンジン不定胚分化過程におけるelongation factor 1 α (EF-1 α)遺伝子の発現

○川原良一、福田裕穂、駒嶺穆 (東北大・理・生物)

演者らは、ニンジンの懸濁培養細胞を用いて、分子レベルでの不定胚分化過程の解析を進めている。不定胚形成時に発現量が増加する遺伝子をクローニングするために、初期球状胚と未分化的に増殖している細胞との間で differential screening を行ったところ、球状胚期から心臓型胚期において発現が上昇するクローン CEM1 が得られた。塩基配列から予想されるアミノ酸配列は、真核生物の elongation factor 1 α (EF-1 α) (タンパク質合成過程でアミノアシル tRNA をリボソームに結合させる際に働くタンパク質因子) のアミノ酸配列と高い相同性を示し、CEM1 はニンジンの EF-1 α をコードしていることがわかった。不定胚内での発現を調べるために行った *in situ* ハイブリダイゼーションでは、細胞分裂の活性が高いと考えられる領域に強いシグナルがみられた。

EF-1 α はジーンファミリーを形成していることが知られており、各遺伝子が発生過程で異なる発現を示す例がいくつか知られている。演者らはニンジンにおいて、EF-1 α をコードしており、CEM1 とは異なると考えられるクローンを 2 種類得ている。今回は、それらの塩基配列および発現についての解析結果を述べる。

1aE 12

クラミドモナス細胞壁溶解酵素は、動物コラゲナーゼファミリーと類似の機能ドメインを持つ

○木下 哲、福澤秀哉¹、松田吉弘

(神戸大・理・生、¹京都大・農・農化)

動・植物を問わず、細胞外マトリックスの合成と分解は、生命の営みにおいて必要不可欠である。単細胞緑藻クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*) においても、植物における細胞外マトリックスである細胞壁の合成、分解は、細胞の成長、分化、接合などの現象と極めて密接な関わりをもって制御されている。

クラミドモナスの細胞壁溶解酵素 (GLE) は、62 kDa の亜鉛を含む金属プロテアーゼである。雌雄配偶子が接合する時に自身の細胞壁を溶解してプロトプラスト化するために必要な酵素である。私達は今回、本酵素の N-末端のアミノ酸配列をもとに cDNA をクローニングし、全塩基配列を決定した。その結果、本酵素はプレプロ型、すなわち、28 アミノ酸のシグナル配列、155 アミノ酸のプロ配列、455 アミノ酸のマチュアー配列からなるポリペプチドとして合成されることが示唆された。ホモロジー解析の結果、活性中心の亜鉛を配位する部位と、不活型酵素において亜鉛を配位して活性をおさえると考えられている部位が、動物コラゲナーゼファミリーと相同性を示した。さらに、カルボキシル末端付近にはカルモジュリン、パルプアルブミン等に見られるカルシウム結合のコンセンサス配列が存在した。またプロ配列とマチュアー配列の両方に、クラミドモナスやボルボックスの細胞壁糖蛋白質に特徴的なプロリンの繰り返し配列が存在した。

次に、GLE の mRNA 量をノーザンハイブリダイゼーション法によって解析した。その結果、mRNA 量は、クラミドモナスの同調培養系においては、細胞の成長および分裂時に増加することがわかった。また N 源飢餓による栄養細胞から配偶子への分化の過程でも急激に増加した。

以上の知見をもとに、GLE の合成、蓄積、活性化などを考察したい。

1 aF 01

再構成クロロソームにおける色素の配向構造と励起エネルギー移動

°廣田雅光、西村賢宣¹、山崎巖¹、三室守²、松浦克美、
嶋田敬三（都立大・理・生物、¹北大・工、²基生研）

緑色光合成細菌 *Chlorobium limicola* の光捕集器官であるクロロソームは、その内部に多量のバクテリオクロロフィル c (BChl c) を含んでいる。最近、このBChl c はタンパクの関与なしに構造化されていると考えられている。我々は、このクロロソームにおいて、その構造に必要な因子を解明し、またそのエネルギー移動との関係を調べるため、モデル系として、再構成系の構築を試みた。クロロフォルム：メタノール：水 (1:1:2) によるクロロソームの疎水性抽出物を水相中に懸濁することで、水相中において、再構成クロロソームを形成させた。この再構成クロロソームは電子顕微鏡像において、楕円体状を示し、その大きさは平均して intact のクロロソームとほぼ同様であった。その吸収及び蛍光スペクトルも、intact のクロロソームとよく似ていた。この再構成クロロソームからタンパクは検出できなかった。また押しつぶしゲル中で一方向に配向させ、直線二色性を見ることで、BChl c の配向を調べたところ、intact クロロソーム同様非常に強い配向性を示し、BChl c 間の相互作用だけでなく、もっと高次の構造をも再現していることが示された。しかしその蛍光の寿命は、intact のクロロソームと比較して、短かった。

この結果から、再構成クロロソームは、クロロソームとよく似ており、クロロソームのエネルギー移動とその構造との関係を明らかにする上で、非常によい系であると考えられる。

1 aF 02

クロロソームにおけるバクテリオクロロフィル分子の配向と高次構造モデル

°松浦克美、廣田雅光、嶋田敬三、三室守¹（都立大・理・生物、¹基生研）

緑色イオウ細菌および緑色系状性細菌に含まれるクロロソームは、袋状の光捕集色素構造体で、光合成膜の細胞質側に付着して存在し、相対色素含量の多いことを特徴としている。その主要な色素であるバクテリオクロロフィル c (BChl c) は、色素分子の自己集合体を基本構造とし、タンパク質には直接配位していないという考えが有力になっている。我々は、クロロソーム構造の解体再構成、色素分子の配向状態測定、蛍光測定による各スペクトル成分間のエネルギー移動過程解析を主な方法として、光捕集系における構造と機能連関の解明をめざしている。これまでの結果から、クロロソーム内の色素の高次構造に関する仮説的なモデルを作成した。

抽出した色素と脂質から、自己集合的にクロロソームと良く似た構造体が形成されたことから、タンパクは基本構造には関与しないと結論された。低濃度のヘキサノールなどのアルコールでクロロソーム中のポルフィリン間の配位結合を阻害したときでも、全体の構造とエネルギー移動機能は保持されたことから、配位結合以外の疎水的な相互作用も構造形成に重要であると考えられた。ゲル中で配向させたクロロソームの偏光による吸収スペクトルと蛍光の測定から、大部分のBChl cはそのQy遷移軸をクロロソームの長軸方向に平行にして並んでいて、BChl aへのエネルギー移動中に偏光面の変換があることがわかった。炭化水素鎖を内側にしたBChl cの円柱状ミセルの束を、1重の脂質・タンパクの膜が囲んでいる構造が考えられる。

1 aF 03

好気性光合成細菌 *Roseobacter denitrificans* の低温における励起エネルギー転移

° 嶋田敬三, 広田雅光, 西村賢宣¹, 山崎 巖¹, 三室 守²
(都立大・理・生物、¹北大・工・合化工、²基生研)

