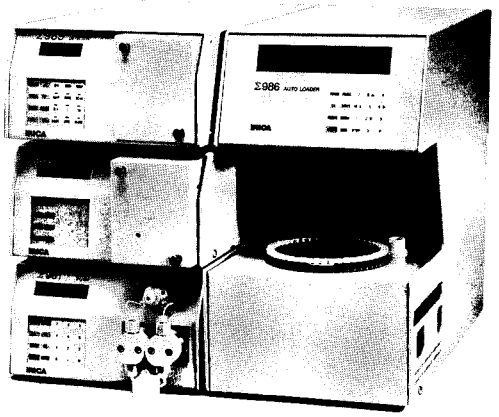
日本植物生理学会1993年度年会
および
第33回シンポジウム

講 演 要 旨 集

1993年3月29日（月）～3月31日（水）
金沢大学文・法・経・教育学部

日本植物生理学会

医理化 HPLC
微量分析システム



New Σ シリーズ

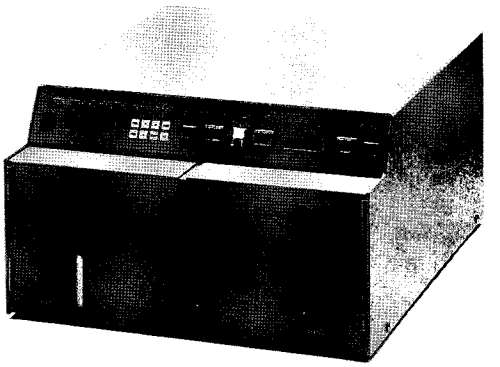
IRICA New Σ シリーズは極微量オートサンプラーと微流量送液イナートポンプで構成された高性能な HPLC システムです。
接液部は全て非金属で耐圧350kg/cm²です。

■ 超小型オートサンプラー　Σ 986
- 注入量は1μL から精度よく注入できます。
- 必要な試料量は注入量＋2μL です。

■ 微流量送液イナートポンプ　Σ 981
- セミミクロＨＰＬＣに対応可能です。
- 接液部は全て非金属で腐触の心配がありません。

■ 高感度電気化学検出器　Σ 985
- 非水溶媒系溶離液の使用が可能です。
- 電極部の恒温槽が標準装備されています。
- 電極の保守管理が簡単です。
- 目的に応じて各種の電極が用意されています。

医理化
キャピラリー電気泳動装置



CEC 200

IRICA CEC200は初めての人が安心して使いこなせる小型で再現性の高い経済的な装置です。

■ 小型です。
- 横幅：44cm 高さ：26cm 奥行：53cm

■ オーブンは標準装備です。

■ 安全機構付

■ 試料注入は0.1～9.9sec のデジタル設定です。

■ ピーク毎に最適な測定波長をプログラムできます。

■ 安価です。

CEC200標準仕様

最大負荷電圧	30KV
最大負荷電流	330μA
制御モード	CV（定電圧　0～30KV　1KV 単位の制御）
	CC（定電流　0～99μA　1μA 単位の制御）
電極	白金
安全装置	ドアロック機構による
注入方式	タイマーによる電動吸引式
オーブン	室温＋3～79℃

医理化機器株式会社 IRICA

□本　社
〒612 京都市伏見区深草西浦町８丁目47番地１
ＴＥＬ（075）643－2321（代表）
ＦＡＸ（075）643－2445

□東京支店
〒101 東京都千代田区神田東松下町19
ＴＥＬ（03）3254－3951（代表）
ＦＡＸ（03）3254－3949

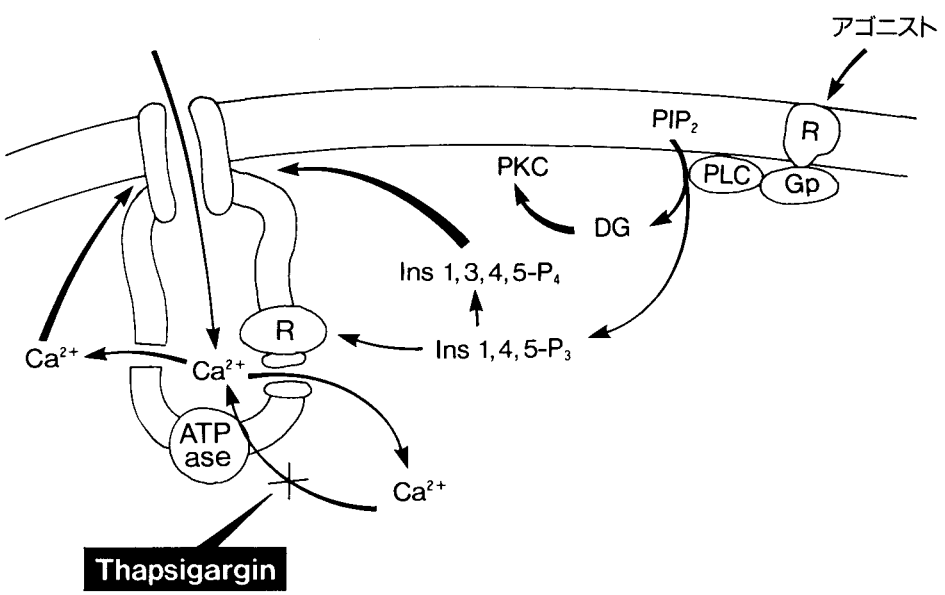
Wako

カルシウムイオンの貯蔵機構の解明に！

Thapsigargin 生化学用

セリ科の植物Thapsia garganicaより抽出

- 小胞体にあるCa^{2+}-ATPaseを阻害し、細胞内プールへのCa^{2+}の取り込みを抑制



関連試薬 **Thapsigargicin**

201-11901	Thapsigargin	生化学用	1mg
208-11891	Thapsigargicin	生化学用	1mg

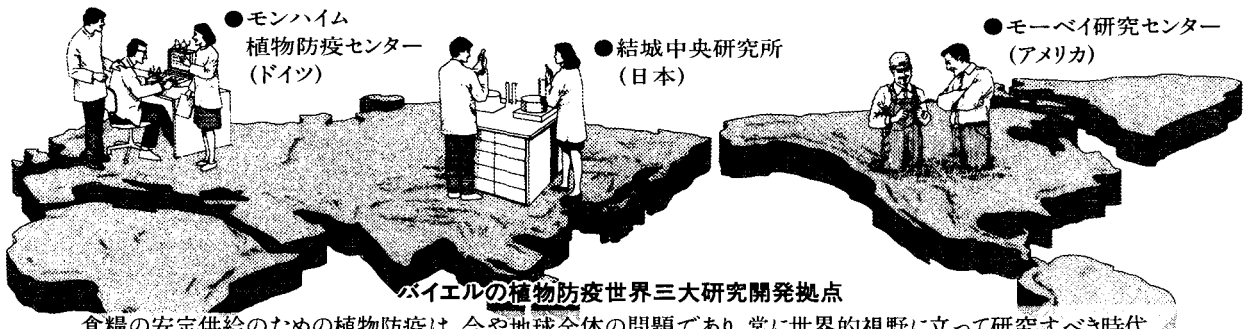
＊資料をご請求下さい。

和光純薬工業株式会社

本　　社　大阪市中央区道修町三丁目1番2号
〒541　電話 大阪(06)203-3741(代表)
東京支店　東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号
〒103　電話 東京(03)3270-8571(代表)
出 張 所　福岡・広島・名古屋・横浜・大宮・筑波・仙台・札幌

自然の恵みをより豊かにするために。

「確かさ」を追求…バイエルの農薬



バイエルの植物防疫世界三大研究開発拠点

食糧の安定供給のための植物防疫は、今や地球全体の問題であり、常に世界的視野に立って研究すべき時代。
当社は、ドイツのバイエル、アメリカのモーベイとともに世界におけるバイエルの三大研究開発拠点の
一つとして、ますます重要な役割を担っています。

●初・中期一発処理除草剤

®ザーク粒剤 ZARK

Bayer BAYER

日本バイエルアグロケム株式会社

東京都中央区日本橋本町2−7−1 〒103

豊饒(ほうじょう)書館(しょかん)

東京・板橋・東山町52〜1
TEL 03-3972-4843

講座・現代植物学

生物進化の分子的基礎

化学分類学

桃谷好英 著　　A5判・265頁　価 3,300円

生物体の分子的組み立てられ方については、歴史的な由来を担っている。進化の動力学を自然選択・適応・隔離のような外部的な面と、生体構成物質の性質にもとずく内部的な面との両面から論述。

講座・現代植物学

シダ植物の胞子

三井邦男 著　　A5判・210頁　価 2,060円

シダ植物の各属・各科の胞子の特徴をまとめている。

シダ類の生殖

益山樹生 著　　A5判・200頁　価 2,060円

特に同形胞子シダ類の受精様式を遺伝学的視点から論述。

日本産 蘚類の検索

関根雄次 著　　A5判・320頁　価 3,090円

蘚類の分類を属分類の検索表により、つぎに各属ごとにあげてある種検索表により検索分類。各種ごとの参考文献は研究者に至便。

世界を駆けるサカタの優良種子は最新のバイオ技術から生まれます

よいタネにまごころこめて80年

80 サカタのタネ

サカタは従来の交配育種法と最新のバイオテクノロジーをドッキング，新品種，ニュータイプの育成に努めています．

また，植物生理を踏まえて，より優れた発芽率，発芽勢を備えた〝プライミング種子〟を，ほうれんそう，パンジーをはじめとする各種の野菜や花で実用化し，生産者から大そう喜ばれています．

本　社：〒232 横浜市南区永田東3-1-7
TEL（045）715−2111（代）

株式会社 サカタのタネ

情報処理印刷

ワープロ・データベース　フロッピー・磁気テープが印刷へ直結

中西印刷株式会社

取締役社長 中西　亮

京都本社 602 京都市上京区下立売通小川東入ル
tel.075-441-3155　fax.075-441-3159
東京連絡所 113 東京都文京区本郷一丁目21−5
tel.東京03−3815−7465

日本植物生理学会 1993 年度年会

お よ び

第 33 回 シ ン ポ ジ ウ ム

シンポジウム

I. 植物細胞における細胞骨格の構造と機能

II. 環境ストレスと光合成炭素代謝の制御

III. 形質転換系を用いた光合成研究

会期：1993 年 3 月 29 日（月）～ 3月 31 日（水）

会場：金沢大学 文・法・経・教育学部

（金沢市角間町）

日本植物生理学会

交通の御案内

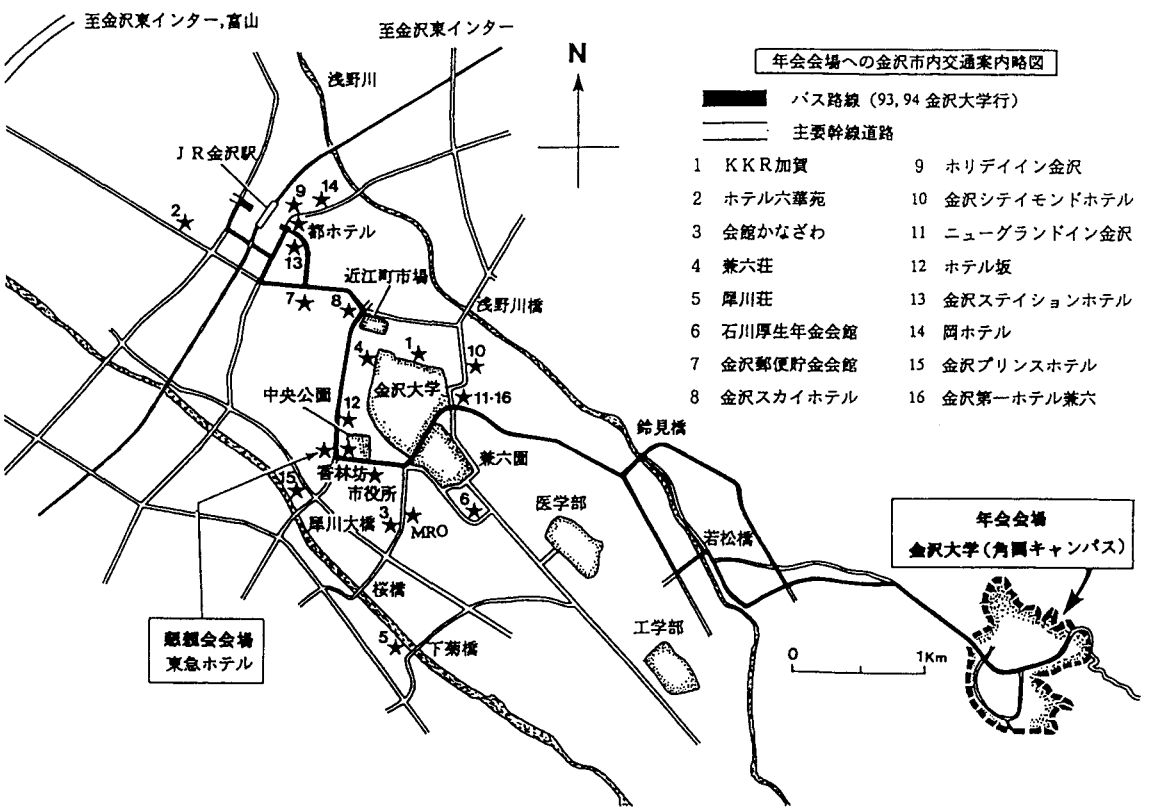
［**年会会場**］

年会会場となる金沢大学角間キャンパスはJR金沢駅から南東約7kmのところにあり、バス（北陸鉄道）で約40分です（略図参照）。　金沢大学（角間キャンパス）行バス（路線番号93または94）は金沢駅西口 6番乗り場から出発し、駅中央口（都ホテル前）→武蔵ヶ辻 →香林坊（広坂中央公園前）→ 兼六園下を経由して運行しています。　市内のたいていの場所に宿をとられても、そこからこの路線まで歩かれてバスを利用されるのが、便利と思われます。　料金は金沢駅より310円です。

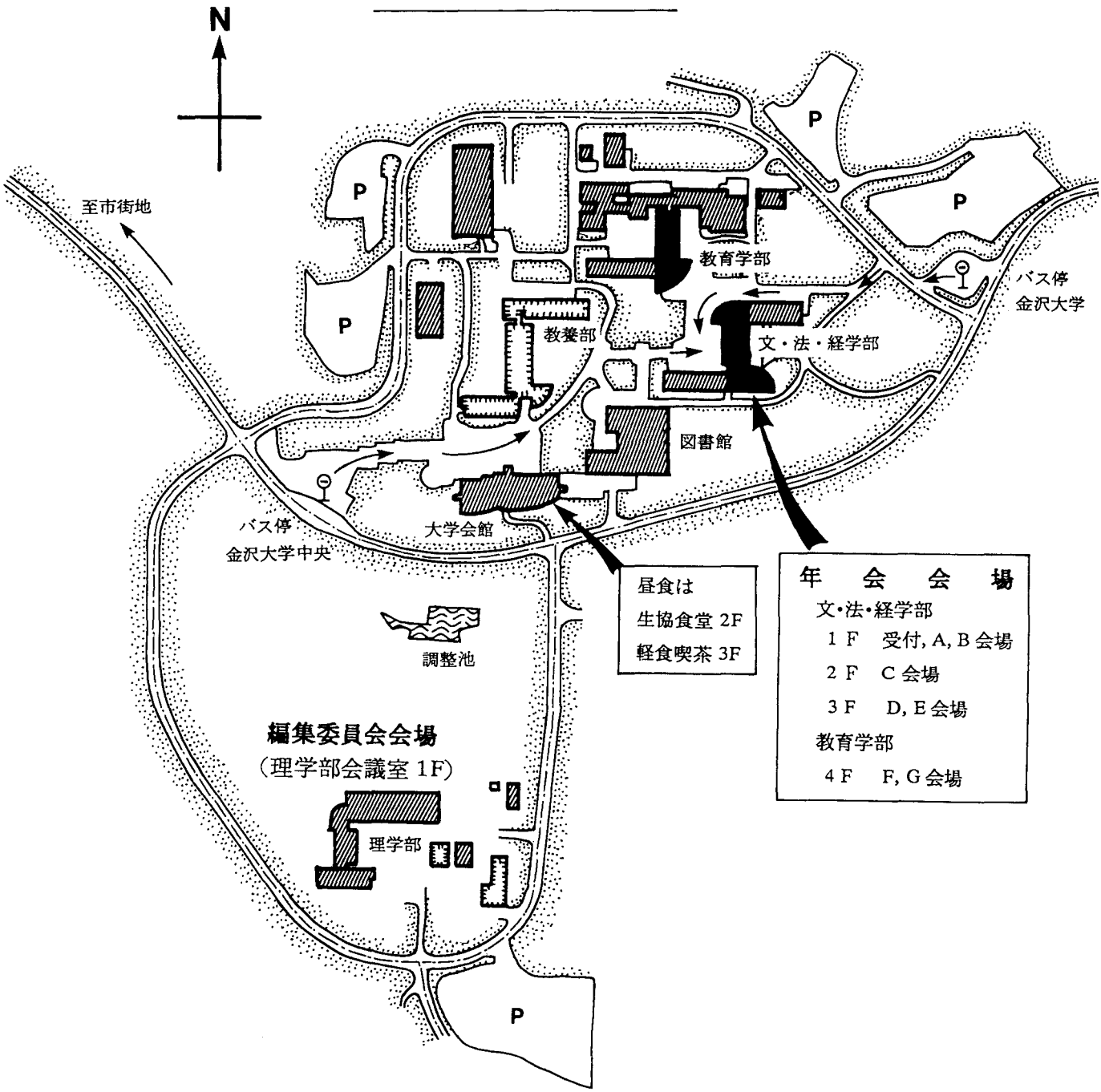
タクシー利用の場合、金沢駅から約2,150円、香林坊から約2,000円です。

［**懇親会会場**］

会場の金沢東急ホテルは、香林坊バス停留所（日銀前）のすぐ近くです。総会終了時に貸切バスを準備いたします。

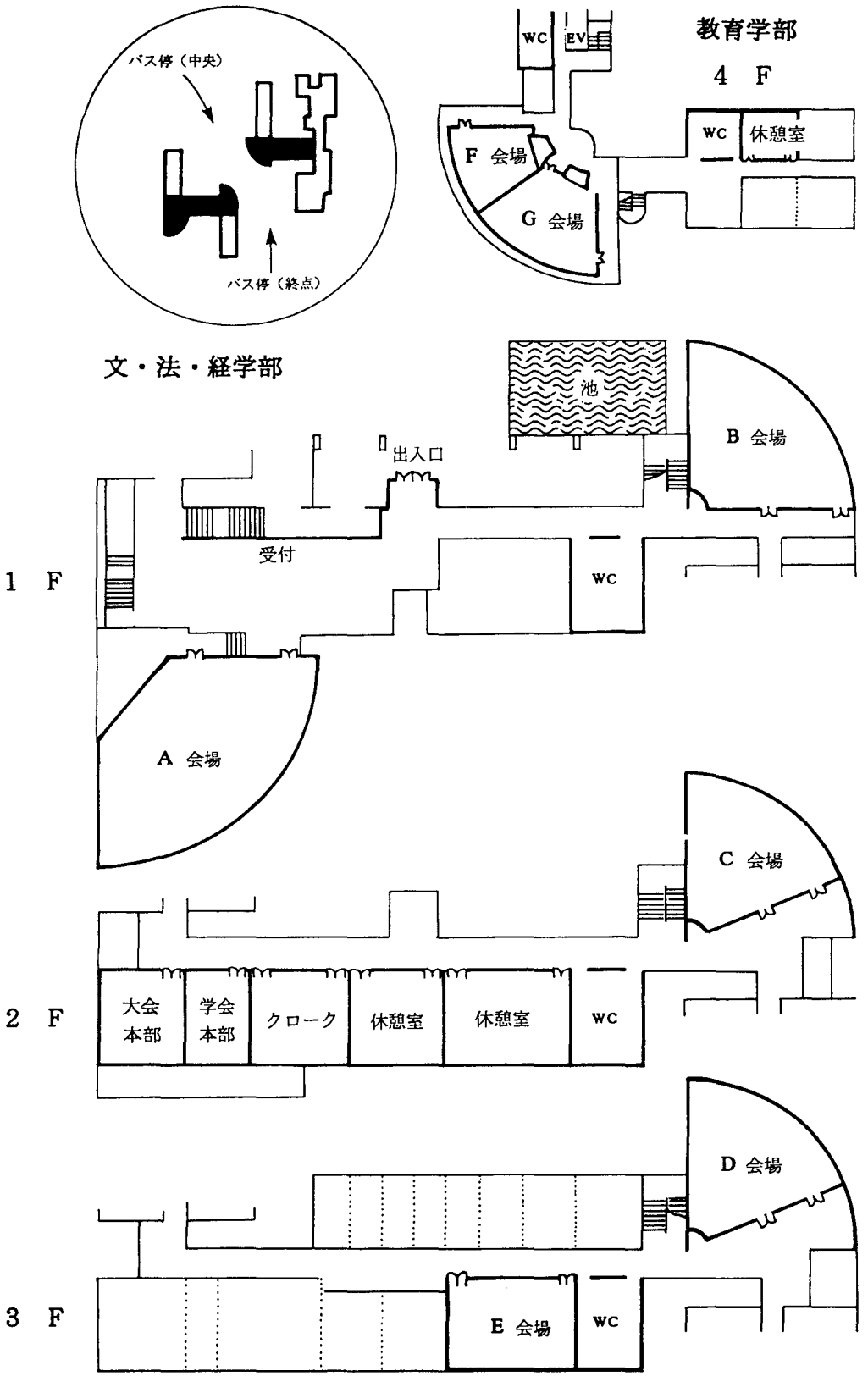


年 会 会 場 案 内


N
至市街地
P
P
P
P
教育学部
教養部
文・法・経学部
図書館
大学会館
バス停
金沢大学中央
バス停
金沢大学
調整池
編集委員会会場
(理学部会議室 1F)
理学部
P
昼食は
生協食堂 2F
軽食喫茶 3F
年 会 会 場
文・法・経学部
1 F 受付, A, B 会場
2 F C 会場
3 F D, E 会場
教育学部
4 F F, G 会場

会　場　配　置　図

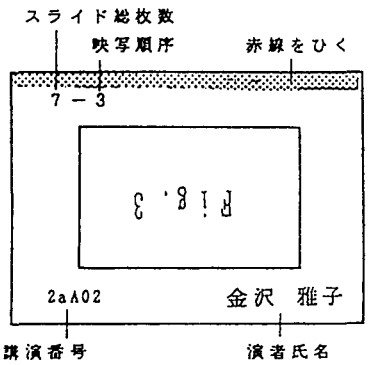
（文・法・経・教育学部　講義棟）



○　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 分前までにお渡し下さい。　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。図のように記号およ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、懇親会参加券をお受け取り下さい。
2. 会期中は会場内で名札の常時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. 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（文・法・経学部）２階にクロークを設置します。クロークの開設時間は次の通りです。

   第１日　　８時 30 分　～　１８時
   第２日　　８時 30 分　～　１８時
   第３日　　８時 30 分　～　１６時

   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いたします。
7. 駐車場は用意しません。
8. 昼食は大学会館内の生協の食堂（２Ｆ）・軽食喫茶（３Ｆ）をご利用下さい。
   弁当の販売コーナーも「受付」付近に設置致します。
9. 年会についてのお問い合わせは下記にお願いします。