好気性光合成細菌 *Roseobacter denitrificans* (旧称 *Erythrobacter* OCh 114) は通常の紅色光合成細菌と同様に2種の光捕集複合体 (LH 1, LH 2) を持つが、これらとは異なり LH 2 は 850nm 付近に吸収帯を持たず、室温では 806nm に単一ピークを示すのみである。このことは LH 2 から 870nm に吸収を持つ LH 1 への励起エネルギー転移に関して、2つの成分間のスペクトルの「重なり積分」が小さいことを意味し、励起エネルギーの共鳴移動の理論に従えばその効率は 850nm 付近に吸収帯を持つものに比べてかなり低いことが期待される。しかしながら、すでに報告したように、室温での測定では LH 2 から LH 1 への励起エネルギー移動速度はやはり測定限界の 6 ps 以下という非常に速いものであった。そこで「重なり積分」がより小さくなる液体窒素温度 (77 K) での測定を行った。まず注目されたのは吸収スペクトルにおいて 77 K では LH 2 は 805nm の主吸収帯に加えて 815nm 付近に肩が観察されたことで、LH 2 が複数の成分から成っていることが示された。800nm で LH 2 を励起した際の時間分解蛍光スペクトルは室温の場合と異なり、励起直後では LH 2 からの蛍光がまだかなり観測されるなど、LH 2 から LH 1 への励起エネルギー移動速度が室温に比べ遅くなっていることを示した。すなわち、スペクトルの重なるの効果に関しては共鳴移動の理論と一応の整合性のある結果であった。

1 aF 04

緑藻オオハネモ LHCII のクロロフィルフォームとエネルギー転移

° 中山 克己, 三室 守¹, 岡田 光正 (東邦大・理・生物分子、¹基生研)

緑藻オオハネモハの LHCII はポリペプチドあたりクロロフィル a、クロロフィル b を各々 6 分子、8 分子含む高等植物とは組成がおおきく異なっている。この LHCII についてクロロフィルフォームの構成や色素間のエネルギー移動について調べ高等植物の場合と比較した。

吸収スペクトルは4つのクロロフィル a 成分 (Ca 664、Ca 672、Ca 679、Ca 688) と、2つのクロロフィル b 成分 (Cb 648、Cb 653) から構成されていた。オオハネモ LHCII ではクロロフィル a の構成成分は高等植物と同じであるが、クロロフィル b に高等植物には見られない短波長側の成分が加わっている。ポリペプチドあたり Ca 664、Ca 672、Ca 679 は各2分子ずつ、Cb 648、Cb 653 はそれぞれ3分子と5分子含まれていると思われる。

15°C における蛍光スペクトルではクロロフィル a、クロロフィル b、シフォナキサンチンを励起したときも、681 nm に極大を示す同様のスペクトルを示した。クロロフィル b (おそらく Cb 653) からの発光が観察され、高等植物の場合と同様にクロロフィル間のエネルギー移動が効率良く行なわれていることが示された。一方、-19.6°C ではクロロフィル b からの発光はクロロフィル b を励起した時のみに観察された。この時は、両クロロフィル b 成分から発光しており、一部のクロロフィル b 分子から他のクロロフィルへのエネルギー移動が起りづらくなっていることが示唆された。このことはホウレンソウの LHCII では観察されなかった。さらにシフォナキサンチンは励起エネルギーをクロロフィル a に直接転移していることが示唆された。これらのことから色素組成の異なる LHCII におけるエネルギー移動について考察する。

○南城則行, 西澤榮一, 小山 泰 (関西学院大・理)

【序論】 光反応中心に結合した単量体バクテリオクロロフィル a (Bchl) の T₁ 状態は、二量体 Bchl の三重項励起エネルギーがカロテノイドに伝達される過程に関与している。この Bchl の T₁ 状態の電子状態と分子構造はアポ蛋白のアミノ酸残基が構築する環境やヒスチジン残基の配位といった分子間相互作用により制御されている。演者らはそのモデルとして Bchl の T₁ 状態の溶媒効果を調べた。

【実験 1】 10⁻³M の Bchl 溶液《アセトニトリル・ジエチルエーテル・アセトン・酢酸エチル・2-プロパノール・1-ブタノール・THF・ジクロロメタン・ピリジン溶液》とバクテリオフェオフィチン a (BPhe) 溶液《アセトン・THF 溶液》を調整し、T₁ 状態のラマンスペクトルを窒素雰囲気下で測定した。

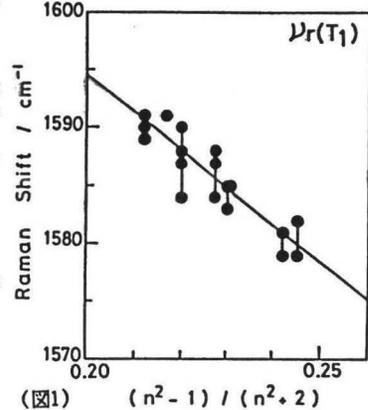
Bchl の T₁ 状態では 16 異相伸縮振動に帰属される最も強いラマン線 ($\nu_r(T_1)$) が 1575 ~ 1600 cm⁻¹ に現れた [1]。S₀ 状態ではこれに対応するラマン線の波数が離散的にシフトすることが知られているが、 $\nu_r(T_1)$ の波数は連続的にシフトし、溶媒の分極率 ($\epsilon = (n^2 - 1)/(n^2 + 2)$; n は溶媒の屈折率を表す。) との間に (ジクロロメタンとピリジン溶液とを除いて) 直線関係が見出された (図 1)。T₁ 状態では S₀ 状態での解釈に用いられている「配位数の変化に伴ったマクロサイクルのコアサイズの急激な変化」は起きていないと示唆される。

一方、BPhe の S₀, T₁ 状態ではこれに対応するラマン線の溶媒効果は観測されなかった。溶媒はマグネシウムを介して Bchl の $\nu_r(T_1)$ の波数に影響を与えていると示唆される。

【実験 2】 THF (またはピリジン) とジクロロメタンの混合溶媒系で Bchl の S₀, T₁ 状態のラマンスペクトルを測定した。

THF (またはピリジン) は Bchl との相互作用が強いが、ジクロロメタンは弱い。この混合溶媒系では前者が後者に比べて Bchl と選択的に相互作用していると期待される。選択的相互作用の程度を「Shell (Bchl 近傍)」と「Bulk」それぞれの混合溶媒組成比の比「K」として表す。「混合溶媒中に現れるラマン線の波数は、それぞれ純粋な溶媒中で観測されたラマン線の波数に「Shell」内の組成比をかけて平均化したもの」と仮定すれば、組成の異なる混合溶媒系で観測される一連のラマン線の波数から「K」を見積ることができる。同じ混合溶媒系における「K」は S₀ 状態と T₁ 状態と一致した。同じ混合溶媒系における選択的相互作用の程度は S₀ 状態と T₁ 状態と同じであると示唆される。

[1] E. Nishizawa and Y. Koyama, Chem. Phys. Lett., 176 (1991) 390.



(図 1) $(n^2 - 1) / (n^2 + 2)$

° 丸鬼導隆, R.J. Cogdell¹, 小山 泰 (関西学院大・理, ¹グラスゴー大・植物)

光合成初期過程でカロテノイドは光エネルギーの捕獲・伝達および散逸を担っている。カロテノイドシフトとして知られるようにカロテノイドがアポ蛋白に結合すると吸収帯が長波長シフトする。よって、カロテノイドの機能発現のメカニズムを解明しようとする、カロテノイドが置かれている環境や蛋白との相互作用を調べる必要がある。

カロテノイドの最低一重項励起状態 (S₁) は基底状態と振電相互作用している 2¹A_g 状態であり、S₁ での C=C 伸縮振動 (C=Cstr(S₁)) は異常に高い振動数 (1700~1800cm⁻¹) を持つ。また、有機溶媒中の β-カロテンとその誘導体では C=Cstr(S₁) の波数 $\nu[C=Cstr(S_1)]$ が溶媒の分極率と対応して変化する。そこで我々は、 $\nu[C=Cstr(S_1)]$ の変化を用いてカロテノイドが置かれている環境を調べようと考えた。

ML(76MHz)-QS(800Hz) のピコ秒 (パルス幅 ~ 100ps) YAG レーザーの SHG (532nm) を用い、測定光の強度を変化させることにより励起状態と基底状態のラマン線を得た。

溶液中のスフェロイデンでは $\nu[C=Cstr(S_1)]$ は溶媒の分極率と対応してほぼ線形に変化することがわかった。クロマトフォアでは $\nu[C=Cstr(S_1)]$ が 1766cm⁻¹ に低波数シフトすることにより、カロテノイドが非常に分極率の大きい環境に置かれていることがわかる。さらに、光捕獲色素蛋白複合体 2 (LH2, B800-850) と光反応中心 (RC) を単離し、ラマンスペクトルの測定を試みたが、まだ S₁ のラマン線は検出されていない。S₁ のラマン線が LH2 や RC で観測されずクロマトフォアで観測されたことは、LH2 では効率のよいエネルギー移動が起こりカロテノイドの S₁ の寿命が短くなっている、また、クロマトフォアでは長寿命の S₁ 成分があるというを示唆している。(クロマトフォアと LH2 ではスフェロイデンの T₁ に由来するラマン線が観測された。)

現在我々は、アミノ酸側鎖によく似た構造の有機溶媒を用いて $\nu[C=Cstr(S_1)]$ の変化を調べようとしている。また、クロマトフォアでの S₁ のラマン線が光捕獲色素蛋白複合体 1 (LH1, B875) に由来すると考え、LH1 を調整しラマンスペクトルを測定しようとしている。さらに、より短いパルス光で LH2, RC のラマンスペクトルを測定しようとしている。

[1] M. Kuki et al. Chem. Phys. Lett. 1990, 165, 417.

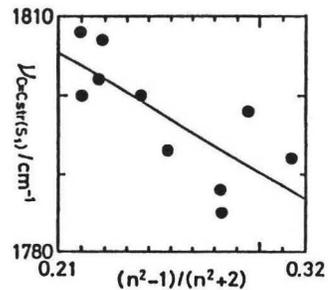


図-1 溶媒の分極率とスフェロイデンの $\nu[C=Cstr(S_1)]$ との関係。

加藤哲也、田中歩 (京大・理・植物)

我々は 1989年に褐藻の光捕捉系の Fucoxanthin-Chl α/c 蛋白が、ラン藻や紅藻の Phycobilisome の場合と同様に分子集合体をなしていることを報告し、この集合体を Fucoxanthin-Chl α/c Protein Assembly (FCPA) と名づけた。はじめ我々は FCPA を均一な亜粒子の集合体と考えたが、その後 FCPA を CHAPS で処理し密度勾配遠心を行ない、FCPA が少なくとも二種の亜粒子を構成成分としていることを見いだした。この知見にもとずいて FCPA の分子構築を解明する努力をはじめたが、遠心分離を用いる研究には制約があって解析は進まなかった。最近、非変性ゲル電気泳動法によって、FCPA の亜粒子を分離することに成功し、FCPA の分子構成についていくつかの新しい知見を得たので報告する。

- 1) FCPA を 0.2% Lauryl sucrose (三菱化成食品 SM1200) で処理し、0.1% の lauryl sucrose を含むアクリルアミドゲル (8%) で電気泳動をすると、移動度の大きい褐色のバンドとそれより移動度の小さい緑色のバンドが分離した。
- 2) これらのうち褐色のバンドは、構成する蛋白が一種類で、その分子量は 20,000 前後、これに Fucoxanthin, Chl c , Chl α が結合し、Fucoxanthin \rightarrow Chl α , Chl c \rightarrow Chl α の両過程で 100% に近いエネルギー転移を示した。移動速度から考えてこれは Fucoxanthin-Chl α/c 蛋白の単量体と考えられる。
- 3) 緑色のバンドからは Chl c は検出されない。蛋白成分としては 60 kDa 前後のものが主成分で他にいくつかの成分がある。FCPA を解離させて生ずる緑色のバンドは蛋白レベルで褐色のバンドの 1/4.0 - 1/4.3 で、これが FCPA のコアで、このまわりに Fucoxanthin-Chl α/c 蛋白の単量体が付着していると思われる。

○ 浜野 拓也、加藤 哲也、三室 守¹ (京大・理・植物、¹ 基生研)

褐藻や珪藻などの藻類では、光合成の光捕捉に fucoxanthin とよばれるカロテノイドを用いている。Fucoxanthin が吸収し光エネルギーは Chl α に転移されて光合成反応に使われるが、Fucoxanthin \rightarrow Chl α のエネルギー移動は、両者の間に蛍光、吸収スペクトルの重なりが殆どないという点で他の光捕捉系と異なっている。

褐藻から精製した fucoxanthin-chlorophyll α/c 蛋白複合体 (FCPA) 中の Chl α , Chl c の吸収型をそれぞれの蛍光の励起作用スペクトルから求め、それをもとに FCPA 中の fucoxanthin の吸収を求めると、得られたスペクトルは 478 nm に吸収極大を示す。有機溶媒中の fucoxanthin の吸収極大は hexane 中で 448 nm, benzene 中では 460 nm で、FCPA の fucoxanthin はこれらより 20-30 nm 長波長にある。Fucoxanthin の吸収をさまざまな溶媒中で比較したが、吸収極大が 478 nm まで達する例はなかった。