年会準備委員会：〒920-11　金沢市角間町
金沢大学理学部生物学教室
電話　(0762)-64-5715（玉井）
64-5716（和田）
Fax　(0762)-64-5745
委員長　　和田敬四郎

○ 関連会議

常任評議委員会	3月28日（日） （会期前日）	16:00～17:00	ＫＫＲ加賀　会議室
評　議　員　会	3月28日（日） （会期前日）	17:30～21:00	ＫＫＲ加賀　会議室
編集実行委員会	3月28日（日） （会期前日）	16:00～17:00	ＫＫＲ加賀　小会議室
編　集　委　員　会	3月29日（月）	17:30～20:00	理学部　　会議室
総　　会	3月30日（火）	16:15～17:15	A会場

○ 懇親会

日時　　3月３０日（火）　１８：３０～２０：３０

場所　　金沢東急ホテル　(Tel　0762-31-2411)

○ 年会会期中の呼び出しについて

年会に参加されている方への外部からの連絡は、下記の電話でお願いします。
伝言は「受付」付近の連絡板に掲示することとし、講演会場での呼び出しは原則として行いません。

Tel　0762−24−8099

正　誤　表

プログラム　一般講演　3aF12　帳　平（誤）　→　張　平（正）

講演取り消し

一般講演番号　1pC06　を取り消します。
その後の講演はプログラムに従って進行します。

日　程　表

月日	会場	9:00 9:30		13:30	16:15	18:30
3月29日(月)	A	分子生物学（1）		シンポジウムI		
	B	分子生物学（2）		分子生物学（3）		
	C	ストレス（1）		ストレス（2）		
	D	光合成（1）		光合成（2）		
	E	代謝（1）		代謝（2）		
	F	オルガネラ（1）		オルガネラ(2)・細胞培養・細胞分化		
	G	植物・微生物相互作用		成長制御（1）		
3月30日(火)	A	シンポジウムII		分子生物学（5）	総会	東急懇親会ホテル
	B	分子生物学（4）		分子生物学（6）		
	C	ストレス（3）		ストレス（4）		
	D	光合成（3）		光合成(4)		
	E	光生物学(1)		光生物学（2）		
	F	形態形成		細胞骨格		
	G	細胞壁(1)		細胞壁(2)		
3月31日(水)	A	シンポジウムIII		分子生物学(8)		
	B	分子生物学（7）		分子生物学(9)		
	C	成長制御(2)・リズム				
	D	光合成（5）		電子伝達・呼吸		
	E	蛋白質・酵素(1)		蛋白質・酵素(2)		
	F	脂質・生体膜				
	G	イオン輸送・電気生理				
月日	会場	9:00		13:30		18:30

シンポジウム　I　　第1日　3月29日（月）午後　A会場

植物細胞における細胞骨格の構造と機能

オーガナイザー　柴岡　弘郎（大阪大・理・生物）
新免　輝男(姫路工大・理・生命)
長田　敏行（東京大・理・植物）

13:30　はじめに　柴岡　弘郎（大阪大・理・生物）

座　長　新免　輝男（姫路工大・理・生命）

13:40　S1pA1　M/G1期における微小管構造変化のダイナミックス
長田　敏行、馳沢　盛一郎（東京大・理・植物）

14:15　S1pA2　隔膜形成体の構造と機能
浅田　哲弘、園部　誠司、柴岡　弘郎(大阪大・理・生物)

14:50　S1pA3　分裂準備帯（Preprophase band）の構造と機能
峰雪　芳宣(広島大・理・植物)

座　長　長田　敏行(東京大・理・植物)

15:25　S1pA4　細胞壁構築における細胞骨格の役割
水田　俊、奥田　一雄(高知大・理・生物)

16:00　S1pA5　原形質流動の機構：モーター分子であるミオシンの単離と解析
横田　悦雄、河野　匡[1]、新免　輝男（姫路工大・理・生命、
[1]東京ガス・フロンティアテクノロジー研究所）

16:35　S1pA6　担子菌ヒトヨタケにおける細胞骨格の遺伝学的解析
鎌田　尭(岡山大・理・生物)

17:10　総合討論

シンポジウム　II　　第2日　3月30日（火）午前　　A会場

環境ストレスと光合成炭素代謝の制御

オーガナイザー　　金井　龍二(埼玉大・理・生化)

9:00　　はじめに　　金井　龍二（埼玉大・理・生化）

座　長　　金井　龍二（埼玉大・理・生化）

9:10　S2aA1　ラン藻のCO_2濃縮機構
小川　晃男（理研・太陽光科学）

9:40　S2aA2　C_3植物の窒素栄養に対する光合成の応答とその制御機構
牧野　周（東北大・農・応用生化）

10:10　討論

座　長　　杉山　達夫（名古屋大・農・生化学制御）

10:20　S2aA3　リン酸欠乏が光合成に及ぼす影響
臼田　秀明（帝京大・医・化）

10:50　S2aA4　Source-sinkアンバランスによる光合成炭素代謝の調節
沢田　信一（弘前大・理・生物）

11:20　討論

座　長　　臼田　秀明（帝京大・医・化）

11:30　S2aA5　水ストレス下における光合成
平沢　正、石原　邦(東京農工大・農)

12:00　S2aA6　光合成系の環境応答が適応的であるのはどういう場合か
ー生態学の立場からー
彦坂　幸毅、寺島　一郎、加藤　栄(東京大・理・植物)

12:30　総合討論　　座　長　　金井　龍二（埼玉大・理・生化）

シンポジウム　III　　第3日　3月31日（水）午前　A会場

形質転換系を用いた光合成研究

オーガナイザー　佐藤　公行　（岡山大・理・生物）
村田　紀夫　（基生研）

9:00　はじめに　村田　紀夫　（基生研）

座　長　佐藤　公行　（岡山大・理・生物）

9:10　S3aA1　ラン藻*Synechococcus* PCC 7942の硝酸同化とその調節機構
小俣　達男(名古屋大・農・農化)

9:45　S3aA2　活性酸素解毒系酵素を強化した形質転換植物の開発
田中　浄、青野　光子、久保　明弘、佐治　光、近藤　矩朗（国立環境研究所）

座　長　村田　紀夫　（基生研）

10:20　S3aA3　葉緑体形質転換法によるクラミドモナス光合成遺伝子の機能の解析
高橋　裕一郎(岡山大・自然科学研究科)

10:55　S3aA4　葉緑体局在型グルタミン合成酵素による光呼吸経路の調節と光障害の回避機構
竹葉　剛、木崎　暁子[1]（京都府立大・生活科学、[1]京都大・農）

11:30　S3aA5　トウモロコシC4型PEPカルボキシラーゼ遺伝子のタバコへの導入とその解析
土岐精一、小神浩幸、庄野真理子[1]、小池孝良[2]、柳沢修一[3]、泉井桂[4]、内宮博文[5]（北海道大・理・植物、[1]筑波大・生物、[2]森林総研・北海道支所、[3]大阪市大・理・生物、[4]京都大・農・応用植物、[5]東京大・応微研）

12:05　総合討論

第１日　３月29日（月）［午前の部］

A会場　分子生物学（１）

9:30　1aA01　毛根誘発菌 *Agrobacterium rhizogenes* の VirA, VirG タンパク質によるシグナル伝達と転写誘導機構
遠藤英樹、青山卓史、岡穆宏(京都大・化学研究所)

9:45　1aA02　タバコ培養細胞における防御遺伝子の発現制御機構
鈴木肇、福田裕二、進士秀明(工技院・生命工学研・植物分子生物)

10:00　1aA03　Isolation of *Arabidopsis* mutants that are deficient in phytochrome A
長谷あきら、J.W.Reed[1]、J.Chory[1](理研・国際フロンテイア、[1]The Salk Inst.)

10:15　1aA04　Phytochrome responses of *Arabidopsis* mutants that are deficient in phytochrome A
長谷あきら、J.W.Reed[1]、J.Chory[1](理研・国際フロンテイア、[1]The Salk Inst.)

10:30　1aA05　フィトクロムBによるアラビドプシス種子の暗発芽の制御
篠村知子、長谷あきら[1]、J.Chory[2]、古谷雅樹(日立・基礎研、[1]理研・フロンテイア、[2]The Salk Inst.)

10:45　1aA06　ニチニチソウ同調培養系における植物サイクリン遺伝子の細胞周期特異的発現
伊藤正樹[1]、大野剛義、坂部みどり、木下和久、畑信吾[2]、河内宏[2]、橋本純治[2]、駒嶺穆(東北大・理・生物、[1]名大・農・生化学制御、[2]農水省・生物研)

11:00　1aA07　タバコのサイクリンcDNAの単離
関根政実、播口徳充、河内宏[1]、新名淳彦(阪大・工・応用生物、[1]農水省・生物資源研)

11:15　1aA08　カゼインキナーゼII(CK-II)によってリン酸化される葉緑体DNA結合性polypeptide (p34)の生化学的特徴
金勝一樹、道家建二郎、大槻健蔵[1](北里大・教養・生物、[1]衛生・遺伝生化)

11:30　1aA09　細胞増殖に関与するシロイヌナズナMAP kinaseの生化学的解析
溝口剛[1,2]、後藤由季子[3]、西田栄介[3]、篠崎和子[1]、岩崎俊介[1]、林田信明[1]、鎌田博[2]、篠崎一雄[1]([1]理研・植物分子、[2]筑波大・生物、[3]東大・生化)

11:45　1aA10　植物の細胞増殖を制御する遺伝子の分離の試みー酵母変異株を用いてー
宇佐美昭二、小島晶子、町田泰則(名大・理・生物)

12:00　1aA11　シロイヌナズナ低分子量GTP結合タンパク質遺伝子のトランスジェニックタバコを用いた解析
穴井豊昭、藤井伸治[1]、E.T.Aspuria[1]、松井南[2]、野村信夫[2]、石崎良太郎[2]、内宮博文[1](北大・理・植物、[1]東大・応微研、[2]日医大・老研)

12:15　1aA12　リガンドとの親和力を利用した単量体GTP結合蛋白質のExpression cloning法
永野幸生、松野隆一、佐々木幸子(京大・農・食品工学)

B会場　分子生物学（２）

9:30　1aB01　酵母 *Saccharomyces exiguus* の宿主-ベクター系
久冨泰資、畔柳聡、和田裕、森脇奈樹、壷井基夫(福山大・工・生物工)

9:45　1aB02　Automatic Subcloning による Ti-プラスミド自動変換ラムダファージベクターの開発
布施拓市、児玉浩明、射場厚、西村光雄(九州大・理・生物)

10:00　1aB03　RFLPマップに基いたシロイヌナズナ葉緑体脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のクローニング
射場厚、西内巧、布施拓市、西村光雄、Sue Gibson[1]、Chris Somerville[1](九州大・理・生物、[1]ミシガン州立大)

10:15　1aB04　溶原性ファージの特性を利用した根粒菌の遺伝子ベクターの開発
内海俊樹、東四郎、阿部美紀子(鹿児島大・理・生物)

10:30　1aB05　高発現プロモーターを利用した外来遺伝子の発現
大島正弘、宇垣正志、村上高、光原一朗、西宮聡、広近洋彦、後藤洋子、岡本雅次[1]、名取俊二[2]、中村茂雄[3]、本蔵良三[3]、大橋祐子(農水省・農業生物資源研、[1]東亜合成、[2]東大・薬、[3]宮城県農業センター)

10:45　1aB06　タバコ培養細胞BY-2核抽出液による無細胞転写系の開発
山口雄記、武田穣、今関英雅、山崎健一(名古屋大・農・生化学制御)

11:00　1aB07　パーテイクルガン法により得られた花粉由来のトランスジェニックハプロイド植物の解析
西原昌宏、京正晴[1]、森川弘道(広島大・理,[1]香川大・農)

第１日　３月 29 日（月）［午前の部］

11:15　1aB08　パーテイクルガン法による遺伝子導入・発現における金粒子サイズの効果
服部悦子、山下稔哉、森川弘道(広島大・理)

11:30　1aB09　エレクトロポレーション法によるユリ花粉プロトプラストへの遺伝子導入
三好英明、今村順[1]、田中一朗(横浜市大・文理・生物、[1]植工研)

11:45　1aB10　管状要素分化解析のためのヒャクニチソウ遺伝子導入系の開発
立石佳之、佐藤勉、福田裕穂(東北大・理・生物)

12:00　1aB11　簡易調製 DNA を用いた *Agrobacterium* 形質転換植物体 T-DNA の PCR 迅速検出法
堀池 剛、黒柳正典、上野明、丹羽康夫[1]、小林裕和[1](静岡県大・薬、[1]静岡県大・食品栄養科学)

C会場　ストレス　（1）

9:30　1aC01　鉄欠乏大麦根におけるムギネ酸生合成経路の研究 1: ニコチアナミン合成酵素の性質
樋口恭子、西澤直子、茅野充男、森敏(東京大・農・農化)

9:45　1aC02　鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路の研究 2: ニコチアナミン脱アミノ酵素の性質
金澤健二、大畑智子、三橋秀一、伏谷真二[1]、西澤直子、茅野充男、森敏(東京大・農・農化、[1]東北大・薬)

10:00　1aC03　鉄欠乏オオムギ根で発現する遺伝子 *Ids1* ～ *Ids4*
中西啓仁、奥村奈巳、梅原洋佐、N. von Wirén[1]、西澤直子、茅野充男、森敏(東京大・農・農化、[1]Univ. Hohenheim)

10:15　1aC04　アルファルファ培養細胞のアルミニウムストレスに対する応答
秋山典昭、杉信賢一、川崎信二[1]、斎藤祐二(農水省・草地試、[1]農水省・生物研)

10:30　1aC05　タバコ培養細胞におけるアルミニウムと鉄による増殖阻害への相乗効果
小野寛治、山本洋子、松本英明(岡山大・資生研)

10:45　1aC06　タバコ培養細胞におけるリン酸欠乏ストレスおよび酸性ストレスに伴うアルミニウム耐性について
山本洋子、力石早苗、松本英明(岡山大・資生研)

11:00　1aC07　タバコ培養細胞においてアルミニウムストレスにより誘導されるタンパク質
豆塚弘毅、山本洋子、江崎文一、松本英明(岡山大・資生研)

11:15　1aC08　アルミニウム処理による大麦根液胞膜プロトンポンプの活性化
葛西身延、山本洋子、松本英明、前島正義[1](岡山大・資生研、[1]北海道大・低温科学研)

11:30　1aC09　塩ストレスによるオオムギ液胞膜プロトン輸送系の発現
田中喜之、千葉一弘[1]、前田美紀、前島正義[2](農水省・生物研、[1]農工大、[2]北大・低温研)

11:45　1aC10　オカヒジキ液胞膜の Na^+/H^+ アンチポート活性
小池説夫、前田美紀、田中喜之(農水省・生物研)

D会場　光合成（1）

9:30　1aD01　光化学系Ⅰのサブユニットをコードする Psa F 遺伝子のクローニングとその発現
日比野隆、田中義人、沼田有子、高倍昭洋(名城大・理工・化)

9:45　1aD02　ランソウ *Synechocystis* sp PCC 6803, 好熱性ランソウ *Synechococcus vulcanus* のフェレドキシン、および PsaL サブユニットのアミノ酸配列の決定
鈴木一矢、檜山哲夫（埼玉大・理・生化）

10:00　1aD03　好熱性藍藻 *Synechococcus vulcanus* の *psaD* 遺伝子の解析
須江七丈、古木正人、清水徳朗、檜山哲夫、井上頼直[1]（埼玉大・理・生化、[1]理研・太陽光科学）

10:15　1aD04　好熱性ランソウ光化学系Ⅰ関連遺伝子の単離
仲本準、檜山哲夫(埼玉大・理・生化)

10:30　1aD05　紅色光合成細菌 *Rhodocyclus gelatinosus* の光合成タンパク遺伝子群 (*puf* オペロン) の一次構造の決定
永島賢治、松浦克美、嶋田敬三(都立大・理・生物)

10:45　1aD06　*Chloroflexus* 属の新種と判断される新単離株の系統的解析
花田 智、平石 明[1]、嶋田敬三、松浦克美(都立大・理・生物、[1]コニシ環境バイオ研)

第1日　3月29日（月）［午前の部］

11:00　1aD07　緑色硫黄光合成細菌 *Chlorobium tepidum* 反応中心粒子の精製
楠元範明、井上和仁[1]、那須英和、桜井英博（早稲田大・教育・生物、[1]神奈川大・理・応用生物）

11:15　1aD08　緑色硫黄細菌 *Chlorobium tepidum* の光化学系複合体ペプチド
那須英和、楠元範明、吉田豊、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）

11:30　1aD09　緑色イオウ細菌 *Chlorobium tepidum* の c型チトクロムの性質と光合成電子伝達系における役割
奥村信巌、嶋田敬三、松浦克美（都立大・理・生物）

11:45　1aD10　緑色光合成細菌のクロロソーム様再構成色素集合体の77K蛍光スペクトル
広田雅光、辻公博、嶋田敬三、松浦克美（都立大・理・生物）

12:00　1aD11　光合成バクテリアの光反応中心に結合したカロテノイドのT1ラマンスペクトル
大橋直人、小山 泰（関西学院大・理・化学）

12:15　1aD12　紅色光合成細菌の光捕集複合体LH1におけるカロチノイドの置換・再構成
嶋田敬三、三室 守[1]（都立大・理・生物、[1]基生研）

E会場　代謝（1）

9:30　1aE01　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 における光合成細菌 *Chromatium vinosum* の RuBisCO 遺伝子の発現と本来の RuBisCO 遺伝子の除去
和田野晃、香田祐美子、小林裕和[1]（大阪府大・農化、[1]静岡県立大・食栄）

9:45　1aE02　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 における Phosphoribulokinase の活性制御様式について
平橋智裕、和田野晃（大阪府大・農・農化）

10:00　1aE03　藻類におけるH_2O_2耐性機構の存在
武田徹、石川孝博、重岡成、横田明穂[1]、平山修（近畿大・農・食栄、[1]大阪府大・農・農化）

10:15　1aE04　RuBisCO の履歴現象ならびに活性調節部位の進化
渡海寛、榎本幸人[1]、濱田仁[2]、藤原祥子[3]、横田明穂（大阪府大・農・農化、[1]神戸大・理・臨海実験所、[2]富山医薬大・医、[3]工技院・微工研）

10:30　1aE05　*Chromatium* RuBisCO への履歴現象誘発部位の導入
樋口隆司、小林裕和[1]、横田明穂（大阪府立大・農・農化、[1]静岡県立大・食品栄養・植物細胞工学）

10:45　1aE06　RuBP吸光度変化を利用した RuBisCO 活性の連続測定
村山寛、和田野晃、横田明穂（大阪府大・農・農化）

11:00　1aE07　Activation mechanism of ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase by inorganic phosphate
Md. Anwaruzzaman, Shinichi Sawada[1], Hideaki Usuda[2], Akiho Yokota (Dept. Agric. Chem., Univ. Osaka Pref., [1]Dept. Biol., Hirosaki Univ., [2]Lab. Chem., Fac. Med., Teikyo Univ.)

11:15　1aE08　RuBisCO relative specificity 簡易決定法
横田明穂、Martin A. Parry[1]（大阪府大・農化、[1]Rothamsted Exp. Stat.）

11:30　1aE09　ジャスモン酸に応答する大豆リポキシゲナーゼL-4は葉の貯蔵タンパク質vsp94のメンバーである
加藤友彦、柴田大輔（三井植物バイオ研）

11:45　1aE10　ジャスモン酸に応答する大豆リポキシゲナーゼL-4の精製とその基質特異性
岩本博行[1]、加藤友彦、柴田大輔（[1]福山大・工・食品工、三井植物バイオ研）

12:00　1aE11　病害抵抗性反応を示すイネ葉で特異的に発現するリポキシゲナーゼがジャスモン酸生合成に関わっている可能性について
白野由美子、彭友良、柴田大輔（三井植物バイオ研）

F会場　オルガネラ（1）

9:30　1aF01　細胞質遺伝に関与する超微量オルガネラDNAの蛍光顕微鏡と電子顕微鏡による同時観察へのテクノビット包埋法の応用
黒岩常祥、藤江誠、内田英伸、黒岩晴子[1]（東大・理・植物、[1]共立女子短大・生物）

9:45　1aF02　シロイヌナズナの普通葉の発生過程におけるオルガネラDNA合成のBrdU法による解析
藤江誠、河野重行、黒岩晴子[1]、黒岩常祥（東大・理・植物、[1]共立女子短大・生物）

第1日　3月29日（月）［午前の部］

10:00　1aF03　タバコ培養細胞BY-2におけるアミロプラスト形成の誘導過程
酒井敦、河野重行、黒岩常祥（東大・理・植物）

10:15　1aF04　原始紅藻 *Cyanidium caldarium* RK-1株の色素体ゲノムの解析
太田にじ、河野重行、黒岩常祥（東大・理・植物）

10:30　1aF05　ミトコンドリア融合を誘起するプラスミドの持つ全遺伝子群
高野博嘉、森君江、河野重行、黒岩常祥（東大・理・植物）

10:45　1aF06　オオムギ葉緑体リボソームタンパク質の分析
牧泰史、田中歩、和田明[1]、辻英夫（京都大・理・植物、[1]京都大・理・物理）

11:00　1aF07　イネvirescent突然変異株における葉緑体tRNA^{Glu}遺伝子発現の温度依存性
楠見健介、射場厚、川畑俊一郎、西村光雄（九大・理・生物）

11:15　1aF08　*Euglena*の葉緑体形成過程におけるLHCPIIの葉緑体内での転移：ストレプトマイシンの効果
長舩哲齊、J.A.Schiff[1]、長谷栄二[2]（東京医大・微生物、[1]ブランダイス大・光生物、[2]帝京大・医・化）

11:30　1aF09　光化学系II 23-kDaタンパク質のストロマにおけるプロセシング部位の決定
小西智一、丸田嘉幸、篠原健司[1]、渡辺昭（名大・農・生化学制御、[1]農水省・森林総研）

11:45　1aF10　葉緑体に輸送されたフェレドキシンNADP$^+$還元酵素（FNR）と70kD熱ショック蛋白質（Hsp70）、及びシャペロニン60（Cpn60）との相互作用
槻木竜二、西村幹夫（基生研・細胞生物、総合研究大学院大・生命科学）

12:00　1aF11　発芽カボチャ子葉のチオラーゼcDNAクローニングとその構造解析
加藤　朗[1,2]、林誠[1]、森仁志[1]、西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物、[2]総合研究大学院・生命科学）

12:15　1aF12　形質転換イネ培養細胞で機能するタンパク質の液胞輸送シグナルの解析
岩崎行玄[1]、松岡健[2]、島本功[3]、旭正、中村研三[2]（[1]福井県立大・生物資源、[2]名古屋大・農・生化、[3]植物工学研究所）

G会場　植物・微生物相互作用

9:30　1aG01　クロレラウイルス粒子に存在するDNA結合蛋白質の解析
古川誠治、山田隆(広島大・工・醗酵)

9:45　1aG02　ウイルスCVK2が感染したクロレラにおける，ウイルス蛋白伸張因子EF-3様遺伝子の発現
福田崇雄、田村耕一郎、山田隆（広島大・工・醗酵）

10:00　1aG03　*Agrobacterium tumefaciens* の新染色体病原性遺伝子の分離と構造
姜熙玩、Wirawan I. Gede Putu、小島峯雄(名大・農・生化学制御)

10:15　1aG04　非マメ科植物-アベナ分泌物による根粒形成遺伝子(nod)の活性化
手呂内伸之、庄野邦彦[1](大妻女子大・一般・生物、[1]東京大・教養・基礎科学)