一方、FCPA を温度処理 (45^o 1分) すると fucoxanthin の吸収は短波長へ移行し、FCPA は褐色から黄緑色に変化するが、これとともに fucoxanthin \rightarrow Chl α の転移は見られなくなる。無傷 FCPA の fucoxanthin \rightarrow Chl α の転移効率は 100% に近く、この高効率率は両色素の近接と、両者の特殊な配向によって達成されるとされてきたが、fucoxanthin の分光学的性状はより明瞭な Parameter となる。Fucoxanthin の長波長型から短波長型への変化の前後で共鳴ラマンスペクトルには全く変化が見られないのにたいして、円偏光二色性 (CD) スペクトルでは、長波長型で 478 nm に fucoxanthin に由来する大きな負のシグナルがあるが、短波長型への移行に伴ってこれが消失するのが見られた。これは fucoxanthin 分子内の構造の変化よりは fucoxanthin 分子とそれに近接する分子の相互作用の形式が fucoxanthin \rightarrow Chl α の転移効率にとって重要であることを示すものであろう。

1 aF 09

Rhodobacter sphaeroidesの色素蓄積に対する青色光阻害効果欠損ミュータントの解析
○島田裕士, 塩井祐三, 高宮建一郎 (東工大・生命理工・生体機構)

紅色非イオウ細菌, Rhodobacter sphaeroidesの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うけることが報告されている。半好氣的条件下で光を照射すると, 集光性バクテリオクロロフィル(Bchl)タンパク複合体 I と II (それぞれ LHI と LHII と略す) のアポタンパク遺伝子の発現が阻害されていることを前回までの学会で報告した。阻害の作用スペクトルから 400nm-880nm の間では全ての波長域において阻害がみられたが, LHI, LHII とも 450nm の光によって強く発現が阻害されていることがわかった。この結果は Bchl とカロテノイド蓄積に対する青色光阻害効果とも一致した。そこでアポタンパク遺伝子の発現阻害と光合成色素の蓄積阻害の機構を解明するために, 450nm 付近の青色光による色素蓄積の阻害がみられないようなミュータントを作製した。半好氣的条件下において生育中の菌にメタンスルホン酸エチル(EMS)を 0.5% の濃度で 2 時間処理し, プレート上で強光度の光を照射して生育させた。そこから白色でないコロニーをスクリーニングし, 液体培地中で光による色素蓄積の阻害を調べて求めるミュータントを見つけた。このミュータントは半好氣的条件下で光を照射すると, 野生株に比べて膜タンパクあたりの Bchl は約 4 倍多く蓄積していた。嫌氣的条件下, 光合成的生育時における強光, 弱光による色素蓄積の差は野生株との違いはみられなかった。半好氣的条件下, 嫌氣的条件下での OD₆₆₀ による生長速度の測定においては野生株との間で違いはみられなかった。現在, このミュータントのより詳しい解析をおこなっており, その結果を報告する。

1 aF 10

高等植物黄化組織のジビニル-プロトクロロフィリドの存在量とその変動
○塩井 祐三・高宮 建一郎 (東工大・生命理工・生体機構)

高等植物の黄化葉にはクロロフィルの前駆体となるプロトクロロフィリドとそのエステル体であるプロトクロロフィルが存在している。近年, プロトクロロフィリドには従来のモノビニル種に加えてジビニル種が存在することが明らかになった。しかしながら, 2, 3 の植物で定性的に調べられたのみで, その存在量は明らかにされていない。我々は 17 科 24 種の高等植物黄化葉について, モノビニルおよびジビニル-プロトクロロフィリドの量比を測定したので報告する。

モノビニル, ジビニル-プロトクロロフィリドは我々が先に報告したポリエチレンカラムを用いた高速液体クロマトグラフィーにより分離・測定した(1)。分析は 20°C で, 色素は 60%(v/v) アセトン-水を用い, 0.2 ml/分 で溶出した。色素の検出は 430 nm (Ex.), 640 nm (Em.) の波長を用いた蛍光法で行った。

ジビニル-プロトクロロフィリドは検討した 24 種の植物のすべてに存在し, その量は植物の種類およびその age によって大きく異なることが明らかになった。またジビニル種は若い黄化葉に多く存在し, 時間とともに減少する。このことはジビニルからモノビニル種が生成する生合成過程とも一致している。ジビニル種の量比により植物は 3 つのタイプに分けることができる。トウモロコシなどの単子葉イネ科植物黄化葉はその age に関係なくモノビニル種をおもに含み, モノビニル-プロトクロロフィリドを得るための良い材料といえる。このほか, 精製したモノビニル, ジビニル-プロトクロロフィリドの分光学的性質についても報告する。

(1) Shioi, Y. and Beale, S. I. (1987) Anal. Biochem. 162: 493-499.

*Rhodobacter sulfidophilus*は明嫌気条件に加え、暗好氣的にも光合成色素を合成し光合成器官の形成を行う特徴を持っており、光や酸素による光合成器官形成の制御を検討する上で有用な材料と考えられる。さらにEthylmethane sulfonate等の変異源で処理することにより容易にバクテリオクロフィルとカロテノイド生合成を異にする変異株が得られる。本講演では現在得られている変異株の特質と変異株が生成するBchl中間代謝物質の蓄積に対する光と酸素条件の影響について報告したい。変異株MJ3, MJ50, MJ52（光合成的に生育しない）は暗好氣的な生育に伴い各々主な産物としてP625, P655, P750を蓄積した。蓄積する色素の大部分は低速遠心時に菌体を覆う上層沈澱として回収された。これらの色素の蓄積は生育中の光照射により完全に阻害され、暗条件下での蓄積は供給される酸素量に依存して変動した。P625とP655の蓄積量の増大が酸素供給量の高い生育条件で、逆にP750の増大が低い条件で観察された。蓄積した色素は全て光照射条件下では速やかに分解されたが、暗好氣的にはゆるやかであり特にP655はほとんど分解を受けなかった。このことから、少なくとも、酸素供給量の高い条件下でみられるP655蓄積量の増大は合成量の増大によるものと考えられる。同様な条件で野生株を生育させるとBchl量は低酸素供給時に比べ高酸素供給時には30-40%減少したが、P655等の蓄積は観察されなかった。

1 aF 12

ゲラニルゲラニルクロロフィルを蓄積するイネ突然変異体の色素タンパク質組成と光合成活性

°小林 善親、川上 恭一、西本 悦子、三小田 崇¹

¹岩田 伸夫¹（九大・農・林学、¹九大・農・育種）

アルコール側鎖の還元段階が異なるクロロフィル 中間体を大量に蓄積するイネ突然変異株2系統（M134、M249）を分離した。表現型として、M134はゲラニルゲラニルクロロフィル aおよびb（a-GGとb-GG）を蓄積し、M249はこれら2種類の間体に加え、アルコール側鎖がさらに還元されたa-DHGG、a-THGG、b-DHGG、b-THGGの6種類の間体を蓄積し、いずれの変異株もアルコール側鎖にフィトールをもつクロロフィル aおよびbの含量が極めて少ないという特徴を持っている。

（1）変異株のクロロフィル 当りの光合成活性は、野生株と比較して差はなく、クロロフィルタンパク質組成にも顕著な差は認められなかった。

（2）野生株および突然変異株の黄化葉に光を照射すると、30分後にa-GGが出現し、4時間後にb-GGが出現する。光照射開始後10時間で中間体の量は最大となった後、野生株では中間体の量は時間とともに減少し、最終的にクロロフィルaおよびbのみとなる。M134においてはa-GGとb-GGのみが増加する。