10:30　1aG05　*Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*の根粒形成遺伝子を移入した*Agrobacterium tumefaciens* の特性
森清一郎、東四郎、内海俊樹、阿部美紀子(鹿児島大・理・生物)

10:45　1aG06　エンドウNod$^+$Fix$^-$突然変異体に形成される根粒の特性
玉置雅紀、高木正伸、菅沼教生(愛知教育大・生命科学)

11:00　1aG07　病原菌シグナルによるエンドウ防御反応の制御(5)：ポリフォスフォイノシチド代謝系と原形質膜ATPase間の相互制御について
日野勲、豊田和弘、山田哲治、奥八郎、白石友紀(岡山大・農)

11:15　1aG08　エンドウ褐紋病菌サプレッサーおよびそのペプチド部分のエンドウ原形質膜ATPase活性に対する阻害効果
加藤敏朗[1,2]、豊田和弘[1]、齋藤公児[2]、田原誠[2]、白石友紀[1]、山田哲治[1]、奥八郎[1]([1]岡山大・農・植病、[2]新日鐵(株)・先端技術研)

11:30　1aG09　イネ培養細胞のミクロゾーム膜画分にはキチン由来のエリシターに対する高親和性結合部位が存在する
渋谷直人、賀来華江、朽津和幸、Maliarik, Mary J.[1](農水省・生物研、[1]ミシガン大・医)

11:45　1aG10　イネ培養細胞において糖質エリシター処理時初期に活性化される遺伝子
南栄一、朽津和幸[1]、渋谷直人[1]、河内宏[1]、大槻義昭[2](農水省・農環研、[1]生物研、[2]農研センター)

第１日　３月 29 日（月）　［午前の部］　［午後の部］

12:00　1aG11　イネ培養細胞の糖質性エリシターに対する初期応答反応と活性酸素の生成
　　朽津和幸、渋谷直人(農水省・生物研・細胞生理)
12:15　1aG12　ニンジン培養細胞の外部刺激伝達系でのサイクリック AMP の作用機構
　　黒崎文也、西荒介(富山医薬大・薬)

第１日　３月 29 日（月）　［午後の部］

B会場　分子生物学（３）

13:30　1pB01　ジャスモン酸メチルエステルによって誘導されるサツマイモのタンパク質
　　今西俊介、中村恭子、松岡健、中村研三（名大・農・生化）
13:45　1pB02　ジャスモン酸メチルエステルによるタバコ BY-2 細胞の遺伝子発現パターンの変動
　　橋爪克仁、石川敦司、中村研三（名大・農・生化）
14:00　1pB03　ジャガイモのカテプシンＤインヒビター遺伝子プロモーターのジャスモン酸誘導に関わる領域
　　石川敦司、中村研三（名大・農・生化）
14:15　1pB04　アラビドプシスβ-アミラーゼ遺伝子の糖による発現制御機構に関する遺伝学的解析
　　三田悟、福井美紀子、中村研三（名大・農・生化）
14:30　1pB05　ペチュニアのフラボノイド-3', 5'-水酸化酵素遺伝子のクローニング Ⅰ.：青色花弁特異的なチトクロム P450 遺伝子の同定
　　大林正也、嶋田幸久、中野律子、冲中泰、清川繁人、菊池泰弘（協和発酵・筑波研）
14:45　1pB06　ペチュニアのフラボノイド-3', 5'-水酸化酵素遺伝子のクローニング II.：全鎖長 cDNA のクローニングと植物での発現
　　嶋田幸久、大林正也、中野律子、冲中泰、清川繁人、菊池泰弘（協和発酵・筑波研）
15:00　1pB07　雌雄異株ヤナギ科植物にみられるヒト *SRY* に類似した DNA 塩基配列
　　篠原健司（森林総研）
15:15　1pB08　タバコ葉緑体リボソーム蛋白質 L3 遺伝子の構造および多型性の解析
　　田辺史生、横井史章、杉田護、杉浦昌弘（名古屋大・遺伝子実験施設）
15:30　1pB09　ラン藻の RNA 結合蛋白質
　　杉田護、杉浦昌弘（名古屋大・遺伝子実験施設）
15:45　1pB10　タバコの 22 kDa RNA 結合蛋白質の構造と核酸結合特異性
　　花野滋、叶麗珍、杉田護、杉浦昌弘（名古屋大・遺伝子実験施設）
16:00　1pB11　絞りアサガオの新転移因子 *Tpn1* の構造
　　星野敦[1]、稲垣善茂[1,2]、鈴木徹也[1]、久富恵世[1]、飯田滋[1]（[1]東理大・基礎工・生物工、[2]東大・薬）
16:15　1pB12　トウモロコシの転移因子 *Ds* のイネゲノム中への挿入と非正統的組換え
　　遠藤朋子、杉田耕一、橋本尚子[1]、伊藤紀美子[1]、中井浄、宮崎力、八重澤貴志、井澤毅[1]、島本功[1]、飯田滋（東京理科大・基礎工・生物工、[1]植工研）
16:30　1pB13　ミカヅキモの性フェロモン(PR-IP)の遺伝子発現制御
　　曽根裕、関本弘之、藤伊正（筑波大・生物科学）
16:45　1pB14　クラミドモナスの接合直後に発現される遺伝子群の解析
　　内田英伸、佐藤直樹[1]、河野重行、黒岩常祥（東大・理・植物、[1]東京学芸大・物質生命科学）
17:00　1pB15　クロレラウィルス dsDNA ゲノムの分子構造
　　山田隆（広島大・工・醗酵）
17:15　1pB16　大腸菌の嫌気性呼吸酵素系の誘導に関与する遺伝子
　　薮宏典、山本勇、佐藤敏生（広島大・理・植物）

C会場　ストレス（２）

13:30　1pC01　大気汚染障害に伴って発現する植物葉の脂質代謝変化の普遍性
　　榊剛、田中浄[1]、山田晃弘（北海道東海大・工・生物工、[1]国立環境研・生物）

第１日　３月 29 日（月）　［午後の部］

13:45　1pC02　亜硫酸の細胞透過性と光合成の光傷害
長谷川桂子、桜井英博（早稲田大・教育・生物）

14:00　1pC03　タバコ培養細胞における紫外線照射の影響について
今泉和光、米倉博子、小田茂（PL学園女子短大・植物研）

14:15　1pC04　重水素化によるクロレラ細胞蛋白質の熱安定性変化と機能変化
海野けい子、横柿修一、田井さおり、岡田昌二（静岡県大・薬・放射薬品）

14:30　1pC05　水分ストレスに伴うクロロフィル蛍光と炭酸同化作用の変化
野並浩、河内光博、福山寿雄、橋本康（愛媛大・農）

14:45　1pC06　アルファルファの水ストレス応答遺伝子群の解析
田辺史生、杉田護、Atanas Atanassov[1]、杉浦昌弘（名古屋大・遺伝子実験施設、[1]ブルガリア・遺伝工研）

15:00　1pC07　耐塩性四角豆培養細胞から特異的に分泌されるタンパク質について
江坂宗春、早川弘美、寺本貴則（広島大・生物生産）

15:15　1pC08　タバコオスモチン様タンパク質の諸性質の解析
小岩尚志、佐藤文彦、山田康之（京都大・農・農化）

15:30　1pC09　シチメンソウの耐塩性機構について
横石孝治、谷本静史（佐賀大・農）

15:45　1pC10　単細胞藻 *Boekelovia hooglandii* の塩環境下における成長と浸透圧調節
藤井修平、Johan A.Hellebust[1]（帝塚山短大・食品、[1]トロント大・植物）

16:00　1pC11　塩ストレス下での生育した小麦と *Mesembryanthemum crystallinum* 葉のピロリン５カルボン酸レダクターゼ
安藤俊哉、山本和生、真田幸香、和田敬四郎、玉井直人（金沢大・理・生物）

16:15　1pC12　浸透圧ストレスによる大麦ベタインアルデヒド脱水素酵素遺伝子の発現の制御
石谷学、高倍鉄子（名古屋大・農・生化学制御）

16:30　1pC13　Is betaine aldehyde dehydrogenase localized in plastids of barley root?
Poontariga Harinasut、石谷学、高倍鉄子（名古屋大・農・生化学制御）

16:45　1pC14　大腸菌由来ベタイン合成系遺伝子のラン藻への導入
野村美加、石谷学、Ashwani K. Rai[1]、高倍鉄子(名古屋大・農・生化学制御、[1]バナラス　ヒンドー大・植物)

17:00　1pC15　ベタイン合成系遺伝子のタバコへの導入
中村敏英、石谷学、高倍鉄子（名古屋大・農・生化学制御）

D会場　光合成（２）

13:30　1pD01　バクテリオクロロフィル a (BChl) の三重項励起 (T_1) 状態の溶媒効果とその機構
西澤榮一、Leenawaty Limantara、南城則行、長江裕芳[1]、小山泰（関西学院大・理・化学、[1]神戸市外大）

13:45　1pD02　The light-harvesting (LH-2) of *Rhodobacter sphaeroides* strain R-26.1: Isolation, purification and T_1-state resonance raman spectra
Leenawaty Limantara、Ei-ichi Nishizawa、Tomisaburo Kakuno[1] and Yasushi Koyama (Fac. Sci., Kwansei Gakuin Univ., [1] Inst. Protein Res., Osaka Univ.)

14:00　1pD03　クロロフィル b (Chl b) の NMR 分光法に於ける溶媒効果と中心金属 Mg の配位状態の研究
亀井信明、島村敏夫[1]、栗本宜孝[2]、古川憲治[2]、小山泰（関西学院大・理・化学、[1]松下テクノリサーチ、[2]コベルコ科研）

14:15　1pD04　NMR 分光法によるバクテリオクロロフィル *a* の溶媒効果と中心金属 Mg の配位状態の研究
古川憲治、栗本宣孝、Limantara Leenawaty[1]、小山泰[1]（コベルコ科研、[1]関西学院大・理・化学）

14:30　1pD05　*R. sphaeroides* 2.4.1. のアンテナ複合体に結合したスフェロイデンの蛍光とその励起スペクトル
三木陽介、亀山忠幸、九鬼導隆、小山泰、R.J.Cogdell[1]、渡辺泰堂（関西学院大・理、[1]グラスゴー大・植物）

14:45　1pD06　カロテノイドの 2^1Ag^- 状態での振電相互作用のメカニズム
九鬼導隆、長江裕芳[1]、R.J. Cogdell [2]、小山泰（関西学院大・理、[1]神戸市外大、[2]グラスゴー大・植物）

第1日　3月29日（月）　［午後の部］

15:00　1pD07　フコキサンチン−クロロフィルa/c蛋白複合体(FCPA)におけるフコキサンチンの周囲の環境
波多野由美、九鬼導隆、小山泰、加藤哲也[1]（関西学院大・理・化学、[1]京大・理・植物）

15:15　1pD08　カロテノイドの分子構造と分光特性 III
三室守、長嶋雲兵[1]、長岡伸一[2]、高市真一[3]（基生研、[1]お茶の水女子大、[2]愛媛大、[3]日本医大）

15:30　1pD09　光合成細菌 *Rhodopseudomonas acidophila* 7050色素蛋白複合体の色素組成とエネルギー伝達効率に対する培養光強度の影響
高市真一[1,2]、A.T.Gardiner[2]、三室守[3]、R.J. Cogdell[2]（[1]日本医大・生物、[2]Glasgow大・植物、[3]基生研）

15:45　1pD10　メタノール資化性・好気性光合成細菌 *Pseudomonas radiora* のカロテノイド酸の存在状態
斉藤智、高市真一[1]、嶋田敬三[2]、西村行正（東京理科大・応用生物、[1]日本医大・生物、[2]都立大・生物）

16:00　1pD11　液体ヘリウム温度における光合成器官からの熱発光
野口巧、井上頼直、園池公毅[1]（理研・太陽光科学、[1]東大・理・植物）

16:15　1pD12　キュウリの単離エチオプラストによるクロロフィライド *b* からクロロフィル *a* の合成
伊藤寿、田中義人[1]、田中歩、辻英夫（京大・理・植物、[1]名城大・理工・化学）

16:30　1pD13　シロザ成葉のクロロフィラーゼの精製とその性質: Con Aへの親和性と糖タンパクとしての可能性
北憲明、高宮建一郎、塩井祐三（東工大・生命理工）

16:45　1pD14　クロロフィル分解反応の阻害によるフェオフォルビドの蓄積
塩井祐三、高宮建一郎、下川敬之[1]（東工大・生命理工・生体機構、[1]宮崎大・農）

17:00　1pD15　マサキ斑入り葉における色素欠損機構の解析
増田建、C.Gamini Kannangara[1]、塩井祐三、高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構、[1]Carlsberg Lab.）

E会場　代謝（2）

13:30　1pE01　イネ葉緑体エンドペプチダーゼの精製
清田誠一郎、坂野勝啓（農水省・生物研）

13:45　1pE02　発達中のダイズ子葉におけるウリカーゼ遺伝子発現
高根健一、田中耕二、杉本昭夫、岡崎勝一郎、河内宏[1]、田島茂行（香川大・農・生物資源、[1]農水省・農業生物資源研）

14:00　1pE03　登熟ダイズ種子におけるアスパラギナーゼ活性と遊離アミノ酸量との関連性
増田亮一(農水省・食総研)

14:15　1pE04　チューリップリン片内貯蔵タンパク質の合成と分解
山崎拓也、志田由起子、五十嵐太郎、大山卓爾（新潟大・農・農化）

14:30　1pE05　乾燥種子における揮発性物質の生成と種子発芽力
張明、劉岩、篠原麻男[1]、江刺洋司（東北大・教養、[1]高砂香料総研）

14:45　1pE06　好冷菌 *Vibrio* sp. ABE-1 株の NH_4^+ 輸送系について
長雅子、高田泰弘、福永典之（北大・理・植物）

15:00　1pE07　*Heterosigma akashiwo* 同調培養における硝酸取り込みの周期的変動
宮城布明、藤伊正（筑波大・生物）

15:15　1pE08　好大気汚染物質植物の育成 (6)道路沿い野生植物および栽培植物からの"好NO_2候補植物"のスクリーニング
鎌田光宜、桧垣朝、濃野昌子、神幸夫、入船浩平、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）

15:30　1pE09　好NO_2木本植物のスクリーニング; 同化能力と樹種の特性
松井邦夫、桧垣朝[1]、木谷和重、森川弘道[1]（トヨタ自動車(株)、[1]広島大・理・植物）

15:45　1pE10　ダイズ根と根粒サイトゾルにおける硝酸還元酵素の性質
金山喜則、木村佳代（名古屋大・農・園芸）

16:00　1pE11　紅藻 *Porphyra yezoensis* の硝酸還元酵素に対するモノクローナル抗体
中村良子、佐治光[1]、近藤矩朗[1]、猪川倫好（筑波大・生物、[1]国立環境研）

16:15　1pE12　ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942 の *nirA* オペロンの発現におよぼすMSXの影響
鈴木石根、杉山達夫、小俣達男（名古屋大・農・農化）

第１日　３月 29 日（月）　［午後の部］

16:30　1pE13　ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942 の *nirA* オペロン上流域に位置する遺伝子の機能解析
堀江宣行、鈴木石根、杉山達夫、小俣達男（名古屋大・農・農化）

16:45　1pE14　ラン藻 *Synechocystis* PCC 6803 におけるグルタミン合成酵素の活性阻害物質
光部篤人、小俣達男、杉山達夫（名古屋大・農・農化）

17:00　1pE15　葉緑体局在型グルタミン合成酵素による光呼吸経路の調節機構
木崎暁子、竹葉剛[1]（京大・農生、[1]京府大・生科）

F会場　オルガネラ（２）・細胞培養・細胞分化

13:30　1pF01　カボチャ子葉のマイクロボディ機能変換過程におけるマイクロボディ膜タンパク質の変動
山口勝司、森仁志、西村幹夫（基生研・細胞生物）

13:45　1pF02　カボチャ登熟子葉の輸送ベシクルに存在するGTP結合タンパク質
嶋田知生[1,2]、西村いくこ[1]、西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物、[2]総合研究大学院大学・生命科学）

14:00　1pF03　液胞内におけるプロ型前駆体タンパク質のプロセシングの特異性
西村いくこ、西村幹夫（基生研・細胞生物）

14:15　1pF04　ヒマ種子の液胞プロセシング酵素の局在性と登熟および発芽時における変動
平岩呂子[1,2]、西村いくこ[1]、西村幹夫[1]（[1]基生研・細胞生物、[2]愛知教育大・教育）

14:30　1pF05　液胞形態形成に機能する酵母 *VAM* 遺伝子
和田洋（東大・教養・生物）

14:45　1pF06　自食作用不能変異株の単離とその解析
塚田美樹、大隅良典（東大・教養・生物）

15:00　1pF07　ニチニチソウ細胞の低細胞密度培養
坂野勝啓、矢崎芳明、清田誠一郎、沖原清司(農水省・生物研)

15:15　1pF08　タバコ培養細胞 BY-2 のミニプロトプラストの凍結保存
園部誠司、杉山純一、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

15:30　1pF09　タバコ培養細胞 BY-2 のミニプロトプラストの培養
杉山純一、園部誠司、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

15:45　1pF10　タバコと *Nicotiana benthamiana* の体細胞融合雑種のアブラムシ耐性と葉面樹脂成分
萩森学, 松井正春[1], 篠田徹郎[1], 松崎敏明[2], 篠崎靖宏[2], 原田晴康[3]（日本たばこ・植物開発研, [1]農水省・野菜茶試, [2]日本たばこ・たばこ中研、[3]日本たばこ・葉たばこ研）

16:00　1pF11　cyclic AMPによる *Micrasterias thomasiana* var. *notata* の接合子形成誘発の制御
今泉真知子（滋賀医大・生物）

16:15　1pF12　出芽酵母１倍体細胞における PPF 遺伝子産物の役割
頼藤徹也、大隅良典(東大・教養・生物)

16:30　1pF13　Viral H-*ras* protein inhibits plant cell differentiation
Kyu Chung Hur, Y. J. Chang, H.S. Koh, J.S. Lee[1] and H. Imaseki[2]（Dept. Biol., Ewha Univ., [1]Dept. Mol. Biol., Seoul Natl. Univ., [2]Res. Inst. Biochem. Regul., Nagoya Univ.）

16:45　1pF14　ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換過程における DNA 鎖切断の動態--アルカリ溶出法による解析--
杉山宗隆、庄司雄一[1]、駒嶺穆（東北大・理・生物、[1]東北電力・応技研）

17:00　1pF15　ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換におけるポリADP リボース合成の解析
庄司雄一、杉山宗隆[1]、駒嶺穆[1](東北電力・応技研、[1]東北大・理・生物)

G会場　成長制御（１）

13:30　1pG01　新規・アレロパシー物質レピジモイド
長谷川宏司、角田英男、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・化学）

13:45　1pG02　*Eurycles amboinensis* に含まれる新規植物生理活性物質
阿部知子、加藤登紀子[1]、菅原二三男、Made Sumatra[2]、吉田茂男（理研、[1]日本女子大、[2]BATAN）

14:00　1pG03　バレイショ葉および塊茎の傷害によるジャスモン酸の生成
幸田泰則、喜久田嘉郎（北大・農・植物）

第1日　3月29日（月）［午後の部］　第2日　3月30日（火）［午前の部］

14:15　1pG04　ジャスモン酸によるバレイショ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）

14:30　1pG05　サイトカイニンにより抑制される遺伝子CR 9とCR20の発現に関する解析
寺本陽彦、桃谷英樹[1]、竹葉剛[2]、辻英夫（京都大・理・植物、[1]基生研・発生生物、[2]京都府大・生活科学・応用生物）

14:45　1pG06　傷害カボチャ果実中果皮組織におけるエチレン生成酵素(EFE)の誘導及びその性質
兵藤宏、橋本智世、両角進吾、胡文忠[1]、田中邦明（静岡大・農・生物生産、[1]吉林農大・食品科学）

15:00　1pG07　メロン果実のACCオキシダーゼcDNAのクローニング
山本光章、藤波宏治、柳沢裕子、小倉長雄、中川弘毅、佐藤隆英（千葉大・園芸）

15:15　1pG08　カボチャにおけるACC合成酵素の発現に及ぼす植物ホルモンの影響
山岸なおみ、山崎健一、今関英雅(名古屋大・農・生化学制御)

15:30　1pG09　無菌的に培養したカボチャのインドールアセトアミド、インドールアセトニトリルの存在とアミドヒドロラーゼ活性
鶴崎健一、Ranganatha Rajagopal[1]、高橋真澄、桜井直樹、倉石晉（広島大・総科・自然環境、[1]Inst. Plant Biol., Royal Vet. & Agri. Univ.）

15:45　1pG10　クリカボチャ未熟種子からのカウレン合成酵素の精製
斎藤臣雄[2]、神谷勇治[1]、山根久和[2]、室伏旭[2]、桜井成[3]、高橋信孝[3]（[1]理研フロンティア、[2]東大・農化、[3]理研）

16:00　1pG11　ヤエベニシダレの枝の屈曲に及ぼすジベレリンの作用
中村輝子、早乙女真紀、石黒友紀子、伊藤玲子、日暮祥子、細野真由美、石井幸夫[1]（日本女子大・理、[1]森林総研・多摩）

16:15　1pG12　シロイヌナズナ種子の発芽におけるジベレリンと光の関係
趙毓橘、姜鳳中、神谷勇治（理研フロンティア）

16:30　1pG13　ジベレリンの茎の伸長促進作用における転写の関与
金田剛史、柿本辰男、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

16:45　1pG14　Site of action of the *Ls* gene
Stephen Swain[1,2]、Tamio Saito[1]、Jim B. Reid[2] and Yuji Kamiya[1]（[1]Frontier Research Program, RIKEN,[2]Univ. Tasmania）

第2日　3月30日（火）　［午前の部］

B会場　分子生物学（4）

9:00　2aB01　光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus fdxN* 上流のNifA結合部位は逆方向への転写を司る複数の *nif*-プロモーターに共有されている
佐伯和彦、藤原武志、松原央（阪大・理・生物）

9:15　2aB02　好熱性シネココッカスのアロフィコシアニンに関する研究　(1)　フィコビリゾームの構成とアロフィコシアニン遺伝子の解析
曽我麻美子、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）

9:30　2aB03　*Synechococcus* PCC 7942 フィコシアニン遺伝子族の光と窒素栄養の環境適応時における発現様式
澤木弘道、小俣達男、杉山達夫(名古屋大・農・農化)

9:45　2aB04　ワラビ *rbcL* 遺伝子の下流域の構造
江尻成美、増田恭次郎、菅井道三、島田浩章[1]、山田恭司（富山大・理・生物、[1]三井植物バイオ研）

10:00　2aB05　シダ植物における *chlL* 遺伝子の構造と発現
松田学、増田恭次郎、菅井道三、山本直樹[1]、山田恭司（富山大・理・生物、[1]農水省・森林総研）

10:15　2aB06　トウモロコシPEPC遺伝子結合タンパク質の単離と構造解析
嘉納ゆり子、松岡信[1]（農水省・果樹試、[1]農水省・生物研）

第２日　３月３０日（火）　［午前の部］

10:30　2aB07　C4光合成遺伝子の転写はC4植物に固有な遺伝子発現系により制御されているか
松岡信、経塚淳子[1]、島本功[1]、村上(嘉納)ゆり子[2]（農水省・生物研、[1]植工研、[2]果樹試）