これらの結果は、クロロフィル aおよびbはそれぞれa-GGおよびb-GGを経由して合成されること、a-GGおよびb-GGはクロロフィルタンパク質に結合したのちアルコール側鎖の段階的還元を受けることを示している。

一般講演

第1日 3月29日(日) 午後の部

- A会場 電気生理／細胞培養
- B会場 オルガネラ
- C会場 成長調節物質(Ⅱ)
植物・微生物相互作用
- D会場 ストレス(Ⅰ)
- E会場 形態形成

1pA 01

シャジクモ原形質膜の Ca^{2+} 依存性 Cl^- チャンネル

: Calmodulin の及ぼす効果

沖原 清司¹、大川 和秋²、葛西 道生¹

(¹阪大 基礎工 生物工、²阪大 教養 生物)

シャジクモ節間細胞の興奮時には Cl^- イオンが多量に流れるがこれは原形質膜の Ca^{2+} -activated Cl^- channel の opening による。昨年の本学会では、patch clamp inside-out法を用いて得た原形質膜の Ca^{2+} 依存性 Cl^- channel の性質について報告した。この channel は $0.1\mu\text{M}$ Ca^{2+} 濃度では殆ど開かないが、 $1.0\mu\text{M}$ Ca^{2+} 濃度のもとで限られた電圧領域 (-60 -- -180mV) でのみよく開く性質を示した。さらに $1.0\mu\text{M}$ Ca^{2+} 濃度で活性化された channel の opening は calmodulin-antagonist (W-7, TFP, CPZ) の添加によってほぼ完全に阻害されることから、この channel の opening に calmodulin 又は calmodulin-like factor の関与の可能性が示唆された。

今回は $1.0\mu\text{M}$ Ca^{2+} 濃度下において calmodulin を細胞質側に添加した時の inside-out法での実験結果を報告する。calmodulin の添加は時間的に減衰していく channel の活性を一時的に回復させた。またこの channel の最大確率は通常 -100mV 付近にあるが、calmodulin の添加後は -140mV 付近に移行した。このような calmodulin の効果は EGTA をさらに添加する事により阻害された。我々は、細胞質側の溶液に加えた calmodulin がこの Cl^- channel の opening を活性化するばかりでなく電圧依存性にも影響を与えたと結論した。

1pA 02

シャジクモ節間細胞の膜電位に及ぼす局所麻酔剤の影響

・大川和秋、野坂修一¹、沖原清司²、吉川清³ (阪大・教養生物、¹滋賀医大・麻酔科、²阪大基礎工・生物工、³大阪成人病センター)

リドカイン、テトラカインなどの両親媒性の局所麻酔剤により シャジクモ節間細胞の原形質膜は脱分極する。この脱分極は原形質膜の起電性の H^+ ポンプのコンダクタンスが減少することと、拡散コンダクタンスが増加することに依る。電気刺激により細胞が興奮すると局所麻酔剤の脱分極作用は著しく増大する (use-dependent depolarization)。この作用機序を議論出来る段階ではないが、局所麻酔剤のリピッドへの親和性と関係することが予想された (1991 年度年会)。今回の実験は異なる pH 条件下において局所麻酔剤の脱分極作用の程度の差を調べることにより、上記予想を確認する事を目的とした。

リドカイン及びテトラカインの pK_a 値はそれぞれ 7.8 及び 8.4 である。従って中性条件下ではそれぞれの中性型と荷電型の割合は約 30:70 及び 4:96 程度であり、 pK_a 値での pH 条件下では 50:50 である。一般にリピッドへの親和性は中性型において強い。従って、局所麻酔剤の脱分極作用はアルカリ側において強くなると予想された。事実、上記の局所麻酔剤以外にもプロカイン (pK_a 値=8.9) もアルカリ側において脱分極作用は著しく増大した。 pK_a の 3 のベンゾカイン、 pK_a の 13 である QX-314 (リドカインの誘導体) では pH 依存性の脱分極作用は顕著でない。以上のことより局所麻酔剤の中性型のリピッド層への透過あるいは親和性が膜の脱分極に密接にな関係することがより強く示唆された。

緒方惟昭 (産医大・医短・生化)

Chara 節間細胞に対する細胞外塩素イオン (Cl^-) の影響については、多くの報告がある:

a) 興奮時には Ca^{2+} -channel が開き、細胞内の (Ca^{2+})_i が上がり、 Cl^- -channel を開く事により、膜電位が一時的に Cl^- の平衡電位に近づく (Kishimoto; 1964, Tsutsui et al.; 1986, etc.);
 b) 一方静止時に於いて、 H^+ -pump/channel がほぼ完全に抑制されている状態 (K^+ / Cl^- によって決まる平衡電位に近い) を除いて、普通の生理学的状態では、膜電位はかなり深い位置に保たれている (Kitasato; 1968, Kishimoto et al.; 1984, etc.);
 c) 細胞が明条件下で適当なイオン環境に置かれると、静止電位に明瞭な空間的不均一性が現れる (高酸分極域; H-部) / (低酸分極域; D-部); これは、同条件下で細胞外近傍に現れる H^+ / Cl^- 領域の空間的分布に対応している (Lucas & Smith; 1973, Walker & Smith; 1977, Ogata; 1983 etc.);
 d) 膜には Cl^- / H^+ -cotransport 系がある” と言われ、光による Cl^- -influx の増加は光リン酸化阻害剤 及び 細胞内外の H^+ 濃度差によって効果的に抑制される (MacRobbie; 1964 etc. Felle; 1987);
 e) また、 Cl^- の取り込みは 主に酸領域で起こっているとの報告もある (Spear et al.; 1969, Smith et al.; 1970)。

今回、 μ -Ag/AgCl 電極を作製し Chara 細胞外部近傍の Cl^- 活量を測定した結果、 H^+ 部分で 3×10^{-4} mol/l、酸部分より高い値を得た、ここで (Cl^-)_o は 1×10^{-3} mol/l であった。このことは、少なくとも上記報告を質的に支持することになった。

車軸藻細胞膜において Cl^- エフラックスを引き起こす細胞内 Ca^{2+} の作用機作

三村 徹郎、新免 輝男 (姫路工大・理・生命)