10:45　2aB08　*Arabidopsis* における光合成遺伝子の組織特異的発現制御の分子機構
丹羽康夫、磯野協一、関原明[1]、森川弘道[1]、小林裕和（静岡県大・食品栄養科学、[1]広島大・理）

11:00　2aB09　自殺遺伝子 *adh* 形質転換 *Arabidopsis* を用いた光合成突然変異体選抜系の樹立
小林京子、丹羽康夫、勝村孝子、小林裕和（静岡県大・食品栄養科学）

11:15　2aB10　マツ *cab* 遺伝子の光非依存的、葉器官特異的発現の制御領域のGUS遺伝子による解析
山本直樹（森林総研）

11:30　2aB11　葉緑体 *psb*D/C 遺伝子クラスターからの光応答転写制御に関わる因子の部分精製
角山雄一、和田拓治、椎名隆、豊島喜則（京大大学院・人間・環境学）

11:45　2aB12　全寄生植物ネナシカズラ属に存在する色素体ゲノムの遺伝子構成
山田恭司、永井俊幸、増田恭次郎、菅井道三、古橋勝久[1]（富山大・理・生物、[1]新潟大・理・生物）

C会場　ストレス（３）

9:00　2aC01　ショ糖脂肪酸エステルが果実・野菜の低温感受性に及ぼす影響
山脇和樹、渡辺良、児下佳子、内藤圭子、邨田卓夫（静岡大・農・生物生産科学）

9:15　2aC02　低温により発生するダイズ種皮の褐色色素の分析
高橋良二、秋山高（北海道農業試験場）

9:30　2aC03　植物細胞の凍結による細胞質酸性化
吉田静夫（北大・低温研）

9:45　2aC04　ハードニングにより誘導されるクロレラ可溶性蛋白質の2D-HPLCによる分画
本城賢一、城斗志夫、吉元誠、波多野昌二（九州大・農・食化工）

10:00　2aC05　ハードニングにより誘導されるクロレラ遺伝子の解析
城斗志夫、船橋淳、佐野恵子、吉元誠、波多野昌二（九大・農・食化工）

10:15　2aC06　ホウレンソウの凍結耐性に関与する耐熱性COR (Cold-regulated) タンパク質
数岡徹、大江田憲治（住友化学・宝塚総研・生命工学研）

10:30　2aC07　植物細胞におけるペルオキシダーゼとＨＳＰに対する熱ストレスの影響
若松國光、平島恵美、片山洋子、高巣正子、安藤満[1]（福岡女子大・生物、[1]国立環境研）

10:45　2aC08　光合成細菌のペリプラズムに存在する熱ショックタンパク質
高山喜晴、山本勇、佐藤敏生（広島大・理・植物）

11:00　2aC09　ラン藻 *Synechococcus* PCC7002 の *groESL* 遺伝子の単離と解析
林秀則、村田紀夫（基生研）

11:15　2aC10　好熱性藍藻 *Synechococcus vulcanus* の２種類のシャペロニン
古木正人、須江七丈、清水徳朗、檜山哲夫、井上頼直[1]（埼玉大・理・生化、[1]理研・太陽光科学）

11:30　2aC11　ハス芽生えスーパーオキシドジスムターゼ・アイソザイムの酸素と光に対する応答
丑丸敬史、辻英夫（京都大・理・植物）

11:45　2aC12　スーパーオキシドディスムターゼ遺伝子の発現とストレス耐性
坂本敦、奥村剛一、野坂康人、横井裕美、田中國介（京府大・農・農化）

12:00　2aC13　フタバネゼニゴケ細胞 superoxide dismutase のオルガネライソ酵素の発現パターン
田中克幸、滝尾進、佐藤敏生（広島大・理・植物）

D会場　光合成（３）

9:00　2aD01　ユーグレナ葉緑体の光化学系II膜表在性30 kDaタンパク質のcDNAクローニングとタンパク質輸送過程の解析
重森康司、稲垣純子、森仁志[1]、西村幹夫[1]、山本泰（岡山大・理・生物、[1]基生研・細胞機構）

第２日　３月30日（火）　［午前の部］

9:15　2aD02　形質転換ラン藻 *Synechocystis* PCC 6803 の光化学系Ⅱ複合体のⅠタンパク質の検出とその遺伝子（*psbI*）のクローニング
池内昌彦、V.K. Shukla[1]、W.F.J. Vermaas[2]、H.B. Pakrasi[1]、井上頼直（理研・太陽光科学、[1]Washington Univ., Dep. Biol., [2]Arizona State Univ., Dep. Botany）

9:30　2aD03　クラミドモナス葉緑体遺伝子 *psbK* の特異的挿入失活
高橋裕一郎[1]、松本秀樹[2]、J.-D. Rochaix[3]（岡山大・[1]自然科学研究科、[2]理・生物、[3]ジュネーブ大）

9:45　2aD04　クラミドモナス葉緑体遺伝子 *psbA* の部位特異的形質転換
内海恵一郎、高橋裕一郎、佐藤公行（岡山大・理・生物）

10:00　2aD05　光化学系Ⅱ反応中心 D1 蛋白質前駆体の C- 末切断に関与する酵素の局在部位の解析
山本由弥子[1]、藤田修嗣[1]、稲垣言要[2]、佐藤公行[1,2]（[1]岡山大・理・生物、[2]基生研）

10:15　2aD06　D1 蛋白質前駆体プロセッシング酵素の基質認識部位の合成ペプチドを用いる解析
田口富美子[1]、山本由弥子[1]、佐藤公行[1,2]（[1]岡山大・理・生物、[2]基生研）

10:30　2aD07　光化学系Ⅱ D1 タンパク質の強光分解に対するプロテアーゼ阻害剤の効果
徳富光恵（農水省・生物資源研）

10:45　2aD08　葉緑体 Mn (II) 結合性タンパク質の構造と光・組織特異的発現
西尾浩一、田中隆行、西條由見子、杉浦美羽、高橋正昭（甲南大・理・生物）

11:00　2aD09　Mn－クラスターを含む光化学系Ⅱ標品の２次元結晶化
中里勝芳[1,2]、榎並勲[2]、沈建仁[1]、豊島近[3]、古野泰二[3]、雀部博之[3]、井上頼直[1]（[1]理研・太陽光科学、[2]東理大・理・教養、[3]理研・FRP）

11:15　2aD10　光化学系Ⅱ複合体結晶化の試み
沈建仁[1]、神山勉[2]、神谷信夫[3]、井上頼直[1]（理研・[1]太陽光科学・[2]生物物理・[3]結晶学）

11:30　2aD11　光合成系Ⅱの反応中心における $^3P_{680}$ の FT-IR スペクトル：クロロフィル二量体内での三重項状態平衡
野口巧、井上頼直、佐藤公行[1]（理研・太陽光科学、[1]岡山大・理・生物）

11:45　2aD12　PSII 第一キノン電子受容体ＱＡの機能発現における小蛋白質及び脂質の役割
北村晃司、豊島喜則（京大大学院・人間・環境学）

12:00　2aD13　光合成酸素発生反応中間状態にある Mn－クラスターのＸ線吸収端近傍スペクトル
小野高明、野口巧、井上頼直、楠正美[1]、松下正[2]、大柳宏之[3]（理研・太陽光科学、[1]明大・理工・物理、[2]高エネ研、[3]電総研）

12:15　2aD14　Low-pH 処理 PSII の酸素発生系の EPR と ENDOR
三野広幸、栗林秀人、河盛阿佐子、小野高明[1]、井上頼直[1]（関学大・理、[1]理研・太陽光エネルギー）

E会場　光生物学（１）

9:00　2aE01　エンドウフィトクロム中間体の蛍光スペクトル
井上康則[3]、三堀忍、新井剛史、風間圭子[1]、真鍋勝司[1]、浜口宏夫[2]（東理大・理工・応生、[1]横市大・文理・生物、[2]神奈川科技アカデミー、[3]新技・さきがけ21）

9:15　2aE02　エンドウ ras 関連遺伝子発現の光調節とフィトクロームの関与について
吉田和市、村井宣彦[1]、永野幸生[1]、松野隆一[1]、佐々木幸子[1]（京大・農生、[1]京大・食工）

9:30　2aE03　フィトクロムの信号伝達機構の遺伝学的解析：近赤外光下で伸長阻害反応を示さないシロイヌナズナ突然変異体の単離
倉田哲也、山本興太郎（北海道大・理・植物）

9:45　2aE04　西洋わさび毛状根からの光誘導不定芽分化におけるフィトクロムの関与
斎藤力、鎌田博、原田宏、渡辺正勝[1]、徳富哲[1]（筑波大・生物、[1]基生研）

10:00　2aE05　葉緑体の弱光定位運動の解析
董夏静、高木慎吾、永井玲子（大阪大・教養・生物）

10:15　2aE06　ホウライシダ原糸体細胞のフィトクロム依存葉緑体光定位運動は短時間の光照射でも誘導される
加川貴俊、門田明雄、和田正三（都立大・理・生物）

第２日　３月30日（火）　［午前の部］

10:30　2aE07　A possible involvement of gibberellins in the action of phytochrome-B: A study using the cucumber *lh* mutant
Enrique López-Juez, Masatomo Kobayashi[1], Yuji Kamiya, Richard E. Kendrick（Frontier Res. Prog., & [1]Plant Growth Reg., RIKEN）

10:45　2aE08　Differential effect of extracellular NO_3^- and Ca^{2+} on light- and hormone-induced germination of *Anemia phyllitidis* spores
C.J. Haas、Hisakazu Yamane[1], Yuji Kamiya, Akira Nagatani（Frontier Res. Prog., RIKEN, [1]Dept. Agric. Chem., Univ. Tokyo）

11:00　2aE09　Pfrとは異なる赤色光信号の蓄積ーホウキモロコシのアントシアニン形成の場合ー
七條千津子、橋本徹（神戸大・理・生物）

11:15　2aE10　黄化アラスカエンドウにおける *in vivo* 及び *in vitro* 光信号伝達の分子機構
蓮沼仰嗣、浜田徹、伊藤喜誠（横浜市大・木原生研）

11:30　2aE11　アカパンカビにおける青色光信号伝達の分子機構の解析
小田和司、蓮沼仰嗣（横浜市大・木原生研）

11:45　2aE12　青色光照射による気孔孔辺細胞プロトプラスト蛋白質のリン酸化
木下俊則、島崎研一郎[1]、西村光雄（九州大・理・生物、[1]九州大・教養・生物）

12:00　2aE13　青色光に依存する孔辺細胞プロトプラストからの H^+ 放出の各種薬物による阻害とフシコクシン添加による回復
島崎研一郎、木下俊則[1]、西村光雄[1]（九州大・教養・生物、[1]九州大・理・生物）

F会場　形態形成

9:00　2aF01　新しいニンジン不定胚形成系
大橋伸一、得字圭彦、増田宏志（帯広畜産大・生物資源化学）

9:15　2aF02　ニンジン不定胚形成の諸条件について
得字圭彦、大橋伸一、増田宏志（帯広畜産大・生物資源化学）

9:30　2aF03　トレニア茎切片からの不定芽分化における傷害の関与
下村尚生、谷本静史（佐賀大・農）

9:45　2aF04　ゼニゴケプロトプラスト由来単細胞からの高頻度再分化
加藤真司、菅原康剛（埼玉大・理・生体制御）

10:00　2aF05　ストレスによるニンジン不定胚誘導系におけるストレス誘導タンパク質の解析
立川佳伸、鎌田博、原田宏（筑波大・生物科学）

10:15　2aF06　シロイヌナズナ晩生突然変異の花芽形成におけるバーナリゼーションおよび近赤外光照射の効果
後藤伸治、唐沢佳子（宮城教育大・生物）

10:30　2aF07　花成誘導物質の検定法としてのアサガオ茎頂培養
石丸明恵、関口道、石田明子、竹能清俊（東北大・農・園芸）

10:45　2aF08　アサガオ子葉中の花芽形成促進物質の同定
中西史、楠見武徳[1]、藤伊正（筑波大・生物、[1]徳島大・薬学）

11:00　2aF09　植物葉の傷害時に生成する性質の異なる二種類の低分子性花成誘導物質
伴隆之、木戸毅[1]、木崎暁子[2]、田中修[3]、竹葉剛（京府大・生科、[1]近畿大・農化、[2]京大・農生、[3]甲南大・理）

11:15　2aF10　Lysineの花芽分化誘導活性
中山善雄、田中修[1]、竹葉剛[2]、杉野守（近畿大・農・植生、[1]甲南大・理・生物、[2]京府大・生科・応生）

11:30　2aF11　花成誘導タンパク質の短日処理アサガオ子葉中での変動
木戸毅、木崎暁子[1]、伴隆之[2]、田中修[3]、竹葉剛[2]（近畿大・農化、[1]京大・農生、[2]京府大・生科、[3]甲南大・理）

11:45　2aF12　アサガオの長日開花と糖含量
篠崎真輝（京大・農・応植）

12:00　2aF13　アサガオ頂芽のSーアデノシルメチオニンデカルボキシラーゼ活性の光誘導
島田敦子、平澤栄次（大阪市大・理・生物）

第２日　３月30日（火）　［午前の部］　［午後の部］

G会場　細胞壁（１）

9:00　2aG01　双子葉植物細胞壁中でのフェノール酸と多糖類の結合様式
　　石井忠、枝重有祐、掛川弘一、飛田哲也[1]（農水省・森林総研、[1]日本タバコ株）

9:15　2aG02　水ストレス条件下でのコムギ幼葉鞘細胞壁のゆるみの維持と細胞壁結合フェルラ酸量の変化
　　若林和幸、保尊隆享、神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

9:30　2aG03　アスコルビン酸による細胞壁木化の調節：　細胞壁の可溶性ペルオキシダーゼと結合性ペルオキシダーゼによるコニフェリルアルコール酸化のアスコルビン酸による調節
　　高浜有明夫（九州歯大・生物）

9:45　2aG04　シンナミルアルコールデヒドロゲナーゼの精製および組織的発現の解析
　　日尾野隆、柴田大輔、梅沢俊明[1]、高部圭司[2]、樋口隆昌[3]（三井植物バイオ研、[1]京大・木研、[2]京大・農、[3]日大・林学）

10:00　2aG05　ウド（*Aralia cordata*）シンナミルアルコールデヒドロゲナーゼcDNAの単離
　　日尾野隆、柴田大輔、樋口隆昌[1]（三井植物バイオ研、[1]日大・林学）

10:15　2aG06　エンド型キシログルカン転移酵素のcDNAのクローニング
　　岡澤一秀、冨田英津子[1]、佐藤美子、浅田起代蔵、加藤郁之進、西谷和彦[1]（宝酒造バイオ研、[1]鹿児島大・教養）

10:30　2aG07　エンド型キシログルカン転移酵素の生理機能
　　冨田英津子、船津安世、前田香織、近藤昭弘[1]、加藤郁之進[1]、西谷和彦（鹿児島大・教養、[1]宝酒造バイオ研）

10:45　2aG08　アズキ上胚軸切片のオーキシン誘導成長並びにキシログルカン分解に対するコンカナバリンAの阻害作用
　　保尊隆享、若林和幸、増田芳雄[1]（大阪市大・理・生物、[1]帝塚山短大・食品）

11:00　2aG09　キシログルカンとセルロースのアニーリング
　　林隆久、[1]小川宏蔵（京大・木研、[1]大阪府大・研）

11:15　2aG10　自己の細胞壁溶解酵素によるクロレラのプロトプラスト生成
　　高野美佳, 武田宏[1]（新潟大・理・生物、[1]新潟大・教養・生物）

11:30　2aG11　ニホンナシ果実細胞壁からの β-ガラクトシダーゼの精製と性質
　　北川泰弘、金山喜則、山本昭平（名古屋大・農・園芸）

11:45　2aG12　ダイコン一次根のアラビノガラクタン-プロテイン生合成に関わるα-L-フコシルトランスフェラーゼ
　　三沢宏之、牛山明、円谷陽一、橋本洋一（埼玉大・理・生化）

第２日　３月30日（火）　［午後の部］

A会場　分子生物学（５）

13:30　2pA01　イネ単離胚芽核ゲノムの吸水によるメチル化状態の変化
　　秦野彰二、山口淳二[1]、平井篤志（東京大・農・放射線遺伝、[1]名古屋大・農・生化学制御）

13:45　2pA02　介在配列を含むイネ亜硝酸レダクターゼcDNA
　　井田正二、寺田善信[1]、青木秀之（京都大・食研、[1]江崎グリコ生化研）

14:00　2pA03　イネ原形質膜 H^+-ATPaseのcDNAクローン（OSA1, OSA2）の解析
　　大倉哲也、和田雅人[1]、金賢貞、榊原祥清、丸田一成[2]、河村幸雄、笠毛邦弘（農水省・食総研、[1]筑波大・生物、[2]農水省・生物研）

14:15　2pA04　トランスジェニック植物におけるイネ *wx* 座遺伝子の組織特異的発現
　　平野博之、松村健[1]、田林紀子[1]、谷田昌稔[1]、米田好文[2]、佐野芳雄（国立遺伝研、[1]北海道グリーンバイオ研、[2]東大・遺伝子）

14:30　2pA05　イネショ糖リン酸合成（SPS）遺伝子の１次構造
　　坂本正弘、里澤智美、藤村達人（三井東圧化学ライフサイエンス研）

第２日　３月30日（火）　［午後の部］

14:45　2pA06　イネカタラーゼ遺伝子の転写調節機構：イネプロトプラストにおけるトランジェント発現による発現制御領域の解析
　　肥後健一、肥後ひろみ（農水省・生資研）
15:00　2pA07　イネ　アデニレートキナーゼ遺伝子の発現解析
　　川合真紀、梅田正明、内宮博文（東大・応微研）
15:15　2pA08　植物 Nucleoside Diphosphate Kinase cDNA の構造解析
　　矢野明、梅田正明、内宮博文（東大・応微研）
15:30　2pA09　イネ　ホスホグルコースイソメラーゼ遺伝子の構造と発現解析
　　野末文雄、梅田正明、内宮博文（東大・応微研）

B会場　分子生物学（６）

13:30　2pB01　バレイショKunitz型プロテアーゼインヒビター遺伝子のクローニング
　　山岸和敏、永谷工、深瀬孝子、三森クリスチーナ、藤野介延、幸田泰則、喜久田嘉郎（北大・農・植物）
13:45　2pB02　馬鈴薯のクロン　したクニッツ型トリプシンインヒビターの発現特性
　　三森クリスチーナ、山岸和敏、喜久田嘉郎（北海道大・農・作物生理）
14:00　2pB03　ジャガイモα-グルカンホスホリラーゼ・アイソザイム遺伝子の5'-上流域の解析
　　峯利喜、森博幸、中野憲一、谷澤克行、福井俊郎、石毛光雄1（大阪大・産研、1農水省・生資研）
14:15　2pB04　トウモロコシ・グルタミン合成酵素遺伝子群の構造解析および大腸菌発現系の構築
　　榊原均、清水仁志、杉山達夫（名古屋大・農・農化）
14:30　2pB05　チャ *Camellia sinensis* の CHS 遺伝子の発現解析
　　竹内敦子、松元哲、早津雅仁（農水省・野菜茶試）
14:45　2pB06　スコポラミン生合成遺伝子の発現解析
　　梶矢弘美、鐘ヶ江健、橋本隆、山田康之（京大・農・農化）
15:00　2pB07　クラミドモナス；カーボニックアンヒドラーゼの２つの遺伝子の発現調節
　　立木光、Maribel L. Dionisio-Sese[1]、藤原祥子[2]、福澤秀哉[3]、都築幹夫[4]、宮地重遠[1]（新日本製鐵(株)・先端技術研究所、[1]海洋バイオ研、[2]微工研、[3]京都大・農、[4]東大・応微研）
15:15　2pB08　酵母 *S. cerevisiae* の第3番染色体 DNA 長の延長と細胞増殖に及ぼす影響
　　原田賢一、谷本峰規、渡辺智治、久富泰資、壷井基夫（福山大・工・生物工学）

C会場　ストレス（４）

13:30　2pC01　水欠乏、マグネシウム欠乏時の生葉中の過酸化水素生成
　　田中浄、神崎明美[1]（国立環境研究所、[1]東邦大・理）
13:45　2pC02　モノデヒドロアスコルビン酸ラジカルのチラコイド膜でのフェレドキシン依存光還元
　　三宅親弘、浅田浩二（京都大・食研）
14:00　2pC03　キュウリモノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼの cDNA クローニング
　　佐野智、浅田浩二（京都大・食研）
14:15　2pC04　オゾンと接触したシロイヌナズナの葉におけるサイトゾル型アスコルビン酸ペルオキシダーゼの増加
　　佐治光、久保明弘、田中浄、近藤矩朗（国立環境研究所）
14:30　2pC05　チャ葉細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼの精製と性質
　　尼子克己、浅田浩二（京都大・食研）
14:45　2pC06　ヤエナリ芽生え胚軸組織の^{1}H-NMR 緩和時間 (T1) に及ぼす酸素ストレスの影響
　　井上眞理、山崎秀雄[1]、吉村和久[2]（九州大・教養・生物、[1]琉球大・理・生物、[2]九州大・教養・化学）
15:00　2pC07　低酸素下におけるイネ・ムギ根の酸素吸収
　　池田順一、中村俊樹（農水省・東北農試）
15:15　2pC08　アルギン酸リアーゼ分解物による植物の低酸素ストレスに及ぼす効果
　　梅村賢司、友田善久、平山匡男、足立尭、日高秀昌（明治製菓・生物科学研）

第２日　３月30日（火）　［午後の部］

15:30　2pC09　低酸素ストレスによる植物培養細胞の液胞ｐＨの変化
矢崎芳明、坂野勝啓（農水省・生物研）

D会場　光合成（４）

13:30　2pD01　変形 S2- 及び変形 S3- 状態に於ける Ca^{2+}- 除去光化学系 II の 示す２つの EPR シグナルの起源について
楠正美（明大・理工・物理）

13:45　2pD02　光化学系 II コア複合体での水分解系の光活性化
田村典明、香月良江、蒲地浩之[1]、奥達雄[1]、岡山繁樹[2]（福岡女子大・生物、[1]九大・農・林学、[2]九大・教養・生物）

14:00　2pD03　ヒドロキシ尿素の光化学系 II での光酸化と電子伝達の阻害
川本邦男、陳功祥、真野純一、浅田浩二（京都大・食研）

14:15　2pD04　Mn と表在性ペプチドを欠く光化学系 II 粒子のチトクロム b-559 酸化還元特性とその酸素発生系光再活性化反応の解析
水澤直樹、長友武彦、山下巍（筑波大・生物）

14:30　2pD05　チトクロム *b*-559 に与える強光ストレスの影響
岩崎郁子[1]、市丸都、梶原英子、篠崎恵美子、田村典明、岡山繁樹[2]（[1]九大・理・生物、福岡女子大・生物、[2]九大・教養・生物）

14:45　2pD06　アルカリ pH 条件下での光照射による光化学系 II 複合体のタンパク質分解
森宏樹、山本泰（岡山大・理・生物）

15:00　2pD07　熱処理による表在性蛋白の遊離と酸素発生の失活
榎並勲、北村真美、加藤栄[1]（東京理科大・理・生物、[1]東大・理・生物）

15:15　2pD08　ラン藻のチラコイド膜における光合成の高温適応
西山佳孝[1,2]、林秀則[1]、渡辺正[2]、村田紀夫[1]（[1]基生研、[2]東大・生産研）

E会場　光生物学（２）

13:30　2pE01　クロレラ白色変異体への Indo-1 導入の検討
神谷明男（帝京大・薬・化学）

13:45　2pE02　エンドウ茎成長の光による抑制：内部ー表皮組織相互作用に対する影響
宮本健助、上田純一、保尊隆亮[1]、神阪盛一郎[1]、増田芳雄[2]（大阪府立大・総科・生命、[1]大阪市大・理・生物、[2]帝塚山短大・食品）

14:00　2pE03　イネ幼葉鞘の光屈性：光量と反応の関係
植松千代美、樽井裕、飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

14:15　2pE04　ニンジン培養細胞における PAL, CHS 遺伝子発現の作用スペクトル
竹田淳子、吉田和市（京大・農・農化）

14:30　2pE05　紫外線によるキュウリ第一葉の成長阻害とその作用スペクトル
近藤矩朗、清水英幸、渡辺正勝[1]、久保田守[1]（国立環境研、[1]基生研）

14:45　2pE06　紫外光により誘導されるミドリムシの光運動反応
松永茂、菅井道三、高橋哲郎[1]、近藤孝男[2]、渡辺正勝[2]（富山大・理・生物、[1](財)サントリー生有研、[2]基生研）

15:00　2pE07　紅色酵母の K^+ 排出に対する紫外光作用スペクトル
秦恵、辰己隆司[1]、多田幹郎[1]、橋本徹（神戸大・理・生物、[1]岡山大・農・細胞）

15:15　2pE08　光照射培養による *R. denitrificans* のシトクロム cd1 含量増加の作用スペクトル
高宮建一郎、佐藤和敬、奥山徳二、塩井祐三、土井道生1（東工大・生命理工、1宮崎医大・生物）

F会場　細胞骨格

13:30　2pF01　タマネギ根端分裂組織細胞の分裂準備帯及び紡錘体形成に対するシクロヘキシミドの影響
野上暁子、山下正兼[1]、長濱嘉孝[1]、峰雪芳宣（広島大・理・植物、[1]基生研・生殖）

第２日　３月30日（火）［午後の部］　第３日　３月31日（水）［午前の部］

13:45　2pF02　細胞分裂後期／終期移行時における核および細胞質分裂進行に対するシクロヘキシミドの影響
峰雪芳宣、野上暁子、長濱嘉孝[1]（広島大・理・植物、[1]基生研・生殖）
14:00　2pF03　タバコ培養細胞BY-2における染色体分離開始のタンパク質合成依存性
横井崇秀、柿本辰男、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）
14:15　2pF04　タバコ培養細胞BY-2の細胞分裂に対するbrefeldin A (BFA)の影響
安原裕紀、園部誠司、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）
14:30　2pF05　２重前期前微小管束を持つ細胞における細胞板の形成機構
馳澤盛一郎、長田敏行（東京大・理・植物）
14:45　2pF06　タバコ培養細胞における表層微小管の起源についての解析
江藤亜紀子、馳澤盛一郎、長田敏行（東京大・理・植物）
15:00　2pF07　ジベレリンによるアズキ茎切片の伸長と微小管・チューブリンの変化
水野孝一（大阪大・理・生物）
15:15　2pF08　核内に存在するようにみえる微小管とその重合中心
水野孝一（大阪大・理・生物）
15:30　2pF09　ユリ花粉管から単離した170-kDa重鎖から構成される花粉管ミオシンの性質
横田悦雄、新免輝男（姫路工大・理・生命）
15:45　2pF10　オジギソウ運動細胞におけるマイクロフィラメントの３次元構造
吉村政典、作田智洋、田宮徹、土屋隆英（上智大・理工・化学）

G会場　細胞壁（２）

13:30　2pG01　モモ果実細胞壁より見出されたエチレン生成抑制オリゴ糖
森口卓哉、吉岡博人、真田哲朗、田中敬一（農林省・果樹試）
13:45　2pG02　カボチャ下胚軸におけるブラシノライドの成長促進作用
富永るみ、桜井直樹、倉石晉(広島大・総科・自然)
14:00　2pG03　カボチャの根の成長と細胞壁の変化に対するアルミニウムの影響
Le Van Hoa、倉石晉、桜井直樹（広島大・総科・自然）
14:15　2pG04　矮性エンドウの根の細胞壁多糖の分子量分布と糖組成に対するジベレリンの効果
谷本英一、D. J. ヒューバー[1]（名古屋市大・教養・生物、[1]フロリダ大・農・園芸）
14:30　2pG05　ニンジン培養細胞における細胞壁多糖の糖分析
菊地彰、佐藤忍、中村紀雄[1]、藤伊正（筑波大・生物、[1]横浜市大・文理・生物）
14:45　2pG06　矮性オオムギ突然変異でIAAによって発現するタンパク質
桜井直樹、鶴崎健一、横田幹朗、倉石晉（広島大・総科・自然）
15:00　2pG07　傾斜刺激下における樹幹木部の形成ー特異的タンパク質の誘導ー
馬場啓一、浅田隆之[1]、林隆久、伊東隆夫（京大・木研、[1]王子製紙・林木育種研）
15:15　2pG08　ダイコンホウ素含有多糖の精製と性質
石垣賢一、間藤徹、関谷次郎、東順一[1](京都大・農・農化、[1]京都大・農・林工)

第３日　３月31日（水）［午前の部］

B会場　分子生物学（７）

9:00　3aB01　イネの葯特異的遺伝子の構造と発現様式
土屋亨、中村久子、鳥山欽哉、江尻慎一郎（岩手大・農・細胞育種実験施設）
9:15　3aB02　ペチュニアにおける花芽特異的遺伝子群の単離とその発現様式
山下博史、河野重行、黒岩常祥（東京大・理・植物）
9:30　3aB03　イネホメオボックス遺伝子は２カ所の転写開始点を持つ
松岡信（生物研）

第３日　３月31日（水）［午前の部］

9:45　3aB04　イネホメオボックス遺伝子 *OSH1* によるトランスジェニックアラビドプシスの形態異常
市川裕章、松岡信[1]（農業環境技術研、[1]農業生物資源研）

10:00　3aB05　翻訳後修飾によるコムギbZIP型転写因子HBP-1bのDNA結合活性調節
高瀬尚文[1,2]、飯哲夫[2]、溝口剛[3,4]、篠崎一雄[3]、岩淵雅樹[1,2]（[1]基生研・発生生物、[2]京大・理、[3]理研・植物分子生物、[4]筑波大・生物）

10:15　3aB06　コムギbZIP型転写因子HBP-1a及びHBP-1b遺伝子のイネ細胞におけるプロモーター領域の解析
三上浩司[1]、桂真昭[1,2]、大坪憲弘[2]、藤本宜充[3]、岩淵雅樹[1,2]（[1]基生研・発生生物、[2]京大・理・分子植物、[3]日本石油（株））

10:30　3aB07　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（京都大・理・植物、[1]植工研）

10:45　3aB08　イネb-ZIP型DNA結合タンパク質RAF-1遺伝子の単離と解析
井沢毅[1,2]、Nam-Hai Chua[2]、島本功[1]（[1]植物工学研、[2]The Rockfeller Univ.）

11:00　3aB09　イネEm遺伝子の転写制御因子VP1による発現制御
服部束穂、寺田智子、濱砂聡（三重大・遺伝子）

11:15　3aB10　*ro1C* プロモーターのショ糖誘導に関与するシス配列の解析
横山隆亮、藤井伸治[1]、Evalour T. Aspuria[1]、加藤敦之、内宮博文[1]（北大・理・植物、[1]東大・応微研）

11:30　3aB11　*ro1C* 遺伝子5'上流域に結合する一本鎖DNA結合タンパク質の解析
松木吏弓、内宮博文[1]（北大・理・植物、[1]東大・応微研）

11:45　3aB12　ニンジンの不定胚発生過程における *ro1C* プロモーターの発現－Deletion Mutantsを用いた解析－
藤井伸治、横山隆亮[1]、内宮博文（東大・応微研、[1]北大・理・植物）

12:00　3aB13　イネ細胞増殖核抗原（PCNA）遺伝子の分裂細胞特異的発現にかかわる因子の解析
小杉俊一、大橋祐子、鈴鹿巌（農水省・生物研）

C会場　成長制御（２）・リズム

9:00　3aC01　低幹仕立クワ一年枝の梢端優勢生長と側芽の摘芽処理の影響
鈴木健夫（京都工繊大・繊維・応生）

9:15　3aC02　クワ休眠枝の切枝水挿の梢端優勢生長と貯蔵デンプンの消長
鈴木健夫（京都工繊大・繊維・応生）

9:30　3aC03　ジャスモン酸の離層形成促進作用：セルラーゼ活性に対する影響
上田純一、宮本健助、橋本昌晴（大阪府大・総合科学）

9:45　3aC04　スギナ胞子体Shootの形成におよぼすジャスモン酸の効果
栗山昭、河合文雄、金森正雄、W. Dathe[1]（財・環境科学総合研、[1]Inst. Plant Biochem.）

10:00　3aC05　弱酸及び中性緩衝液によって引き起こされるアカウキクサの根の基部からの細胞遊離の現象について
上田英二、鬼頭俊而（大阪府大・付属研）

10:15　3aC06　伸長成長機構の分子モデルと圧力ジャンプ法による検証
岡本尚（横浜市大・文理・生物）

10:30　3aC07　細胞内圧減少下での伸長促進
水野暁子、加藤潔[1]（日本福祉大・女子短大、[1]名古屋大・教養・生物）

10:45　3aC08　アスコルビン酸－アスコルビン酸酸化酵素系による細胞伸長促進機構
高浜有明夫（九州歯大・生物）

11:00　3aC09　*parA*、*parB* 遺伝子産物のタバコの根における分布の探索
佐野俊夫、高橋陽介、馳澤盛一郎、長田敏行（東京大・理・植物）

11:15　3aC10　ヤエナリ下胚軸切片でオーキシンによって誘導される遺伝子Arg1は脂肪酸不飽和化酵素であった
山本興太郎（北海道大・理・植物）

11:30　3aC11　アラビドプシスを用いたジベレリン生合成阻害剤耐性変異株の単離と解析
南原英司、内藤哲[1]（名古屋大・農・生化学制御、[1]北海道大・農・応用生命科学）

11:45　3aC12　らん藻の生物発光リズム：コロニーでの生物時計測定
近藤孝男、石浦正寛（基生研）

第３日　３月31日（水）［午前の部］

12:00　3aC13　新しく分離されたアカパンカビ時計突然変異株の解析
五藤竜太、中島秀明（岡山大・理・生物）

12:15　3aC14　アカパンカビにおける光による位相変化の過程の解析
定金豊、秋山正志、中島秀明（岡山大・理・生物）

D会場　光合成（５）

9:00　3aD01　インゲンマメ本葉切除に伴う初生葉の光合成系の変化
田中義人、鈴木茂敏[1]、高野泰吉[1]、高倍昭洋（名城大・理工・化学、[1]名城大、農）

9:15　3aD02　穂を切除したイネ止葉の光合成特性
牧野周、仲野廣美、前忠彦、小島邦彦（東北大・農・応用生物化学）

9:30　3aD03　円石藻 *Emiliania huxleyi* における溶存無機炭素利用機構
関野景介、白岩善博（新潟大・理・生物）

9:45　3aD04　クラミドモナスのホスホグリコール酸ホスファターゼ活性欠損突然変異株（*pgp-1*）におけるグリコール酸生成について
鈴木健策、猪川倫好[1]（農水省・東北農試、[1]筑波大・生物）

10:00　3aD05　水陸両生植物、*Eleocharis vivipara* の水生型の光合成特性に及ぼすアブシジン酸の影響：C4型の誘導は可能か？
上野修（農業生物資源研）

10:15　3aD06　C4植物葉肉細胞葉緑体におけるH^+／ピルビン酸共輸送
青木直大、大西純一、金井龍二（埼玉大・理・生化）

10:30　3aD07　合成キノンを組み込んだPSI反応中心での電子移動：ピコ～マイクロ秒高速分光測定による解析
伊藤繁、熊崎茂一[1]、岩城雅代、神取秀樹[1]、吉原經太郎[1]（基礎生物研、[1]分子科学研）

10:45　3aD08　光化学系Ｉフィロキノン結合部位への非キノン化合物の結合
岩城雅代、伊藤繁（基生研・細胞内エネルギー変換）

11:00　3aD09　エーテル－アセトアルデヒド処理法によるChl-a/P700比が5-7の光化学系Ｉ粒子の調製
池上勇、伊藤繁[1]（帝京大・薬、[1]基生研）

11:15　3aD10　*Anabaena variabilis* ATCC29413の *PsaC* 欠損変異株からの光化学系Ｉ複合体の単離とそのサブユニット組成
園池公毅[1,2]、R. Mannar Mannan[2]、加藤栄[1]、Himadri Pakrasi[2]（[1]東大・理・植物、[2]Washington Univ., Dept. Biol.）

11:30　3aD11　光化学系Ｉ標品の光阻害について
馬場恭子、和田敬四郎、星名哲（金沢大・理・生物）

11:45　3aD12　葉緑体におけるサイクリックおよびノンサイクリック電子伝達系の相互作用
小林善親、U. Heber[1]（九大・農・林学、[1]ヴェルツブルグ大）

12:00　3aD13　NADPHとフェレドキシンによるプラストキノンプールの酸化還元調節
真野純一、Ulrich Schreiber[1], Ulrich Heber[1], 浅田浩二（京都大・食研、[1]Würzburg大・植物研Ｉ）

12:15　3aD14　葉緑体のスーパーオキシド生成活性の炭酸イオンによる調節
畑中覚、村田善則、高橋正昭（甲南大・理・生物）

E会場　蛋白質・酵素（１）

9:00　3aE01　ユリ花粉から単離した雄性配偶子細胞の生化学的特性
太田豊、上田健治、川上直人[1]、田中一朗（横浜市大・文理・生物、[1]横浜市大・木原生研）

9:15　3aE02　植物のアスコルビン酸酸化酵素遺伝子の構造と発現
木須康智、後藤美和、加藤直洋、江坂宗春（広島大・生物生産）

9:30　3aE03　部分２倍体を用いた *Rhodobacter capsulatus* の生育に必須な７鉄フェレドキシンⅡの構造ー機能解析系の構築と応用
末次由実、佐伯和彦、松原央（阪大・理・生物）

第３日　３月31日（水）［午前の部］

9:45　3aE04　管状要素分化過程で発現する細胞壁結合性ペルオキシダーゼアイソザイム（P1~P5）の分離及びその性質の解析
佐藤康、杉山宗隆、駒嶺穆、福田裕穂（東北大・理・生物）

10:00　3aE05　テンサイ肥大根のシンク活性と糖代謝活性の関連
川口健太郎、箱山晋、堅木育雄（北海道農試）

10:15　3aE06　イネ培養細胞におけるUDPグルコースピロホスホリラーゼの局在
木村信、三ッ井敏明[1]、松岡勉[1]、伊賀上郁夫[1]（新潟大・自然科学・生命システム、[1]新潟大・農・農化）

10:30　3aE07　ゼンマイ胞子葉緑体からのプロテインキナーゼの分離
奥志平尚、水上史之、深澤義親、井上弘（富山大・理・生物）

10:45　3aE08　イネ篩管におけるタンパク質のリン酸化
中村進一、林浩昭、森敏、茅野充男（東大・農・農芸化）

11:00　3aE09　ワカメ遊走子の膜結合プロテインキナーゼの可溶化とその性質
武藤尚志、湯浅高志、大森正之[1]（東京大・応微研、[1]東京大・教養）

11:15　3aE10　耐塩性緑藻ドナリエラのCa^{2+}依存性プロテインキナーゼと浸透圧ショックに応答したタンパク質リン酸化
湯浅高志、武藤尚志（東京大・応微研）

11:30　3aE11　テッポウユリの球根および花粉のミトコンドリアF1-ATPaseの比較
伊藤文、関谷次郎（京大・農・農化）

11:45　3aE12　光化学系IIの表在性23-kDaタンパク質の変性体に特異的に作用するチラコイド膜プロテアーゼ
鈴木恒平、桑原朋彦（筑波大・生物）

F会場　脂質・生体膜

9:00　3aF01　ハプト藻 *Pavlova lutheri* におけるベタイン脂質と脂肪酸組成
加藤美砂子、足立恭子、中西(羽白)京子、石垣英志、佐野浩（海洋バイオテクノロジー研究所・清水研究所）

9:15　3aF02　ラン藻の脂質組成に対するグルコースの影響
佐藤直樹（東京学芸大・生命科学）

9:30　3aF03　葉緑体膜糖脂質生合成酵素の光および植物ホルモンによる活性化
太田啓之、下嶋美恵、増田建、塩井祐三、高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構）

9:45　3aF04　糸状性ラン藻 *Anabaena variabilis* の△12位脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子
坂本敏夫[1]、和田元[2]、西田生郎[1,2]、大森正之[3]、村田紀夫[1,2]（[1]総研大、[2]基生研、[3]東大・教養）

10:00　3aF05　液胞膜H^+-PPaseによるプロトン輸送と低温ストレス
伊集院理江、笠毛邦弘[1]（日本女子大・家政、[1]農水省・食品総合研究所）

10:15　3aF06　イネ培養細胞H^+-ATPaseの再構成膜小胞における脂質流動性とH^+輸送能との相関
中村善行、笠毛邦弘（農水省・食総研）

10:30　3aF07　ヤエナリ胚軸より精製した液胞膜H^+-ATPaseの再構成膜小胞のH^+輸送能に対する脂質成分の影響
山西弘恭、笠毛邦弘（農水省・食品総合研究所）

10:45　3aF08　セイヨウナシ果実のトノプラストにおけるH^+-ATPaseの特徴
保坂正春、金山喜則、山木昭平（名古屋大・農・園芸）

11:00　3aF09　アカシヲP-type ATPaseの動物細胞での発現と解析
庄野真理子、和田雅人、藤伊正（筑波大・生物）

11:15　3aF10　硝酸塩処理によるオオムギ根原形質膜H^+輸送活性の増加
山下耕生、葛西身延、山本洋子、松本英明（岡山大・資生研）

11:30　3aF11　微生物由来の植物毒素、syringostatin,syringomycin, syringotoxinの作用機構
蔡晃植、笠毛邦弘[1]、福地直之[2]、磯貝彰[2]、鈴木昭憲[2]（理化学研究所、[1]農水省・食総研、[2]東京大、農・農化）

11:45　3aF12　パッチクランプ法による高等植物原形質膜及び液胞膜のCa^{2+}チャンネルの記録
帳平、矢部勇、武藤尚志（東京大・応微研）

第３日　３月31日（水）　［午前の部］　［午後の部］

12:00　3aF13　大麦葉組織のリン酸ホメオスタシスにおいて、液胞膜が果たす役割の検討
三村徹郎、横田悦雄、新免輝男、坂野勝啓[1]、沖原清司[1]、清田誠一郎[1]、矢崎芳明[1]（姫路工大・理・生命、[1]農水省・生物研）

12:15　3aF14　ニチニチソウ培養細胞のリン酸吸収に対する薬剤の効果
沖原清司、三村徹郎[1]、坂野勝啓（農水省・生物研、[1]姫路工大・理）

12:30　3aF15　ベンケイソウ型酸代謝の概日リズムの制御とリンゴ酸輸送系
荒田博行、楠見健介、岩崎郁子、西村光雄（九大・理・生物）

G会場　イオン輸送・電気生理

9:00　3aG01　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 II
城市篤、降旗敬、今井宏、桜井英博（早稲田大・教育・生物）

9:15　3aG02　ニチニチソウ培養細胞の無機リン酸取り込み－親和性の異なる2種類の成分の比較
降旗敬、城市篤、田中正浩、鈴木幹雄、桜井英博（早稲田大・教育・生物）

9:30　3aG03　バイオイメージングアナライザーを用いた^{36}Clの分布
笛田和佐子、吉田泉、平澤栄次（大阪市大・理・生物）

9:45　3aG04　イネにおけるNADH依存性グルタミン酸合成酵素の組織内局在性
早川俊彦、山谷知行、服部冬、前忠彦、小島邦彦（東北大・農・応用生物化学）

10:00　3aG05　イネ篩管液中の13kDaタンパク質のクローニングとその解析
石渡裕、川嶋一郎、本多親子、中村進一、林浩昭、森敏、茅野充男（東大・農・農化）

10:15　3aG06　トビイロウンカに対する吸汁行動阻害物質トランスアコニット酸のイネ科雑草タイヌビエ中における分布と生産
旦原真木、坂野勝啓[1]、佐藤守[2]、川北弘[2]、河部暹[2]（岡山大・資生研、[1]農水省・生物研、[2]農水省・蚕昆研）

10:30　3aG07　シャジクモ節間細胞の膜電位に及ぼす局所麻酔薬の影響－異なるpHoでの作用の程度の比較－
大川和秋、野坂修一[1]、吉川清[2]（阪大・教養・生物、[1]滋賀医大・麻酔、[2]大阪成人病センター・麻酔）

10:45　3aG08　シャジクモ潅流細胞のH^+ポンプ活性
筒井泉雄、大川和秋[1]（生理研・生体膜、[1]阪大・教養・生物）

11:00　3aG09　塩ストレス適応および非適応タバコ培養細胞の原形質膜のイオン選択性
村田芳行、吉橋学、小尾一郎、池田篤治、角谷忠昭（京都大・農・農化）

11:15　3aG10　汽水産車軸藻シラタマモ節間細胞の膨圧調節と細胞質pH
岡崎芳次、岩崎尚彦（大阪医大・教養・生物）

11:30　3aG11　シャジクモの水チャンネル特性
田沢仁、浅井一視[1]（福井工大・応用理化学、[1]大阪医大、生物）

第３日　３月31日（水）［午後の部］

A会場　分子生物学（８）

13:30　3pA01　ダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子の形質転換植物での発現：隣接遺伝子の発現に及ぼす効果とポジションイフェクト
藤原徹、Roger N. Beachy[1]（東大・農・農化、[1] The Scripps Research Institute）

13:45　3pA02　ダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子の硫酸イオン欠乏応答
平井(横田)優美、藤原徹、森敏、茅野充男、内藤哲[1]（東大・農・農化、[1]北大・農・応用生命科学）

14:00　3pA03　アラビドプシス　エチオニン耐性突然変異株におけるダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子の発現調節
稲場久美子、平井(横田)優美[1]、茅野充男[1]、米田好文、内藤哲[2]（東大・遺伝子実験施設、[1]東大・農・農化、[2]北大・農・応用生命科学）

第３日　３月31日（水）［午後の部］

14:15　3pA04　ケツルアズキのシステインエンドペプチダーゼ(SH-EP)の翻訳後プロセシングと細胞内局在性
岡本龍史、山内大輔、南川隆雄（都立大・理・生物）

14:30　3pA05　ケツルアズキのシステインエンドペプチダーゼ(SH-EP)遺伝子のタバコ植物体における発現
山内大輔、岡本龍史、南川隆雄（都立大・理・生物）

14:45　3pA06　インゲンマメのシステインエンドペプチダーゼ(EP-C1)遺伝子5'上流域の解析
寺崎容子、小串泰之、西原昌宏[1]、森川弘道[1]、山内大輔、南川隆雄（都立大・理・生物、[1]広島大・理・植物）

15:00　3pA07　パーティクルガン法によるナタマメ種子タンパク質遺伝子の5'上流域の解析
山本純子、西原昌宏[1]、森川弘道[1]、山内大輔、南川隆雄（都立大・理・生物、[1]広島大・理・植物）