車軸藻類節間細胞の細胞膜は、電流等の刺激に応じて、 Ca^{2+} と Cl^- 二種のイオンの関与する活動電位を発生することが知られている。この活動電位は、刺激に応じて開いた細胞膜の Ca^{2+} チャンネルを通して Ca^{2+} が細胞内に流入し、流入した Ca^{2+} が細胞内から細胞膜上の Cl^- チャンネルを開かせ Cl^- エフラックスが生じる結果によるものと推測されている。最近沖原ら (1991) は、パッチクランプ法を用いて節間細胞細胞膜上に Ca^{2+} -カルモデュリン依存の Cl^- チャンネルを見いだした。すでに椎名ら (1988) は細胞内灌流法を用いて、細胞内の Ca^{2+} 濃度を上昇させると Cl^- の大きなエフラックスが生じることを見いだしている。一方三村ら (1983) が以前椎名らと同様の方法で細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させたときには Cl^- エフラックスの増大は全く見いだせなかった。本研究では、この二つの実験結果の相違点の原因について検討した。その一つとして、 Ca^{2+} 依存性 Cl^- エフラックスに対するカルモデュリン阻害剤の効果調べたが、特に顕著な阻害作用は見られなかった。これは椎名ら (1988) の実験結果に一致する。

沖原ら (1991) *Plant. Cell Physiol.* 32:593, 椎名ら (1988) *J. Membr. Biol.* 106:135, 三村ら (1983) *Protoplasma* 118:49

1pA 05

シヤジクモ及びオオカナダモにおける光、酸負荷、アルカリ負荷による細胞質 pH と膜電位の変化
岡崎芳次、田沢仁¹、岩崎尚彦（大阪医大・教養・生物、¹福井工大・応用理化学）

植物細胞の細胞質 pH (pH_c) が低下すると、細胞膜にあるプロトンポンプが活性化するという報告が今までされている。しかし、 pH_c と膜電位を直接測りながらその関係を調べた例は少ない。本実験ではプロトン選択性微小ガラス電極（2連式）を作製し、光、酸負荷、アルカリ負荷の pH_c と膜電位に対する影響を調べた。材料には淡水産シヤジクモ類 (*Chara*) の節間細胞及びオオカナダモ (*Egeria*) の葉を用いた。

Chara 節間細胞に光を当てると pH_c は増加し、膜は過分極した。そして、光を切ると pH_c と膜電位は回復した。一方、*Egeria* の葉に光を当てると、膜の過分極がおきるとともに、 pH_c の一過的増加が起きた。植物細胞の膜電位を過分極させることが知られている fusicoccin は *Chara* には何も影響を与えなかった。*Egeria* では膜の過分極が起きたが、 pH_c はほとんど変化しなかった。次に細胞質を酸性化（酸負荷）する目的で外液 pH 5 で酢酸及び酪酸を与えたところ、*Chara* 及び *Egeria* において pH_c はすぐに下がりはじめるとともに、膜の過分極がおきた。外液から酢酸及び酪酸を除いたところ、 pH_c はすぐに回復したが、膜電位の回復は pH_c の回復より遅れた。更に、細胞質をアルカリ化（アルカリ負荷）する目的で外液 pH 9 で塩化アンモニウムを与えたところ濃度が十分高いと *Chara* 及び *Egeria* で、 pH_c の増加が見られた。しかし、濃度が低いとむしろ pH_c の減少が見られた。また、膜の脱分極する細胞と膜電位の変化しない細胞が見られた。以上の結果は、 pH_c の減少が膜の過分極（プロトンポンプの活性化）を引き起こす1つの原因になりうることを示すとともに、 pH_c 以外の因子によってもプロトンポンプ活性は調節されていることを示唆している。

1pA 06

車軸藻類における原形質流動の停止と活動電位
島田希代・平本幸男・菊山宗弘（放送大学・生物）

車軸藻類節間細胞では非常に活発な原形質流動が見られる。この流動はカルシウムによって制御されている。一方、この細胞は活動電位を発生することでもよく知られている。活動電位を発生すると外液からのカルシウムの流入が増加するために、一過性に細胞質カルシウム濃度の増加が起り、原形質流動が停止する。しかし、活動電位にともなう細胞質中のカルシウム濃度の増加と、原形質流動の停止との対応関係を確実に検討した報告はまだない。

我々は低温下では活動電位の時間経過が長くなることを利用して、流動の停止やカルシウム濃度の増加が活動電位のどの時期に起るかを測定した。流動はテレビカメラで、カルシウムの増加はエクオリンの発光として超高感度テレビカメラで観察した。活動電位はレコーダーのペンの動きとして、テレビ画面上に同時に映しこんだ。

カルシウム濃度は活動電位の初期に増加し始め、ピーク付近で最大になり、終期にはもとのレベルに戻る。一方原形質流動は、カルシウム濃度の増加時期に少し遅れて停止しするが、流動の回復はカルシウム濃度の回復よりもはるかに遅れる。

1pA 07

ツユクサ生葉における細胞電位及びイオン濃度の三次元
分布解析

○齊藤美佳子、松岡英明、根本泰行
(東京農工大・工・応用生物)

・目的: 植物生葉は、CO₂ストレスにตอบสนองして、細胞内電位が顕著に変化することが見だされている。本研究はこの応答の電気化学的解析を目的としており、植物細胞の中で主要なイオンであるH⁺, K⁺, Cl⁻に着目し、各々のイオンの関与を調べた。

・方法及び結果: 二連式微小電極の一方に、イオノフォアカクテル(WPI, IE-010 WPI, IE-190 WPI, IE-170)を充填してイオン選択性とし、他方は通常の細胞内電位測定用とした。これを用いてCO₂ストレス応答における各イオンの濃度変化を測定したところ、CO₂との反応により、まず始めにK⁺濃度が増加し引続きH⁺, Cl⁻が移動することが明らかになった。これらの応答機構を考えるには、ツユクサ生葉の構造を電気化学的に明らかにする必要がある。そこで、イオン選択性電極の刺入位置を変えることにより、電位及びイオンの濃度分布を三次元的に解析を行った。その結果、生葉中心部で、かつ、葉脈間の第一層の細胞では細胞内の電位は約-90mVであり、細胞外の電位は30mV付近であった。また、その部位でのK⁺濃度はそれぞれ約50mM, 4mMであると推定された。電極先端が細胞内にあるときには、電位が不安定であったが、細胞外にあるときには、30分以上定常となる傾向にあった。三次元的に、特に規則性のある電位分布、イオン濃度分布は得られなかった。

1pA 08

パッチクランプ法によるタバコ培養細胞原形質膜の
イオンチャンネルの同定とその特性

村田芳行、小尾一郎、角谷忠昭(京都大 農 農化)

[目的] 高等植物の外的刺激に対する生理的応答において、物質、特にイオンの輸送、蓄積は、きわめて重要である。しかし、その輸送機構や信号変換に関わる知見については、ほとんど得られていない。そこで、これらの知見を得るために、まず初めに、パッチクランプ法を用いて、タバコ培養細胞プロトプラストの原形質膜に存在するイオンチャンネルを同定し、その特性について調べた。

[方法] 材料として、酵素法で単離したプロトプラストを用いた。チャンネル電流は、パッチクランプアンプCEZ-2200(NIHON KOHDEN)を用いて、cell-attached mode, whole-cell configuration, outside-out patchで測定した。