B会場　分子生物学（９）

13:30　3pB01　西洋ワサビ・ペルオキシダーゼ遺伝子発現の傷害誘導
河本朋広、河岡明義[1]、吉田和哉、関根政実、高野光男、新名惇彦（阪大・工・応生、[1]山陽国策パルプ・生物研）

13:45　3pB02　タバコPR1aタンパク質遺伝子の発現は負の制御を受けている
平佐聡尚、大島正弘、西宮聡、中村茂雄、大橋祐子（農水省・農業生物資源研）

14:00　3pB03　rd29遺伝子の乾燥誘導に関与するシスエレメントの解析
篠崎和子、浦尾さとみ、平八重貴美子、篠崎一雄（理研・植物分子生物）

14:15　3pB04　乾燥によって誘導されるシロイヌナズナの *Atmyb2* 遺伝子プロモーターの解析
浦尾剛[1,2]、篠崎和子[1]、浦尾さとみ[1]、篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子生物、[2]ほくさん中研）

14:30　3pB05　シロイヌナズナ乾燥誘導性遺伝子rd22の組織特異的発現
岩崎俊介、篠崎和子、篠崎一雄（理研・植物分子生物）

14:45　3pB06　短時間の乾燥ストレス処理により誘導されるシロイヌナズナ遺伝子群のcDNAクローニングとその解析
清末知宏、篠崎和子、篠崎一雄（理研・植物分子生物）

D会場　電子伝達・呼吸

13:30　3pD01　*Synechocystis* PCC6803 メチルヴィオロゲン耐性株の単離とその性質
遠藤剛、浅田浩二（京都大・食糧科学研）

13:45　3pD02　NADPHデヒドロゲナーゼに依存する *Synechocystis* 6803 のPSI-循環的電子伝達
米華玲、遠藤剛、Ulrich Schreiber[1]、小川晃男[2]、浅田浩二（京都大・食研、[1]Würzburg Univ.、[2]理研・太陽光科学）

14:00　3pD03　プラストシアニンの部位特異的mutantの作成
Lee Byung Hyun[1]、日比野隆、高倍鉄子[1]、高倍昭洋（名城大・理工・化、[1]名古屋大・農・生化制御）

14:15　3pD04　ダイコン葉フェレドキシンの複数成分とその構造
長井潔、小幡茂裕[1]、水上孝子[1]、先浜直子、新勝光（神戸大・理・生物、[1]キシダ化学・研究開発グループ）

14:30　3pD05　地衣 *Cladonia vulcani* Savicz.菌体のチトクロム
藤原健智、浜出良二[1]、木下靖浩[1]、山本好和[1]、吉村庸[2]、山中健生（東工大・生命理工・生命理、[1]日本ペイント・中研、[2]高知学園短大）

14:45　3pD06　鉄酸化細菌 *Thiobacillus ferrooxidans* の Fe^{2+} 酸化系の分子レベルでの研究
山中健生、甲斐正広、為我井秀行、矢野能弘、福森義宏（東工大・生命理工・生命理）

15:00　3pD07　チトクロム *c* の電子伝達時に形成される遷移状態化合物の蛋白質間相互作用に関する電気化学的考察
撰達夫、小澤真一郎、和田正徳（鳥取大・工・物質工）

15:15　3pD08　γ-ピロニル-トリテルペノイドサポニン（クロモサポニンI）の電子供与性
辻野義雄、鶴見誠二、大堺利行[1]、橋本徹[2]（神戸大・自然科学、[1]神戸大・理・化学、[2]神戸大・理・生物）

第３日　３月31日（水）［午後の部］

E会場　蛋白質・酵素（２）

13:30　3pE01　イネフェレドキシン－$NADP^+$レダクターゼの器官特異的cDNAと分子的特性
　　青木秀之、土山直美、井田正二（京都大・食研）

13:45　3pE02　葉緑体内リボース-5-リン酸キナーゼの精製とその性質
　　柴田均、秋好淳子、澤嘉弘、落合英夫（島根大・農・応用生物機能学）

14:00　3pE03　ヘクソカズラからのフラボノール　O-グルコシルトランスフェラーゼの性質について
　　楊志慶、石倉成行（熊本大・理・生物科学）

14:15　3pE04　イネ培養細胞由来β-グルカンシンターゼII (GS-II)の可溶化と精製
　　栗林郁夫、森田卓也[1]、三ッ井敏明[1]、伊賀上郁夫[1]（新潟大・自然科学、[1]新潟大・農・応用生化）

14:30　3pE05　イネ懸濁培養細胞培地中のβ-1,3-グルカナーゼ活性
　　秋山高、小池説夫[1]（農水省・北海道農試、[1]生物研）

14:45　3pE06　タチナタマメ由来α-マンノシダーゼの精製とその糖鎖型の推定
　　安楽城敬太、藤山和仁、吉田敏臣（阪大・工・生物工学国際交流センター）

座 長 表

日	時	講演番号	座 長
3月29日(月)	午前	1aA01~04	佐々木幸子
		1aA05~08	宇佐美昭二
		1aA09~12	長谷あきら
		1aB01~04	福田 裕穂
		1aB05~08	小林 裕和
		1aB09~11	森川 弘道
		1aC01~04	松本 英明
		1aC05~07	森 敏
		1aC08~10	藤伊 正
		1aD01~04	嶋田 敬三
		1aD05~08	伊藤 繁
		1aD09~12	槍山 哲夫
		1aE01~04	柴田 大輔
		1aE05~08	金井 龍二
		1aE09~11	和田野 晃
		1aF01~04	佐藤 文彦
		1aF05~08	渡辺 昭
		1aF09~12	高倍 昭洋
		1aG01~04	東 四郎
		1aG05~08	渋谷 直人
		1aG09~12	白石 友紀
	午後	1pB01~04	杉田 護
		1pB05~08	宮崎 力
		1pB09~12	中村 研三
		1pB13~16	山口 和男
		1pC01~04	西沢 直子
		1pC05~08	田中 浄
		1pC09~12	高倍 鉄子
		1pC13~15	玉井 直人
		1pD01~05	三室 守
		1pD06~10	塩井 祐三
		1pD11~15	松浦 克美
		1pE01~04	江刺 洋司
		1pE05~07	大山 卓爾
		1pE08~11	大森 正之
		1pE12~15	金山 喜則
		1pF01~04	松岡 健

日	時	講演番号	座 長
3月29日(月)	午後	1pF05~07	西村いくこ
		1pF08~10	菅原 康剛
		1pF11~13	杉山 宗隆
		1pF14~15	今関 英雅
		1pG01~04	上田 純一
		1pG05~08	神谷 勇治
		1pG09~11	兵藤 宏
		1pG12~14	神阪盛一郎
3月30日(火)	午前	2aB01~03	山田 恭司
		2aB04~08	山本 直樹
		2aB09~12	小俣 達男
		2aC01~03	小池 説夫
		2aC04~06	吉田 静夫
		2aC07~10	西村 幹夫
		2aC11~13	林 秀則
		2aD01~05	徳富 光恵
		2aD06~10	山本 泰
		2aD11~14	池内 昌彦
		2aE01~04	門田 明雄
		2aE05~08	井上 康則
		2aE09~13	真鍋 勝司
		2aF01~03	田中 修
		2aF04~06	竹葉 剛
		2aF07~09	後藤 伸治
		2aF10~13	竹能 清俊
		2aG01~04	桜井 直樹
		2aG05~08	林 隆久
		2aG09~12	西谷 和彦
	午後	2pA01~04	山内 大輔
		2pA05~09	平井 篤志
		2pB01~04	壺井 基夫
		2pB05~08	渡辺 昭
		2pC01~03	江坂 宗春
		2pC04~06	高橋 正昭
		2pC07~09	関谷 次郎
		2pD01~04	小野 高明
		2pD05~08	山下 魏

日	時	講演番号	座 長
3月30日(火)	午後	2pE01~04	渡辺 正勝
		2pE05~08	永井 玲子
		2pF01~03	水野 孝一
		2pF04~06	峰雪 芳宣
		2pF07~10	馳沢盛一郎
		2pG01~04	保尊 隆享
		2pG05~08	谷本 英一
3月31日(水)	午前	3aB01~04	篠崎 一雄
		3aB05~08	酒井 敦
		3aB09~13	岩淵 雅樹
		3aC01~04	岡本 尚
		3aC05~08	山本 良一
		3aC09~11	辻 英夫
		3aC12~14	飯野 盛利
		3aD01~03	猪川 倫好
		3aD04~06	白岩 善博
		3aD07~10	高橋 正昭
		3aD11~14	池上 勇
		3aE01~04	武藤 尚志
		3aE05~08	佐伯 和彦
		3aE09~12	井上 弘
		3aF01~04	笠毛 邦弘
		3aF05~08	佐藤 直樹
		3aF09~12	西村 光雄
		3aF13~15	間藤 徹
		3aG01~04	坂野 勝啓
		3aG05~08	岡崎 芳次
		3aG09~11	新免 輝男
	午後	3pA01~03	南川 隆雄
		3pA04~07	内藤 哲
		3pB01~03	岡 穆宏
		3pB04~06	大橋 祐子
		3pD01~04	撰 達夫
		3pD05~08	和田敬四郎
		3pE01~03	新 勝光
		3pE04~06	石倉 成行

シンポジウム

S1pA1

M／G_1 期における微小管構造変化のダイナミックス

長田敏行、 驍沢盛一郎（東京大 理 植物）

植物細胞の発生成長分化を特徴づけるのは細胞壁の存在であるが、この細胞壁のうち一次細胞壁の主要成分であるセルロース微繊維の配向は表層微小管の方向によって規定される。では、この表層微小管がどのように形成され、いかに配向されるかいう極めて基本的な問題に関して、これまで相反する二つの仮説はあるものの、これまで全く答えられていない。

我々は、高度に同調化させたタバコ BY-2 株の細胞周期の進行過程を微小管の変化に着目して追跡していたが、M/G_1 期の境界において観察された微小管の構造変化は極めて早く、これまでどのような変化が起こっているかは、ほとんど見過ごされていたことに気付いた。そこで表記の疑問に答えるべく、M/G_1 期の微小管の構造変化を詳細に追求したところ、少なくとも構造変化からは捉えることができるという確信をもったので、それに関する我々の根拠を述べる。

この変化を要約すると、微小管は隔膜形成体の解体により構造を失うが、その直後に核膜の表面に短い微小管として形成される。この微小管は伸長し、細胞の長軸に沿って、分裂面から遠心側に向うが、細胞の端に到達する頃、分裂面付近でこの微小管と直角に、やがて表層微小管となる微小管が形成するとなる。これまで観察されることすらなかった、M/G_1 期での微小管の構造変化のダイナミックスについて述べることを趣旨とするが、これらの新事実より新たにいくつかの設問も登場しているのでそれらを併せて考察する。それらとは、1) 微小管の配向が 90 度転換する機構、2) そのとき微小管形成中心は、どうなっているか、3) 他の細胞骨格系は、どのように振舞うかである。これらを総合的に捉え、植物細胞に特徴的な表層微小管の機能を考察する。

S1pA2

隔膜形成体の構造と機能

浅田哲弘、園部誠司、柴岡弘郎 （大阪大、理、生物）

隔膜形成体は、（＋）端を分裂面に置き（－）端を娘核に向けた２群の微小管から構成されており、隔壁成分を分裂面に輸送する働きをもつと考えられている。 我々は、隔膜形成体微小管の構築をつかさどる分子機構ならびに、そのダイナミクスに焦点を当てて研究をおこなってきた。

１）隔膜形成体微小管の滑べり運動

隔膜形成体の微小管構造のダイナミクスを導き出す一つの試みとして、グリセリン処理によって膜透過性にしたタバコ培養細胞ＢＹ－２に蛍光チューブリンを導入し、隔膜形成体における取り込みを解析した。 蛍光チューブリンの取り込みは隔膜形成体の赤道部、すなわち分裂面に位置した微小管の（＋）端側で強くおこり、途中から蛍光標識していないチューブリンに置き換えると赤道部の蛍光領域は２本に分離した。 この結果は、隔膜形成体の２群の微小管が、各々（＋）端の重合に伴って（－）端方向に滑り出していることを示している。 さらに、ヌクレオチド類似体を用いた実験から、この微小管の滑り運動がGTP、もしくはATP を基質とするような微小管モーター蛋白質によって駆動されていることが示唆された。

２）隔膜形成体から単離された 120 kDa 微小管モーター蛋白質

上述の結果に基き、隔膜形成体からの微小管モーター蛋白質の単離を試みた結果、単離隔膜形成体から得た抽出分画には、分子量約 120 kDa のヌクレオチド感受性微小管結合蛋白質が存在することが分かった。 部分精製標品を用いた motility assay の結果、120 kDa 蛋白質はMgATP あるいはMgGTP の存在下で脳由来の微小管を（－）端方向へ 0.02 μm/secという速さで滑走させる活性をもつことが分かった。 この蛋白質の一次構造を明らかにする一方で、１）の滑べり運動との関係を明らかにしたいと考えている。

S1pA3

分裂準備帯（preprophase band）の構造と機能

峰雪芳宣　（広島大・理・植物）

分裂準備帯は細胞周期のＧ２から分裂前期にみられる，主に微小管の束によって構成される細胞内構造である。分裂準備帯の微小管は細胞膜のすぐ内側を帯状に走っており，その位置が将来新生される細胞板が親の細胞壁と接続する予定の位置（分裂予定位置）と一致することから，分裂準備帯は細胞板の正しい位置への挿入に関与する重要な構造と考えられている。しかしその機能についてはまだ不明な点が多い。そこで，タマネギの根端分裂細胞と子葉の表皮細胞，ムラサキツユクサのおしべの毛の細胞及びホウライシシダ原糸体細胞を使った我々の実験結果を中心に，分裂準備帯の構造と機能について検討する。

分裂準備微小管帯は，まず幅の広い帯として出現し，次にこの微小管帯が束化して，幅の狭い成熟した帯になる。分裂面が前の分裂の分裂面の方向と異なるような細胞分裂の場合，微小管は幅広分裂準備帯形成時期になって初めて新しい分裂面の方向に並ぶ。また，幅広微小管帯が収束する過程がサイトカラシンで特異的に阻害され，不等分裂では，この薬品によって分裂面の位置も影響を受ける。このことから，分裂準備帯形成過程は，幅広微小管帯形成による細胞内での分裂面の方向を固定する段階と，それが収束して最終的な分裂面の位置を決定する段階とからなっていると考えられる。不等分裂を行う細胞を分裂準備帯形成の前の時期にあらかじめ遠心処理で核を変位させておくと，分裂準備期に核の周りと不等分裂の正しい位置との２個所に微小管帯が形成される。このことは微小管帯形成が，核またはその近傍によって影響をうける場合と，核と無関係に形成される場合があることを示唆する。分裂準備帯が成熟した後二つの極を持つ紡錘体が完成する。この時期になると紡錘体の極と分裂準備帯を連結する微小管が観察される。そのため，この時期には，核がこの微小管によって支持されている可能性が考えられる。このことは，細胞を押し潰すとしばしば核に微小管帯が付随したかたちで分離できること(Wick and Duniec 1983)と，この時期，核を移動させるのに要する遠心力が大きくなることから支持される。現在知られているすべての分裂準備帯で，帯は紡錘体と垂直な位置を保っているとから，分裂準備帯が紡錘体形成にも重要な役割を行っている可能性も考えられる。このことはサイトカラシンで微小管帯を変形させた場合紡錘体形成が遅れるという結果からも支持できる。また不等分裂する細胞を遠心処理することによって二つの微小管帯を誘導する条件下では，前中期になると，核の周りの帯は消失するが核から離れた位置の帯は残る。現在，この微小管帯から紡錘体への微小管の転移と微小管帯にみられるcdc2キナーゼホモログとの関係について検討中である。

微小管帯は分裂中期までに完全に消失するが，細胞板はその位置を認識して正しく挿入される。そのため，微小管帯が存在している間に何らかの因子がここに貯えられ，後に細胞板を正しい位置に誘導すると考えられるが，まだその実体は不明である。我々の実験では，この分裂予定位置に貯えられる因子として，細胞板を正しい位置に導く因子だけでなく，その後の細胞板の成熟に関与するものもあることがわかった。

S1pA4

細胞壁構築における細胞骨格の役割

水田　俊、奥田一雄　（高知大・理・生物）

植物原形質膜におけるセルロースミクロフィブリル（ＭＦ）の形成方向が、個々の細胞質表層微小管（ＭＴ）により平行的に誘導されるという考えはすでに定着している。この場合、ＭＦとＭＴは常に平行配列をする。しかし、多核巨大細胞性緑藻（Boodlea,Chamaedoris,Valonia,Boergesenia, Chaetomorphaなど）では、ＭＦとＭＴは必ずしも平行ではなくＭＴ細胞骨格全体としてＭＦの配向を制御する。ここでは、ＭＦの直交配向を示すフィラメンタスな ①Boodlea, Chamaedoris, Chaetomorpha及び、ヘリコイド配向を示す②BoergeseniaにおけるＭＦ配向の制御について考察する。

①のプロトプラストが形成する細胞壁ＭＦ配向は、培養２h，６h，１２hでそれぞれランダム、ヘリコイド、直交変換を示す。その後、直交ＭＦの経線方向に成長が起こりＭＦは葉状体の軸に対して直交変換を繰り返す。一方ＭＴは２－６hでランダム、８－１０hで経線方向に配向し、明瞭な極分化を示す。成長は極性方向におこり、ＭＴは細胞長軸方向のみに配向する。この場合、ＭＦ配向がＭＴにより方向づけられるとは考えにくく、特定のＭＦパターンは全体としての細胞骨格により反映される。

①の葉状体を３μM アミプロフォスメチル（ＡＰＭ）で処理すると、ＭＴ密度は２hで半減し、この時ＭＦ配向は長軸に対し横のみとなる。このＭＴ密度は８hまで続き、ＭＦは横のままである。その後減少し、２４hで完全に消失する。この間、及び消失後のＭＦ配向はヘリコイドである。ＡＰＭ解除におけるＭＴ密度とＭＦ配向の関係もほぼ同様の傾向がみられる。このように、特定のＭＦ配向は細胞骨格を構成するＭＴ密度に依存する。

このようなＭＴ骨格とＭＦ配向を結ぶ接点についての解析はまだ不十分であるが、少なくとも原形質膜の流動性が関係することは間違いない。ＭＦ配向がヘリコイドである②のＭＴは、不動胞子期間中はすべてランダムで、成長した葉状体では長軸に配向する。その密度は一貫して低く、①におけるヘリコイド形成時の密度とほぼ等しい。フリーズエッチイング による原形質膜上のセルロース合成酵素複合体（ＴＣ）の周辺微細構造は、ＴＣが膜流動によりその移動方向の修正を受けると考えられる知見を与える。①にサイトカラシンＢ(10-20μM)を注入すると、ヘリコイド配向がランダム配向に変わる。ＭＦのヘリコイド配向を導く原形質膜の流動性にはＭＴ以外の細胞骨格が関係するのかも知れない。

S1pA5

原形質流動の機構：モーター分子であるミオシンの単離と解析

横田悦雄[1]、河野匡[2]、新免輝男[1]（姫路工大・理・生命[1]、東京ガス・フロンティアテクノロジー研究所[2]）

植物細胞において、膜系及び物質の輸送（原形質流動）には多くの場合アクチン－ミオシン系が関与していると考えられている。アクチンに関しては、抗体や蛍光試薬でラベルしたファロイジンを用いた蛍光染色法による細胞内局在、またアクチン繊維の脱重合剤であるサイトカラシンによる原形質流動の阻害実験など、形態学あるいは生理学的研究が様々な植物細胞で行われている。しかし原形質流動を担うモーター分子であるミオシンに関しては、全くわかっていないのが現状である。動物細胞あるいは粘菌等では、ミオシンが単離、精製され、生化学あるいは遺伝子レベルでの研究が進んでいる。その結果、細胞内にはミオシンＩとミオシンＩＩの２種のミオシンが存在すること、またそれらのミオシンの酵素的性質、あるいは細胞の移動、形態変化、細胞質分裂、細胞小器官の輸送等における役割が明らかにされつつある。我々は原形質流動を担う"植物"ミオシンの諸性質を分子レベルで解明する目的で、ユリ花粉管からミオシンの単離、精製を進めてきた。

花粉管から単離した細胞小器官を、車軸藻節間細胞のアクチン束上に加えると、ATP依存的に花粉管細胞小器官がアクチン束上を滑走した。更に滑りの方向が、本来車軸藻節間細胞内で観察される原形質流動の方向あるいは動物細胞由来のミオシンでコートしたビーズの滑走方向と同じであった。このことから花粉管内で起こる原形質流動にも、ミオシンがモーター分子として関与していることが明らかになった。このミオシン活性は、花粉管を低イオン強度溶液中で破砕することにより、可溶性画分に検出された。この粗抽出画分から、ローダミン-ファロイジンでラベルしたF-アクチンを用いた運動再構成系によりミオシンの運動活性を追いながら、花粉管ミオシンの精製を行った。ミオシンはATP依存的にF-アクチンに結合することが知られている。この性質を利用して、まず粗抽出画分にニワトリ胸筋から単離したF-アクチンを加え、F-アクチンに結合した成分をATPを含む溶液で抽出した。このATP抽出画分を、更にハイドロキシルアパタイトカラム、ゲルろ過カラムを用いて精製を行った。最終精製画分をSDS-PAGEにより分析した結果、ミオシン重鎖と考えられる分子量域には170-kDa成分のみが検出された。更に170-kDa成分に対する抗体を作製し、花粉管の全タンパク質に対しイムノブロッティングを行ったところ、170-kDa以上の分子量域に抗体と反応する成分は存在しなかった。これらの結果から170-kDa成分が花粉管ミオシンの重鎖であると結論した。この花粉管ミオシンのATPase活性は、ニワトリ胸筋から単離したF-アクチンにより数十倍活性化された。また運動再構成系により、花粉管ミオシンによるF-アクチンの滑り速度を解析した結果、速度は平均7.7 μm/secであり、花粉管内で観察される原形質流動の速度（平均6.7 μm/sec）とほぼ同じであった。

以上の結果から、170-kDa重鎖ミオシンが花粉管内の原形質流動の分子モーターであると思われる。

S1pA6

担子菌ヒトヨタケにおける細胞骨格の遺伝学的解析

鎌田　堯　（岡山大・理・生物）

担子菌ヒトヨタケは、その生活環の中で、細胞骨格が関係すると考えられる細胞学的過程を数多く示す。二核化における核移動や二核菌糸における対合分裂など担子菌特有の著しい核の運動、また子実体（キノコ）発生の際に見られる細胞生長の様式の大きな変化などがその例である。これらの過程は、オルガネラ運動や細胞形態形成における細胞骨格の働きを解析するための一つの優れたモデル・システムになりうると考えられる。我々は、ヒトヨタケにおける細胞骨格の構造と機能を研究するための一つの試みとして、微小管およびアクチン繊維の構造と機能に影響を及ぼす突然変異体を分離し、それらを遺伝学的、生化学的及び細胞学的に解析している。

微小管の構造と機能に影響を及ぼす変異体を得るために、抗微小管剤ベノミルに対する耐性変異体及びその遺伝子外抑制変異体を多数分離し遺伝分析を行った。その結果、微小管に関係すると考えられる６座の遺伝子、ＢＥＮＡ，ＢＥＮＢ，ＢＥＮＣ，ＢＥＮＤ，ＭＩＰＡ，ＭＩＰＢ，がみつかった。これら６座のうち、ＢＥＮＡおよびＢＥＮＣは、それぞれβ－チューブリン（β１）およびα－チューブリン（α１）の構造遺伝子であった。残る４座の遺伝子の産物は未だ同定されていない。また、ＢＥＮＡ，ＢＥＮＣを含むこれらの遺伝子座における変異は多面発現し、ベノミルに対する感受性を変化させると同時に、上記の核運動や細胞形態形成を阻害することがわかった。

アクチン繊維に関係する変異体を得るための一つの方法として、抗アクチン繊維剤サイトカラシンに対する耐性変異体を分離することが考えられる。しかし、調査したサイトカラシンはいずれも野生型株の生長を完全には抑制せず、サイトカラシン耐性変異体を野生型株から直接、誘発・分離することは困難であることがわかった。そこで、まずサイトカラシンに対する超感受性変異株を分離し、次にその変異株の遺伝子外抑制変異体を分離した。これまでに分析した抑制変異はすべて同一座におけるものであり，サイトカラシンＥに対して耐性を与えることがわかった。この遺伝子座における変異は多面発現し、サイトカラシンＥ耐性を与えると同時に、上記の核運動および菌糸細胞の隔壁（cross wall）の形成を阻止することがわかった。

S2aA1

ラン藻のCO_2濃縮機構

小川晃男（理研、太陽光科学）

ラン藻はCO_2濃縮機構（ＣＣＭ）を持っており、これによって細胞内に外部濃度の数百倍濃度の無機炭酸（$CO_2+HCO_3^-$，C_iと略す）を蓄積する。ラン藻のＣＣＭは光エネルギーによって駆動されるC_i輸送系とRubiscoを含むカルボキシソームとから構成されている。C_i輸送系は光化学系Ｉのみで駆動され、CO_2およびHCO_3^-ともに基質となるが、細胞質内にはHCO_3^-として到達する。 細胞質内に蓄積したHCO_3^-はカルボキシソームでカーボニックアンヒドラーゼ（ＣＡ）の作用でCO_2になりRubiscoによって固定される。最近、ラン藻のＣＣＭの分子生物学的解析が急速に進展した。これは形質転換可能な株、*Synechocystis* PCC6803と*Synechococcus* PCC7942、からのＣＣＭ欠損変異株単離と分析によって可能になった。ＣＣＭ欠損変異株には、１）C_i輸送体欠損株、２）エネルギー供給系欠損株、３）カルボキシソーム成分欠損株があり、いずれの変異株も低CO_2濃度下では生育出来ないが、高CO_2濃度下では野生株並に生育する。１）、２）の変異株は演者によって初めて単離され、３）の変異株は多くの研究者によって単離されており、それぞれの変異株について変異遺伝子がクローニングされている。２）については、RKa、RKb、M9、M55、M-ndhK、M-ndhCがあり、いずれもNAD(P)H dehydrogenaseのサブユニットをコードする遺伝子に欠損をもっている。RKbおよびM9は*ndhD*遺伝子に欠損がある。この遺伝子は８０個のアミノ酸からなる疎水性の蛋白質をコードしており、大腸菌で作らせたこの蛋白質に対する抗体はチラコイド膜とのみ反応する。 一方、この抗体はM55、M-ndhK、M-ndhC（それぞれ、*ndhB*, *ndhK*, *ndhC*遺伝子に変異をもつ）のチラコイド膜とはほとんど反応しない。C_i輸送は光化学系Ｉの環状型電子伝達によって駆動される。従って、NADH dehydrogenaseは光化学系Ｉ環状型電子伝達系の必須成分であると考えられる。１）については、最近単離した SC がある。この変異株は野生株と同程度のHCO_3^-輸送活性をもっているが、CO_2輸送活性は野生株の約１／３であった。SC変異株で変異している遺伝子は４５１個のアミノ酸から成る親水性の蛋白質をコードしている。この事はCO_2輸送は膜結合性トランスポーターによるものでは無い事を示唆している。３）の変異株はC_i輸送活性をもっており、高濃度のC_iを細胞内に取り込むが、細胞内に蓄積したC_iを光合成によって固定できない。これらの変異株はtypeIとtypeIIに分類され、typeIの変異株はいずもカルボキシソームが変形または消滅している。 *Synechococcus* PCC 7492のこの種の変異株については、*rbc*遺伝子の上流域の遺伝子群が変異をうけているが、*Synechocystis* PCC6803では相当する遺伝子はrbc遺伝子の近傍に無い。typeIIの変異株では ＣＡの遺伝子が変異している。 *Synechococcus* PCC7942ではこの遺伝子(*icfA*) は*rbcS*の約２０ｋｂｐ下流にある。typeIIの変異株ではカルボキシソームの形は正常であるがＣＡ活性は無い。

本講演では１）、２）の変異株を中心に３）の変異株およびそれらを用いた最新の研究を紹介する。

S2aA2

C_3植物の窒素栄養に対する光合成の応答とその制御機構

牧野　周　（東北大・農・応用生化）

C_3植物の単葉の光合成能力と窒素含量との間には高い正の相関関係が広く認められている。これは緑葉の全窒素含量の約80% が葉緑体の構成窒素に由来することによる。しかしながら、葉の窒素含量あたりの光飽和、大気条件下の光合成速度には有意な植物種間差が存在する。なかでもイネとコムギが最も高い光合成速度を示している。この種間差は、Rubisco への窒素分配量（葉の窒素含量あたりのRubisco 量）の違い、Rubisco の酵素的性質の違い、および気孔と葉内におけるCO_2 ガスの拡散抵抗の違いから定量的に説明される。例えばイネとコムギの場合、イネはコムギより窒素あたりのRubisco 含量が高く、また気孔伝導度も高いにもかかわらず、Rubisco の比活性が低いゆえ、結果として、葉身窒素あたりの光合成速度には差がなくなっていることが定量的に証明されている。

多くのC_3植物において、葉の窒素含量が増加すると、その窒素含量に対するクロロフィル量比や電子伝達活性比は一定であるのに、Rubisco 含量比のみが増加することがよく見出だされる。しかしながら、コムギにおいてのみ、そのような窒素に対するRubisco 量の特異的な増加は認められず、かわりにカーボニックアンヒドラーゼが著しく増加する。このような違いがあるにもかかわらず、ガス交換同化箱を用いた光合成速度の測定結果は、コムギを含めた多くの植物において、低CO_2 分圧の光合成速度と高CO_2 分圧の光合成速度の比が葉の窒素含量に影響されないことを示している。葉の窒素含量の変化に対するこのようなRubiscoとカーボニックアンヒドラーゼの異なる応答について、葉内でのCO_2 ガスの拡散の問題と生体内でのRubisco能力と他の光合成の律速因子とのバランスに関連して論議する。

S2aA3

リン酸欠乏が光合成に及ぼす影響

臼田秀明 (帝京大、医、化学)

土壌中におけるリン酸の欠乏は植物の成育を制限する大きな要因である。日本の水田のように長年の多肥により土壌中のリン酸含量が3.8%と高い値を示す所もあるが、熱帯アジアでは殆どゼロであるというように、地球全体を考えれば、リン酸施肥は今もって不可欠なものである。また、地球上に存在するリン酸資源は今後の400年に必要なリン酸肥料に匹敵するだけと言われている。自然界に於けるリン酸の循環が、炭素、水素、酸素、窒素と較べると大変長く、数百万年かかると言われていることを考慮すると、リン酸資源を有効に利用し、リン酸による環境汚染をも防ぐということは人類の大きな責務である。

このような訳で、植物が、リン酸欠乏にどのような戦略を立てて、適応しているかを理解することは大変重要な研究テーマである。更に、植物がどのように濃度勾配に逆らってリン酸を取り込むのか、また、外界のリン酸欠乏をいかに感知しているかなど未解明の興味ある問題も山積している。

ここでは、<A> 植物のリン酸欠乏に対する多様な適応の仕方 ((i)ホスファターゼやリボヌクレアーゼの誘導により体内及び土壌中のリン酸化合物の分解によりリン酸を得る、ii)新たな代謝系の誘導により低リン酸濃度に適応する、iii)緩慢な生長により葉内のリン酸濃度の低下を防止する、iv)下位葉の老化促進により、上位葉へのリン酸供給を高める等)について, <B>リン酸欠乏の光合成(例えば、RuBPの再生速度やRuBPの炭酸固定反応)に及ぼす影響について、また、<C> 細胞内のリン酸濃度が直接あるいは、間接に酵素活性に及ぼす影響などについての最近の研究を紹介する。

S2aA4

Source-sinkアンバランスによる光合成炭素代謝の調節

沢田 信一 （弘前大学・理・生物）

我々はダイズ初生葉の葉柄の基部に発根させて、source器官としての一枚の葉とsink器官が根系だけからなる光合成source-sinkモデル植物を開発した。このモデル植物を用いて，source-sink調節機構について研究を行なってきた。

モデル植物を連続照明下で、sink-limit条件にすることによって、光合成のend-product inhibitionが認められた。この光合成のend-product inhibitionはchloroplastに蓄積したstarchよりもむしろ細胞質に蓄積したsucroseとより直接的な関係が認められた。

Sink-limit葉のRuBP量はcontrol葉に比べて4.6倍に増加したが、PGA量は低下した。また、sink-limit葉ではsucroseが蓄積した為に、炭酸固定からsucrose合成経路に懸けての中間代謝産物である糖リン酸やヌクレオチドなどのリン酸エステルが大量に蓄積し,この為にchloroplastおよびcytosol中のPi量が低下したと考えられる。

Sink-limit葉の光合成CO_2固定速度の低下はRuBPcaseの不活性化に起因していた。この不活性化したRuBPcaseはNa_2HPO_4と$MgCl_2$を含む溶液で、CO_2が無くても、活性化することが明らかになった。

ゲル濾過よってCO_2とMg^{2+}を除去し、不活性化したRuBPcase粗酵素のリン酸による活性化に要する時間は約5分であり、完全な活性化に必要なリン酸濃度は約5mMであった。そして、リン酸によって活性化した酵素活性はCO_2によって活性化した場合と同じであった。また、活性化したこの粗酵素からPiを除去による不活性化と不活性化した酵素へのPi付加による活性化は完全な可逆性が認められた。

葉中の無機リン酸と全リン酸の定量結果から、sink-limit葉中の無機リン酸量の低下は、主として、エステル化リン酸量の増加によることが認められた。また、計算されたsink-limit葉中の活性化リン酸濃度は約3 mMであった。

以上の結果から、sink-limit条件下に置かれた植物においては、RuBPcase活性の調節にリン酸が重要な役割を持っていると考えられる。

S2aA5

水ストレス下における光合成

平沢　正，石原　邦　（東京農工大・農）

植物の葉の光合成速度は土壌水分が低下すると減少するが，土壌水分が十分にあっても蒸散の著しく多い条件では減少することがある。このような光合成速度の減少は，葉内水分の低下を通じて，あるいは葉内水分が減少しなくても空気湿度の低下によっておこる。葉内水分が減少したり，空気湿度が低下した時には気孔が閉じ，葉内へのCO_2の供給が減少するとともに，葉緑体の光合成活性も影響を受ける。水ストレス下における光合成速度の減少に対して，気孔の閉鎖と葉の光合成活性の低下のいずれがもっとも大きく関与しているかを明らかにすることは水ストレス下でも光合成速度を高く維持できる植物育成の基礎として重要である。

気孔の閉鎖と葉の光合成活性の低下の光合成速度に及ぼす影響の相互関係は，同化箱法で光合成速度，気孔伝導度を測定し，葉内のCO_2濃度（Ｃｉ）を求めることを通じて検討され，さらに、みかけの光量子収量あるいはみかけの炭酸固定効率の測定を通じて追究されてきた。その結果、(i) 空気湿度の低下によっておこる光合成速度減少の主たる要因は気孔が閉じることにある；(ii)葉の水ポテンシャルの低下によっておこる光合成速度減少の主たる要因は、水ポテンシャルの比較的高い葉では気孔が閉じることにあり、植物の種類によって異なるが，水ポテンシャルが -0.5 ～ -1.0 MPa 以下に低下した葉では葉の光合成活性の低下にある；ことなどが明らかにされてきた。

最近葉身内の気孔の閉鎖程度が均一でないことが指摘された。これを生育条件に着目して検討したところ，空気湿度の高いファイトトロンに生育したヒマワリの葉に アブシジン酸（ABA）を処理すると，気孔閉鎖は不均一（パッチ状）におこったが，野外に生育したヒマワリでは不均一な気孔閉鎖は認められなかった。このような気孔閉鎖の不均一がＣｉ，光合成速度，拡散伝導度の関係に及ぼす影響を検討した。Ｃｉと光合成速度の関係は，均一に気孔が閉じる野外に生育したヒマワリでは ABA処理によっても変化しないが，気孔閉鎖が不均一におこるファイトトロンに生育したヒマワリでは ABA処理によってＣｉが等しくても光合成速度は低くなった。拡散伝導度と光合成速度の関係にも両ヒマワリの間に明らかな相違があった。以上の結果は気孔の閉鎖程度が均一でない葉ではＣｉを著しく過大評価されることを示している。

つぎに，水ストレス下で気孔閉鎖の不均一がおこるか否かを，灌水を停止し，土壌水分を減少させて検討した。種々の葉内水分においても両ヒマワリともパッチ状の不均一な気孔閉鎖は認められなかった。したがって，拡散伝導度と光合成速度との関係には相違がなく，Ｃｉも過大評価されることはなかった。以上の結果から，土壌水分が減少しておこる水ストレス下では生育条件に関係なく従来の方法でＣｉを求めることができることがわかった。

光合成速度に大きく影響する気孔の開閉の水ストレスに対する反応は植物の種によって大きく異なり，一般にイネ科植物は双子葉植物に比較して葉の水ポテンシャルの低下に対して気孔の反応が敏感である。水ストレスに対する気孔反応の種間差に関わる要因の検討が今後必要と考える。

S2aA6

光合成系の環境応答が適応的であるのはどういう場合か
――生態学の立場から

彦坂幸毅，寺島一郎，加藤　栄（東京大・理・植物）

植物の葉や葉緑体の光合成特性は，生育する環境条件によって異なっている．たとえ同種の植物でも，異なる環境条件下で栽培すると，光合成系に変化が生じる場合が多い．しかし，生育環境の変化に応じておこる光合成系の変化が，全て適応的であるとは限らない．いったいどのような場合に適応的であると言えるのだろうか．

「順化」や「適応」と言う言葉は，生理学の分野でもよく使われている．順化とは，生育環境に対する主として生理学的応答の変化，habituation，を言う．一方，適応は，広義には順化の意味も含み得るが，（進化）生態学において用いる場合には，遺伝する，その個体の適応度（次世代の遺伝子プールへの貢献）を大きくする性質を意味する．したがって，その個体の適応度の上昇に貢献する性質以外は，適応的であるとは言えない．

ところが，光合成系の変化と適応度との関係を求めることは，実際にはかなり難しい．したがって生理生態学の分野では，ある形質の個体の適応度への貢献を測定するかわりに，その形質をもつためにかかるコストと，その形質による利益（ベネフィット）を物質経済学的に検討することが多い．

本講演の前半では，物質経済学的アプローチをとった研究例として，

1）水利用効率を最大にするための光合成にともなう気孔開度の制御
Cowan IR (1982) Encycl. Plant Physiol. Vol 12A, pp.589-613. Springer, Berlin

2）葉緑体の光環境への順化
Terashima I and Evans JR (1988) PCP 29:143-155
Evans JR and Seemann JR (1989) Briggs WR ed. Photosynthesis, pp.183-205, Alan R. Liss, New York
Hikosaka K, Terashima I and Katoh S 投稿準備中

3）植物群落内部の光環境と光合成活性の分布
Hirose T and Werger WJA (1987ab) Physiol Pl 70: 215-222, Oecologia 72:520-526

を紹介する．

3）の研究によって，群落の光合成系の構造が，光や窒素栄養の利用に関して効率よいものであることが明らかになった．しかし，群落光合成系の形成には，光，老化，窒素栄養などの要因が複雑に絡み合っている．これまで，これらの要因が群落の光合成系形成に果たす役割は明確ではなかった．われわれは，アメリカアサガオ（Ipomoea tricolor Cav.）を水平なネットの上に栽培し，各葉の光環境を制御できる系を用いた実験を行い，これらの要因の群落光合成系形成への効果を分離することに成功した．本講演の後半では，この研究の結果を紹介したい．

Hikosaka K, Okada K, Terashima I and Katoh S (1993) Yamamoto, H. ed. Photosynthetic responses to the environment, Amer Soc Pl Physiol, 印刷中.

S3aA1

ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942 の硝酸同化とその調節機構

小俣達男（名古屋大・農・農化）

高等植物、藻類、ラン藻などの光合成細胞における NO_3^-の吸収、還元、同化は、光合成電子伝達反応から供給される還元力とATPによって駆動される光合成過程であり、NO_3^-の供給速度や還元型窒素源である NH_4^+によって制御されるだけでなく、光条件やCO_2の固定速度に応じて調節されている。したがって硝酸同化系の全構成成分を明らかにし、それらの活性調節の機構を解明することは、光独立栄養細胞の代謝の特質を明らかにする上で重要な課題である。本講演では、演者らの研究結果を中心に、ラン藻の硝酸同化に関わる遺伝子群とその発現制御、および post translational な硝酸同化活性の調節についての研究の現状を紹介する。

硝酸同化反応は(1) NO_3^-の細胞内への取り込み、(2) NO_3^-の NO_2 への還元、(3) NO_2^-の NH_4^+への還元、および(4) NH_4^+のグルタミンへの固定、の４段階から成っている。(2), (4)をそれぞれ触媒する硝酸還元酵素とグルタミン合成酵素の遺伝子（*narB* と *glnA*）は既にクローン化されていたので、演者らは(1)のNO_3^-能動輸送体をコードする４つの遺伝子（*nrtABCD*）と(3)の亜硝酸還元酵素遺伝子（*nirA*）を同定、クローン化し、ラン藻の NO_3^-輸送体が生物界に広く分布するABC（ATP-Binding Cassette）型輸送体の一つであること、ラン藻の亜硝酸還元酵素が高等植物葉緑体のものと相同であること、およびこれらの遺伝子が *narB* とともに *nirA-nrtABCD-narB* の順でオペロン（*nirA* オペロン）を構成していることを明らかにした。

ラン藻の硝酸同化系の発現は NH_4^+の添加によって抑制されるが、我々はこれが *nirA* オペロンの転写の阻害によるものであることを確認した。一方、アンモニアのグルタミンへの固定を MSX で阻害すると *nirA* オペロンの転写は活性化された。転写の阻害、促進を誘導する最初のシグナルの同定はこれからの課題であるが、細胞内グルタミン濃度がNH_4^+添加によって速やかに上昇し、MSX 添加によって低下するので（鈴木石根他、本学会）、これが *nirA* オペロンの転写調節に関わっている可能性がある。*nirA* オペロンの転写調節因子として *ntcA* (Vega-Palas et al.) が関与しているのは確実であるが、*glnB* (Tsinoremas et al.) の関与の有無は不明である。また、これらとは別に、演者らは *nirA* オペロンのさらに上流域からこのオペロンの発現調節に関わる可能性の高い遺伝子を２つクローン化している（堀江宣行他、本学会）。

硝酸還元系が発現し、NO_3^-を還元、同化して生育しているラン藻細胞を炭素源の欠乏条件下に置いたり、あるいはNH_4^+を添加して窒素過剰の状態にすると硝酸還元反応は直ちに停止する。これは NO_3^-輸送体の活性の阻害によるものと推定されているが、NO_3^-輸送体のサブユニットの一つであるNrtCは他のABC型輸送体のサブユニットには例のない約400アミノ酸残基からなるC末端ドメインを有しており、この部分がこのような活性調節に関与している可能性がある。

S3aA2

活性酸素解毒系酵素を強化した形質転換植物の開発

田中　浄、青野光子、久保明弘、佐治　光、近藤矩朗
（国立環境研究所）

植物が光合成をする過程で強い毒性種である活性酸素の生成は避けられない。植物は活性酸素毒性から自己防御するために巧妙な解毒系を駆使して、正常な生命活動を営んでいる。しかし、植物が水欠乏、低温凍結、栄養塩の過剰・欠乏、紫外線、大気汚染といった容易に遭遇するような環境ストレスを受けると活性酸素の毒性で最悪な場合は枯死する。私達は二酸化硫黄の植物傷害について研究を進めてきた。二酸化硫黄に接触した植物は直ちに光合成阻害を受け、最終的に色素分解を受け枯死するが、これらの傷害は活性酸素により引き起こされることを証明した。また、低濃度二酸化硫黄により活性酸素防御系酵素が誘導され、これが二酸化硫黄抵抗性と関係していることも明らかにした。活性酸素解毒系酵素を遺伝子工学的に強化した植物は大気汚染浄化に役立つと考え、主にグルタチオン(GR)還元酵素に関する形質転換植物の開発を行った。

植物のGRの遺伝子は構造解析がまだ十分に進んでいないので、今回は大腸菌のGR遺伝子を入手しタバコに導入した。これらの形質転換体と子孫において、大腸菌GRが存在していること、GR活性が対照に比べて明らかに高いことを確認した。この形質転換体は細胞質で大腸菌GRを発現していることを確認した。次にGRを葉緑体で発現させるためにGR遺伝子にマンテマ・フェレドキシンのトランジットペプチド遺伝子を連結しタバコに導入した。この形質転換体は確かに葉緑体で大腸菌GRを発現していることを確認した。これら形質転換植物の二酸化硫黄やパラコート抵抗性を調べた時に明らかに対照植物よりも高いことを確認した。意外なことに、GRを細胞質で発現させた植物も葉緑体で発現させた植物も二酸化硫黄やパラコートに対する抵抗性に差は認められなかった。オゾンによる植物傷害にも活性酸素が関係していると考えられてきたが、ここで開発した形質転換植物はオゾン耐性を示さなかった。二酸化硫黄とオゾンの植物に対する毒性は異なると思われる。

S3aA3

葉緑体形質転換法によるクラミドモナス光合成遺伝子の機能の解析

高橋裕一郎（岡山大・自然科学研究科）

単細胞の緑藻クラミドモナス（Chlamydomonas reinhardtii）は従属栄養的に生育するため光合成に関する変異株が数多く単離され、その生化学、遺伝学、分子遺伝学的解析が詳細に行なわれてきた。最近、Boyntonら（1988）は、粒子銃を利用したクラミドモナス葉緑体の形質転換について報告し、導入されたＤＮＡは相同組み替えにより葉緑体ゲノムに組み込まれるため、葉緑体遺伝子を特異的に形質転換できることが示された。葉緑体ゲノムにはいくつもの重要な機能を持つ光合成遺伝子がコードされ、またその機能が明らかにされていない多くの遺伝子やORFも存在する。これらの問題を研究するため、葉緑体形質転換は有効な手法の一つであると考えられる。

葉緑体形質転換にはいくつかの選択マーカーが用いられているが、ここではGoldschmidt-Clermont（1991）が開発したストレプトマイシン／スペクチニマイシン耐性カセット（aadAカセット）を選択マーカーとして用いて、クラミドモナスの葉緑体光合成遺伝子を挿入失活させた形質転換株の作成と葉緑体タンパク質工学による光合成タンパクの改変について報告する。