[結果] bath sol.: 100mM KCl/1mM CaCl₂/300mM glucose/1mM BES(pH7.0 Trisで調整), pipette sol.: 100mM KCl/1mM 3K-EGTA/2mM MgCl₂/350mM glucose/1mM BES(pH 7.0 Trisで調整)で測定した場合、外向きの整流性を持ったホールセル電流が観測された。この電流がカリウムチャンネルのブロッカーであるTEA⁺によって大部分阻害されること、また、KClをK-Glutamateに置換することによってあまり変化しないこと、さらに、逆転電位がカリウムの平衡電位に近いことより、この電流がカリウムチャンネルによるものであることが示された。このチャンネルのイオン選択性については、ホールセル電流の結果より、K⁺が、Na⁺, Rb⁺, Li⁺, Cs⁺に比べ透過性が高いことが示された。さらに、細胞外カルシウムの増加(0.1-10.0mM)によって、ホールセル電流は減少し、カルシウムが原形質膜のカリウムの透過性を減少させることが示唆された。なお、これらのホールセル電流の変化のシングルチャンネルレベルでの解析についても合わせて報告する。

1pA 09

塩ストレス下にあるタバコ培養細胞原形質膜のイオンチャンネルと Ca^{2+} 結合挙動

○小尾一郎, 村田芳行, 角谷忠昭 (京都大 農 農化)

[目的] 植物の塩ストレスへの適応機構・耐塩性機構において, 原形質膜・液胞膜におけるイオン透過性の制御が重要な役割を果たしていると考えられる. 本研究では, 塩ストレス下にあるタバコ培養細胞原形質膜の1価カチオン透過性とそれに対する Ca^{2+} の効果, 及び膜への Ca^{2+} の結合挙動について検討した.

[方法] 材料として, sucrose (3%)と2,4-D (10^{-6} M)を含むLS改変培地 (pH5.7)で培養したタバコ培養細胞 (BY-2), 及び上記の培地に50mM NaClを添加した培地で継代培養したものから単離したプロトプラストを用いた. チャンネル電流は, パッチクランプアンプCEZ-2200 (NIHON KOHDEN)を用いて, cell-attached mode, whole-cell configuration, outside-out patchで測定した. Ca^{2+} 結合挙動は, 細胞電気泳動法により求めた表面電荷密度の変化量を元に評価した.

[結果] まず塩ストレスを与えた培養細胞由来のプロトプラストを用いてホールセル電流を測定した. 内外ともに100mMのKClを含む系では外向きの整流性をもった電流が観測された. また細胞外 Ca^{2+} の増加によってこの外向きカリウム電流は減少した. またストレスを与えなかったものと比較すると, これらの外向きカリウム電流は若干小さかった. 内外とも100mMのNaClを含む系ではKClの場合に比べ外向き電流は, 著しく小さかった. 次に Ca^{2+} 結合挙動を検討・比較した結果, ストレスの有無による差異よりもむしろ共存する1価カチオンの種類 (K^+ , Na^+)・濃度による影響が大きいことが示唆された.

1pA 10

タバコ培養細胞液胞膜の電圧依存性 K^+ -, Ca^{2+} -および Cl^- チャンネル

○張 平, 矢部 勇, 武藤 尚志 (東京大・応微研)

植物細胞の液胞膜には, 多種のイオンチャンネルが共存し, 重要な生理的意義をもっていると考えられる. しかし, パッチクランプ法による高等植物細胞液胞膜のイオンチャンネルの調査はまだ十分ではない.

タバコ培養細胞 (BY-2) からプロトプラストを調製し, 低張処理により液胞を遊離させた. 液胞膜のoutside-out mode patchで, 57-pS, 24-pS, 43-pSの K^+ チャンネルおよび110-pSの Cl^- チャンネルが記録された. K^+ チャンネルは外向きおよび内向き整流性を示し, Cl^- チャンネルは内向き整流性を示した. K^+ チャンネルと Cl^- チャンネルが開く可能性を除去し, Ca^{2+} チャンネルが開くような条件において, 外向き整流性をもつ Ca^{2+} チャンネルは記録できなかった. しかし, 液胞膜のinside-out mode patchで, 内向き整流性をもつ電圧依存性の Ca^{2+} チャンネルが記録された. そのコンダクタンスは9 pSであった. Ca^{2+} を Ba^{2+} に置き換えると, このチャンネルのコンダクタンスは19 pSになった. このチャンネルの整流性は一般に信じられている Ca^{2+} のfluxの方向とは逆であるが, 活性が非常に高いので実際に細胞内で作動している可能性が推測される.

1pA 11

苔類培養細胞による peroxidase の細胞外蓄積

○太田 喜元、中河原 俊治、郭 沢建、隅谷 有子

(PCCテクノロジー 山崎研究室)

蘚苔類に存在する peroxidase (POD) については、以前から遺伝的変異あるいは系統発生的立場からの研究があり、またゼニゴケ (*Marchantia polymorpha*) 培養細胞による生成と細胞壁局在が報告されている。今回演者らはゼニゴケ細胞が培地中に大量に蓄積する POD について検討した結果、いくつかの知見を得たので報告する。

ゼニゴケ細胞はグルコース 2% を含む、MS 改変培地で培養する。培養経過にともない、培地中の蛋白量は漸増するが、特に対数増殖期後半から急増し、これに伴って POD 活性も著しく高まる。培養 12 日目の培地中の蛋白量は約 200 mg/L であり、グアヤコールを基質とした場合の POD 活性は、約 50 μ Katal/ml あるいは約 430 μ Katal/mg 蛋白である。硫酸沈澱により得たタンパク質画分について検討したところでは、この peroxidase (MpP) は分子量約 3 万、pI 約 4.5 の酸性蛋白で、至適 pH は 7.5 近辺にある。MpP は熱に対して比較的安定であり、60°C 30 分で約 30% の活性が残る。

基質については、グアヤコールあるいは沃素イオン等を酸化する点では西洋ワサビの POD と同様であるが、更にチオシアネートをも酸化し得る点で、従来植物中に見出されている POD と異なると考える。

1pA 12

Glycyrrhiza echinata 培養細胞における 6'-deoxy-chalcone の酵素的合成

原納 究、岡田典子、古野哲郎、高橋武美、○綾部真一
(日大・農獣医・応用生物)

5-Deoxy 型の (イソ) フラボノイドはマメ科のストレス化合物 (phytoalexin など) に多くみられ、その生合成は植物の防御反応に関係があると想像される。生合成の key step である 6'-deoxychalcone の合成反応は、従来知られていたカルコン合成酵素 (CHS) による触媒では説明がつかなかったが、演者らはカンゾウ (*G. echinata*; マメ科) 細胞からの *in vitro* 活性検出に成功した。その後 Grisebach グループにより、CHS と共同作用する還元酵素がダイズ培養細胞より検出精製された。今回ダイズ還元酵素に対する抗体を用いて、Western 法によりカンゾウ抽出液を調べた。

[方法・結果] 抽出物を SDS-PAGE で分離し、ニトロセルロース膜に転写後、抗体で認識される蛋白を Enzygraphyc WEB を利用して発色させた。ダイズで見られたものとはほぼ同じ Mr 34 KDa の位置に明らかなバンドが検出され、振盪培養細胞では僅かに低分子量のバンドも少量検出された。これらの蛋白は、細胞へのエリクター刺激などの有無にかかわらず常に存在していた。粗抽出液の DEAE-Cellulose クロマトを行い、CHS 活性画分を解析したところ、Western blotting で還元酵素蛋白が見られない画分では、NADPH 存在下でも 5-hydroxy 型の化合物しか生成しなかった。これらの結果より、カンゾウ細胞でもダイズと同様の還元酵素が常に存在し、CHS と共同作用して deoxy 型フラボノイドの生合成に関与していることが示唆された。

1pA 13

タバコの馴化細胞、遺伝的腫瘍における

Ngrol遺伝子群の発現の解析

青木誠志郎・市川尚齊・関根政実・新名博彦・庄野邦彦、
(東大・教養・基礎、阪大・工・応用生物)

非形質転換体のタバコ、*Nicotiana glauca*のゲノム中には、*Agrobacterium rhizogenes*の持つT-DNAの一部、*rol*遺伝子群と高い相同性を持つ遺伝子の存在が知られておりNgrolB,Cと名付けられている。我々はこの他にもORF13,14と相同性のある遺伝子(以下NgORF13,1とよぶ。)がこの近傍に存在していることを確認し、シークエンスを行った結果、このNgORF13,14の部分とRiORF13,14との相同性はNgrolB,CとrolB,Cとの相同性より高いことがわかった。また、ORF13,14は*rol*遺伝子と共に形質転換させると、毛状根形成に対して相乗効果のあることが最近になって報告されている。さて、今まで筆者らは、*N. glauca*と*N. langsdorffii*との掛け合わせにより生じた遺伝的腫瘍におけるNgrolB,Cの発現を報告している。今回の報告では、さらに遺伝的腫瘍と馴化細胞におけるNgORF13,14のNorthern hybridizationを行った。馴化細胞より植物ホルモン非要求性となった培養細胞のことで、遺伝的腫瘍と同じくホルモンフリーの培地で生長可能である。その結果、遺伝的腫瘍のみならず馴化細胞においてもNgORF13,14の発現が確認された。これらの結果を踏まえ、遺伝的腫瘍と馴化細胞におけるオーキシンとNgrolB,C,NgORF13,14の関連に付いて考察を行う。

1pA 14

イネ培養細胞の凍結保存性に関連したタンパク質に関する研究

渡辺克美, 佐藤文彦¹, 山田康之¹, 河合文雄, 金森正雄
(財・環境科学総合研, ¹京大・農・農化)

植物培養細胞の凍結保存性は細胞株間で異なっている。だが、この凍結保存性の違いが何に起因するかはまだ明白ではない。植物の耐寒性に関する研究においては耐寒性と関連したタンパク質の存在が関心をもたれている。しかし、凍結保存性の違いに関係したタンパク質の研究はまだ行われていない。今回、我々は凍結保存性の異なるイネ細胞株のタンパク質の二次元電気泳動分析を行い、細胞の凍結保存性とタンパク質の関連について検討した。その結果について報告する。

分析の結果、凍結保存性と相関性を示すタンパク質(P1)が存在することを確認した。P1は対数増殖期の高凍結保存性細胞にはほとんど蓄積していなかったが、低凍結保存性の細胞では対数増殖期においてもP1の蓄積が認められた。また、いずれの細胞株においても凍結保存性が低い定常期においてP1の蓄積量は大きいものであった。次にP1の細胞内局在性を検討するためプロトプラストのタンパク質を分析したところ、プロトプラスト中にはP1はほとんど認められなかった。また、プロトプラストの凍結保存性は細胞の凍結保存性に比べ高いものであった。以上の結果はP1が凍結保存性の負の示標となることを示している。一方P1のN末端アミノ酸配列を決定したところ、相同性のあるタンパク質がタバコ培養細胞にも存在することが明らかとなった。現在、P1の性質についてさらに検討をかさねている。

池田 敬、野並 浩、越智 竜雄¹、福山 寿雄、
橋本 康（愛媛大・農，¹末広産業）

植物細胞の90%以上は水が占めているため、細胞拡大するとき細胞内へ入る水の速度によって伸長は左右される。水の移動は水ポテンシャル(Ψ_w)の勾配に依存しているため、細胞拡大が起こるには細胞伸長に伴った水ポテンシャル場が必要である。植物切片を培養すると形態形成が起こるため、特異的な細胞伸長が起こっていると考えられる。そこでIsopiestic Psychrometerを使って形態形成を起こした組織の Ψ_w 勾配がどのようになっているか計測し、カルス分化およびシュート形成における水分生理的比較を行なった。

実験にはカーネーション(Dianthus caryophyllus L. cv. Silvery pink)を用い、濃度を変えたMS培地とそれに植物ホルモンを加えた培地に茎頂部を植え付けた。

植物体の伸長部位と成熟部位の Ψ_w の差をとり水ポテンシャル場の大きさを求めると、伸長率に対応した値を示した。またカルスの発生した組織の水ポテンシャル場はほとんどゼロとなり、伸長率もゼロであった。

形態形成において伸長している組織細胞では水ポテンシャル場が大きく、カルスは細胞分裂を繰り返し、細胞拡大が起こらないまま成熟細胞になっていると考えられ、水ポテンシャル場は存在しても少ないと考えられた。

ニンジンの培養細胞からの不定胚形成に伴った細胞の水分状態の変化

野並 浩、前島昭博、福山寿雄、橋本 康
（愛媛大・農）

ニンジン (Daucus carota L.) の懸濁培養を行ない不定胚を分化させた。分化した不定胚は葉および幼根を分化しており、組織分化に伴った細胞生理的特性を明らかにするため細胞の水分計測を行なった。無菌的に播種した種子からの芽生えの胚軸を削除し、2,4-Dを加えたMS培地上でEmbryogenic callus (EC) を分化させた。分化させたECをBAを含んだMS標準液に接種し振盪培養を行なった。振盪培養開始後、培地の水ポテンシャルを経時的に計測した。また、植物体の細胞膨圧はプレッシャープローブで計測し、浸透ポテンシャルはナノリッターオスモメーターで計測し、膨圧と浸透ポテンシャルの和から水ポテンシャルを算出した。ECを懸濁培養させ始めてから、培地の水ポテンシャルの低下がみられ、水ポテンシャルが最低になったとき球状胚の分化がみられた。ハート型胚の分化に至って培地の水ポテンシャルの上昇が顕著に現われ、成熟胚に至ったとき、培地の水ポテンシャルはEC接種前の状態よりも高くなった。不定胚の分化に伴って葉の部分の細胞の膨圧は根の部分の細胞膨圧よりも顕著に低くなった。また、茎の部分はその中間の値を示した。浸透ポテンシャルは根部の細胞で最も低く、葉の部分で最も高くなった。細胞の水ポテンシャルは培地の水ポテンシャルとほとんど平衡状態であった。