1　葉緑体遺伝子の挿入失活

系１反応中心の２つの鉄硫黄中心AとBを結合するタンパクをコードするpsaC遺伝子とその下流に存在し共転写される２つの読み取り枠ORF58とORF43をそれぞれ選択マーカーで挿入失活させた形質転換株を野生株より作成し、それらの光合成に対する役割を中心に調べた。鉄硫黄タンパクを失活させると系１の活性が失われ、さらに反応中心複合体も不安定になり、このタンパクは系１の活性だけでなく複合体の安定性の維持にも必須であることが示された。ORF58は光合成活性には必要ないが、タバコ、イネ、コケにも相同な読み取り枠が存在するORF43を失活させると細胞の光合成的生育速度は野生株の半分に低下した。

一方、系２反応中心にゆるく結合する小型の膜タンパクをコードするpsbK遺伝子を挿入失活させた形質転換株は、光合成的にほとんど生育しなかった。ラン色細菌の同様の形質転換株は、光合成的によく生育することから、クラミドモナスではこのタンパクがより重要な役割を果たしているのかもしれない。

2　葉緑体タンパク質工学

タンパクの機能をアミノ酸レベルでの構造と関連させて論じるためには、そのタンパクの特定のアミノ酸を置換する方法が有効である。２つの鉄硫黄中心AとBの機能を解析するために、psaC遺伝子へ部位特異的突然変異を導入し、鉄硫黄中心を結合するシステインを置換した形質転換株を作成した。ここでは選択マーカーはpsaC遺伝子の上流に挿入した。得られた形質転換株は、光合成的に生育できず、系１活性が特異的に失活していることから、鉄硫黄中心を結合するシステインは系１活性に重要であることが示された。

S3aA4

葉緑体局在型グルタミン合成酵素による光呼吸経路の調節と光障害の回避機構

竹葉　剛、木崎暁子[1]（京都府大・生科、[1]京大・農）

光呼吸は、植物（特にＣ３植物）が、強光・低CO_2・高O_2条件のもとで、RubisCOの oxygenase 作用により生成するＣ２化合物の代謝であり、光合成の効率を下げるもの、として、一般には理解されてきた。ところが、光呼吸の起こる条件下で光呼吸経路を止めるかまたは制限すると、植物は非常に光障害を受けやすくなる、ことが明らかになってきた。

グルタミン合成酵素には、細胞質に存在するＧＳ１と、葉緑体（プラスチド）に局在するＧＳ２との、二つのアイソザイムが知られているが、このうち、ＧＳ２は、硝酸還元系で生成するアンモニアを同化する役割と共に、光呼吸経路において、グリオキシル酸のアミノ基のドナー（Glu、Ala）を供給すること、グリシンから遊離するアンモニアを同化すること、の役割をもち、光呼吸経路の重要な key enzyme の一つである。ＧＳの活性阻害剤である methionine sulfoximine (MSO) をタバコの葉切片に与えて、光を照射すると、強光下では２日ほどで、葉は褐変し、細胞は死滅する。MSO を与えても暗黒においたものや、水対照区のものは、もとの緑色のままである。

MSO を与え、ＧＳ２活性を止めると、上記理由により、光呼吸経路は回転しなくなるが、その結果、比較的すみやかに、photoinhibition が観察される。この状態が一定時間続けば、光障害、すなわち、光合成装置の破壊が進行する。MSO を与えなくても、通常のタバコ葉に強光を連続して照射すると、組織内に次第にアンモニアが蓄積してくるので、ＧＳ２活性が制限となっていることがわかる。演者らは、イネＧＳ２遺伝子のプロモーターが、アンモニアにより発現調節を受けていることを見い出しているが、光呼吸条件下でアンモニアが蓄積することが、ＧＳ２遺伝子の発現が光呼吸条件下で促進されることの分子機構ではないか、と考えている。

光呼吸は、RubisCO の carboxylase 反応と oxygenase 反応とが、同じ活性中心で触媒されていること、Ｃ３植物の葉肉細胞内のCO_2濃度（約８μM）が、RubisCOのKm（10-20 μM）より低く、一方、O_2濃度（約 250 μM）は、oxygenase 反応の Km （100-200 μM）より高いこと、のために、避けることのできない過程であり、特に強光時や、乾燥で気孔が閉じたときには、CO_2濃度が非常に低下するので、oxygenase 反応、すなわち光呼吸が強くなる。もし光呼吸経路が制限されると、photoinhibition さらには光障害へと進行するので、光呼吸能が高い方が光障害耐性が高いともいえる。

もし、光呼吸経路が光障害を避ける機構として機能しており、その光呼吸経路の key enzymeの一つがＧＳ２であるならば、ＧＳ２を増強すれば、それだけ光障害に耐性となる、ことが期待される。本報告では、イネＧＳ２ cDNA でタバコを形質転換した結果について、報告する。

S3aA5

トウモロコシC4型PEPカルボキシラーゼ遺伝子のタバコへの導入とその解析

土岐精一, 小神浩幸, 庄野真理子[1], 小池孝良[2], 柳沢修一[3], 泉井桂[4], 内宮博文[5]（北大. 理. 植物, [1]筑波大. 生物, [2]森林総研. 北海道支所, [3]大阪市大. 理. 生物, [4]京大. 農. 応用植物, [5]東大. 応微研）

C3植物の光呼吸を減少させ光合成能を高めることは、農業上大きな課題である。このための分子育種学的アプローチとしてC3植物にC4型光合成に必要な酵素を導入してCO_2の固定能を高めることが考えられる。しかしながらクランツ構造を持たないC3植物にC4光合成の酵素を導入した場合C4型の光合成が行なわれるか否かは未知である。一方、最近C3型植物であるイネにおいても穂では、C4型の光合成が営まれているという報告がなされている。このような状況のもとに我々は、トウモロコシのC4型PEPC遺伝子（フォスフォエノールピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子、Izuiら、1986）をCaMV(カリフラワーモザイクウイルス）35Sプロモーターに接続したキメラ遺伝子をC3型植物であるタバコに導入する試みを行なっている。

これまでの研究の結果、導入されたキメラ遺伝子は安定に後代に遺伝し、又転写産物翻訳産物共に確認された。PEPCの酵素活性は1.5倍－2倍に上昇しており、反応速度論的解析からもK_mの低いタバコPEPC由来（内生）と思われる活性とK_mの高いトウモロコシPEPC由来と思われる活性が見いだされた。また、光補償点、光飽和点、CO_2補償点に関しては、形質転換体とコントロールの間で顕著な差異は見いだせなかった。

現在、光合成特性に関しては、さらに詳細な解析を行なうと共に、温度、CO_2条件を変化させた場合の生育反応についても調査している。又リンゴ酸、アスパラギン酸の定量を行なっている。これらの結果よりC4型PEPCの形質転換体に与える影響について論議したい。

一般講演

第１日　３月２９日（月）

一般講演

第１日　３月２９日（月）　午前の部

Ａ 会場　　分子生物学（１）
Ｂ 会場　　分子生物学（２）
Ｃ 会場　　ストレス（１）
Ｄ 会場　　光合成（１）
Ｅ 会場　　代謝（１）
Ｆ 会場　　オルガネラ（１）
Ｇ 会場　　植物・微生物相互作用

1aA01

毛根誘発菌*Agrobacterium rhizogenes* の VirA, VirG タンパク質によるシグナル伝達と転写誘導機構

遠藤英樹、青山卓史、岡　穆宏　（京都大学 化学研究所）

毛根誘発菌の病原性は植物シグナルによる *vir* 遺伝子群の誘導に起因する。この*vir* 遺伝子群の発現は二成分制御系(Two-component regulatory system)に属するVirA（センサータンパク質）とVirG（転写因子）によって制御されている。VirA は植物シグナルを認識して自己燐酸化され、その燐酸基が VirG に伝達される。VirA 分子中には燐酸化に必要なキナーゼドメイン以外に、他のセンサータンパク質群には存在しない転写因子の燐酸基受容ドメイン様の領域（VGLドメイン）が存在する。VGLドメインの機能を明らかにするために、この領域に変異を導入し *in vivo* および *in vitro* でその影響を調べた。その結果、VGLドメインの変異は、毛根誘発菌の病原性を低下させること、VirA の自己燐酸化反応はほとんど影響を受けないが、VirA からVirGへの燐酸転移反応の効率が低下すること、さらにVGL領域に燐酸基の転移が起こり得ることが分かった。これらの事実から、この領域の機能と作用機構についてのモデルを提出する。

一方VirGの燐酸基の有無による機能の違いを調べるためにVirGにより誘導される*in vitro* 転写系を構築した。中性反応条件下ではVirGの燐酸基の有無による差は顕著でないが、酸性条件下では燐酸化されたVirGの方が高い*vir* 転写誘導活性を示した。また*vir* プロモーター領域への親和性も燐酸化されたVirGの方が高かった。これらの結果は毛根誘発菌内での*vir* 遺伝子群の誘導が酸性条件化でのみ起こることと合致している。

1aA02

タバコ培養細胞における防御遺伝子の発現制御機構

鈴木　肇、福田　裕二、進士　秀明（工技院、生命工学研、植物分子生物）

植物は、傷害や微生物の侵入に際してその情報を植物細胞が感知し、防御遺伝子を発現して対抗している。我々はタバコ培養細胞を用いて、防御遺伝子の発現誘導機構を解析している。酸性キチナーゼ遺伝子、塩基性キチナーゼ遺伝子およびグルカナーゼ遺伝子、さらにシキミ酸経路の鍵酵素であるＤＡＨＰ（３－デオキシ－Ｄ－アラビノ-ヘプツロソン酸　７－リン酸）合成酵素遺伝子は、*Phytophthora infestans*由来のエリシターによって発現が誘導されるが、各遺伝子ごとに発現誘導のタイムコースに違いがみられる。これら防御遺伝子の発現誘導のシグナル伝達機構を解析したところ、その誘導はカルシウムチャンネルブロッカーやびプロテインキナーゼ阻害剤の添加によって低下した。また、ＤＡＨＰ合成酵素は、エリシターだけでなく傷害反応の細胞内伝達物質と考えられているメチルジャスモン酸によっても誘導された。それに対してキチナーゼとグルカナーゼではメチルジャスモン酸による発現の誘導はみられなかった。得られた結果を元にこれら防御遺伝子の発現を制御するシグナル伝達機構について考察する。

1aA03

ISOLATION OF *ARABIDOPSIS* MUTANTS THAT ARE DEFICIENT IN PHYTOCHROME A

Akira NAGATANI, Jason W. REED[1], Joanne CHORY[1], Frontier Research Program, Riken Institute, Wako 356, [1]Plant Biology Laboratory, The Salk Institute, San Diego, CA 92186-5800

Phytochrome is a photoreceptor protein, which mediates various photomorphogenic responses of plants to light. Recent biochemical and molecular biological studies have demonstrated that phytochrome is encoded by a small gene family. Among the members of the family, the *phyA* gene encodes phytochrome A (phyA), which is the predominant species in etiolated tissue and has been best-characterized in terms of its biochemistry. To define a role for phyA, we isolated new mutants in *Arabidopsis* that were deficient in accumulation of phyA polypeptide. We screened for long hypocotyl mutants among EMS-mutagenized M2 seeds under continuous far-red light and obtained 14 independent long hypocotyl lines. The phenotype was restored with biliverdin, a precursor of phytochrome chromophore, in 7 of the 14 lines, suggesting that these are among the already characterized long hypocotyl mutants of *Arabidopsis*. In contrast, the phenotype was biliverdin-independent in the other seven lines. Immunoblot analysis with phyA-specific antibody demonstrated that phyA polypeptide was not detectable in two of three lines examined. In contrast, the level of phyB was normal in these mutants. We further found that these two mutations were recessive, and that they failed to complement each other. Mapping of these mutations against the *phyA* gene is in progress.

1aA04

PHYTOCHROME RESPONSES OF *ARABIDOPSIS* MUTANTS THAT ARE DEFICIENT IN PHYTOCHROME A

Akira NAGATANI, Jason W. REED[1], Joanne CHORY[1], Frontier Research Program, Riken Institute, Wako 356, [1]Plant Biology Laboratory, The Salk Institute, San Diego, CA 92186-5800

Several phytochrome responses in the new *Arabidopsis* mutants that are deficient in phytochrome A (phyA) were compared with those in the *hy3* mutant, which was recently shown to be a null mutation of the phyB gene (JWR, P. Nagpal, D. S. Poole, M. Furuya, JC, unpublished). Although the new phyA-deficient mutants were isolated on the basis of long hypocotyl phenotype under continuous far-red light, the seedlings grown under white light were as short as those of the wild type. The response of the mutants to continuous red light for the inhibition of hypocotyl elongation was quite normal within a range of 10^{-3} to 10 W/m^2, whereas the *hy3* mutant did not show significant response under the same conditions. The new mutants responded to the end-of-day far-red light (EOD-FR) light treatments for promotion of hypocotyl elongation as well, whereas the response was missing in the *hy3* mutant. Thus, these hypocotyl responses appear to be under control of phyB but not phyA. We further examined the greening responses in these mutants. The phyA mutants lost the ability to de-etiolate after less time in the dark than the wild type. However, a red light pulse given prior to the transfer of the etiolated seedlings to white light potentiated the subsequent accumulation of chlorophyll as has been reported both in the *hy3* mutant and the wild type.

1aA05

フィトクロムBによるアラビドプシス種子の暗発芽の制御

篠村知子、長谷あきら[1]、Joanne Chory[2]、古谷雅樹　(日立・基礎研、[1]理研・フロンテイア、[2]The Salk Institute)

アラビドプシス野生株のゲノムには少なくとも3種類のフィトクロム遺伝子が存在する(Sharrock & Quail,1989)。本研究の目的は、いずれのフィトクロム分子種が種子発芽にどのように関与するか解明することにある。最近、*hy3*変異体が*phyB*遺伝子座の変異であり、いくつかの系統はnull mutantであることが塩基配列解析より明らかになった(Reed et al.,1992)ので、これを用いてまず暗発芽についてフィトクロムの役割を調べた。暗所で吸水させた野生株種子の発芽率は、種子採取時の光条件により30-60%であったのに対し、*hy3*では5%以下であった。暗所で1時間吸水させた種子に赤色光あるいは近赤外光を5分間照射した後、再び暗所におくと、野生株は赤色光照射で約90%、近赤外光照射で約3%の発芽率を示し、その反応は光可逆的であった。これに対し、*hy3*はいずれの光照射処理でも5%以下の発芽率であった。同様の実験を、暗所で脱黄化する変異体*det1* (Chory et al.,1989)と*det1/hy3*ダブルミュータント(Chory, 1992)で行なった。前者は以前報告されていた結果とは異なり、光可逆的な発芽反応を示したが、後者は*hy3*と同様、光可逆的な発芽反応は認められなかった。これらの結果から、1) アラビドプシス種子の暗発芽率はPhyBの制御下にあり、2) 種子が形成され乾燥する間に生じたPhyBのPfrは、種子の休眠中もPfrのまま保存され、種子が吸水すると暗所でも発芽を誘導させるシグナルを発し、3) そのシグナル伝達経路はDET1の介在する経路とは独立していることが明らかになった。

1aA06

ニチニチソウ同調培養系における植物サイクリン遺伝子の細胞周期特異的発現

伊藤正樹[1]、大野剛義、坂部みどり、木下和久、畑信吾[2]、河内宏[2]、橋本純治[2]、駒嶺穆　(東北大・理・生物、[1](現)名古屋大・農・生化学制御、[2]農水省・生物研)

近年、酵母における細胞周期の特定の時期の進行にかかわる遺伝子が数多く単離、同定されている。その中でM期の開始に必須である分裂酵母の*cdc2*$^+$遺伝子産物は、広い範囲の真核生物において、その相同遺伝子が同定されており、近年、高等植物からの*cdc2*$^+$ホモローグの単離が相次いで報告された。また、この*cdc2*$^+$遺伝子産物の活性化にはサイクリンとの複合体形成が必要とされる。一般に、サイクリンは細胞周期中で量的に変動し、*cdc2*キナーゼ活性を制御していることが示されている。最近、ニンジンおよびダイズからサイクリンホモローグの単離が報告された。演者らは、ニンジンおよびダイズのサイクリンのcDNAをプローブとしてニチニチソウのcDNAライブラリーから二種のサイクリンcDNAを得た。塩基配列から予想されるアミノ酸配列は、酵母など他の生物種のG2サイクリンと高い相同性を示すが、A型およびB型サイクリンに区別することは困難であった。また、得られた二種のニチニチソウサイクリンのmRNAレベルの細胞周期進行に伴う変動を同調培養系を用いて解析した。

1aA07

タバコのサイクリンcDNAの単離

関根政実、播口徳充、河内宏[1]、新名惇彦　(阪大・工・応用生物、[1]農水省・生物資源研)

真核細胞の細胞周期においてcdc2キナーゼとその関連タンパクが中心的な役割を果たすことが判明し、細胞周期の制御機構に関する理解が急速に進展してきた。これらのcdkファミリータンパクはセリン/スレオニンキナーゼ活性を有し、サイクリンと複合体を作ることによってその活性が制御されている。すなわち、G1サイクリンと共役してG1/S期の移行を制御し、G2サイクリンとの共役によりG2/M期の移行が制御されている。この制御機構はあらゆる真核細胞で共通の機構と考えられており、植物でも最近これらの細胞周期関連遺伝子が単離されたが、詳細な解析は行われていない。本研究では植物細胞における細胞周期の制御機構を解明することを目的として、タバコ(Nicotiana tabacum)からサイクリンcDNAの単離を試みた。まず、サイクリンボックスと呼ばれる保存領域内に1組のオリゴヌクレオチドプライマーを合成し、タバコ茎頂組織のcDNAを用いたPCRにより増幅されたDNA断片の塩基配列を決定した結果、4グループに分類された。各グループのDNA断片をプローブにしてcDNAライブラリーをスクリーニングした結果、3つのグループからcDNAが単離された。そのうちの1つ、Ntcyc29は全長約1.7kbで、473アミノ酸残基からなるタンパク質をコードし、ダイズのサイクリン(S13-6)とアミノ酸レベルで54%の相同性を示すことが解った。現在、酵母の変異株を用いた機能解析を行っている。

1aA08

カゼインキナーゼII(CK-II)によってリン酸化される葉緑体DNA結合性polypeptide (p34)の生化学的特徴

金勝一樹，道家建二郎，大槻健蔵[1]
(北里大·教養·生物，[1]衛生·遺伝生化)

前本学会(熊本1992)において，細胞増殖の誘導制御に重要な生理的役割を演じているカゼインキナーゼ(CK-II)と，その特異基質である分子量34kDaのpolypeptide(p34)が，植物種に共通して葉緑体画分に検出されることを報告した。そこで今回，葉緑体の生理機能調節におけるCK-IIおよびp34の生理的役割を明らかにする目的で本研究を行った。ホウレンソウの葉緑体(約200g)より1.0MKClを含む緩衝液(pH7.4)で抽出されるCK-IIおよびp34は，各種カラムクロマトグラフィーおよびHPLCによって高度に精製された。葉緑体CK-IIは，Superdex 200pgゲル濾過によりmononericなα型CK-II(40kDa)とholoenzymeである$\alpha_2\beta_2$型CK-II(150kDa)に分離された。葉緑体における総CK-II活性の約90%はα型CK-II活性であった。さらにp34は，①monomerであること，②α型および$\alpha_2\beta_2$型CK-IIによりリン酸化されること，③CK-II以外のキナーゼによって全くリン酸化されないこと，④DNA結合性であること，⑤CK-IIによるp34のリン酸化は，dsDNAおよびssDNA存在下で著しく促進される(tRNAでは促進効果が認められない)ことなどが明らかになった。これらの結果は，p34はDNAと結合した状態でCK-IIによって特異的にリン酸化されることを示している。現在，p34のCK-IIによる特異的なリン酸化が葉緑体DNAの複製もしくは転写調節で果たす役割に視点をおいて解析中である。

1aA09

細胞増殖に関与するシロイヌナズナMAP kinaseの生化学的解析

溝口剛[1,2]、後藤由季子[3]、西田栄介[3]、篠崎和子[1]、岩崎俊介[1]、林田信明[1]、鎌田博[2]、篠崎一雄[1]　([1]理研・植物分子、[2]筑波大・生物、[3]東大・生化)

MAP kinaseは種々の細胞増殖因子の刺激で共通に素早く活性化する40-45KDaのセリン/スレオニンキナーゼである。さらに細胞周期のM期にも活性化するなど広くさまざまなシグナル伝達系で機能することが明かになってきている。

我々は高等植物シロイヌナズナからPCR法を用いて、MAP kinaseと相同性をもつ2種類のcDNA (ATMPK1,ATMPK2)を単離した。ATMPK1,ATMPK2は*Xenopus* MPK1と約50%の相同性を示した。さらに大腸菌内で発現させた不活性型ATMPK1・ATMPK2は、*Xenopus* MAP kinase activatorによりセリン/スレオニン/チロシン残基がリン酸化され、MBP kinase活性が上昇することが分かった。また静止期のタバコ培養細胞 (BY-2)を用いた解析により、2,4-Dにより一過的にMBPをリン酸化する活性が上昇することが明かになり、この活性を含むBY-2細胞粗抽出液は大腸菌内で発現させた不活性型ATMPK1・ATMPK2タンパク質をリン酸化・活性化することが分かった。

1aA10

植物の細胞増殖を制御する遺伝子の分離の試み
-酵母変異株を用いて-

宇佐美昭二、小島晶子、町田泰則
(名大・理・生物)

細胞増殖に関わるシグナル伝達系の研究は、主に動物、酵母を用いて行なわれており、植物においてはほとんど進んでいない。我々の研究室の坂野らは、出芽酵母の細胞増殖に関連するシグナル伝達系のプロテインキナーゼ遺伝子*BCK1*と機能的に類似した*NPK1*遺伝子をタバコ植物より分離してきており、植物における類似したシグナル伝達系の存在が示唆されている。(1992年度植物生理学会、第15回分子生物学会) 我々はそのシグナル伝達系の他の遺伝子を分離してくる目的から、細胞増殖に関わるシグナル伝達系の酵母変異株を用い、タバコ培養細胞のcDNAライブラリーから、変異をサプレスする遺伝子の分離を行なっている。現在、7種類の候補となるcDNAクローンが得られている。全てのクローンの解析はまだ終っていないが、今までのところ、動物、酵母におけるシグナル伝達系の遺伝子と類似したものは分離されていない。この方法の植物における有効性についても検討する。

1aA11

シロイヌナズナ低分子量GTP結合タンパク質遺伝子のトランスジェニックタバコを用いた解析

穴井豊昭、藤井伸治[1]、Evalour T. Aspuria[1]、松井南[2]、野村信夫[2]、石崎良太郎[2]、内宮博文[1]
(北大・理・植物、[1]東大・応微研、[2]日医大・老研)

我々は、高等植物における低分子量GTP結合タンパク質を介した細胞内信号伝達経路を明らかにするために、シロイヌナズナや稲より数種類の低分子量GTP結合タンパク質遺伝子を単離した。今回、シロイヌナズナのGTP結合タンパク質遺伝子の植物体内での機能を明らかにするため、トランスジェニックタバコを作製し解析を行なった。その結果、本遺伝子を過剰発現させた植物では、個体レベルでは、葉が波打ち草丈がわいかするという形態変化が引き起こされた。組織レベルでは、葉肉細胞の分裂異常と表皮細胞の極端な小型化が観察された。この様な形態異常は、mRNAの転写量と比例関係にあった。また細胞分画を行なった結果、シロイヌナズナのGTP結合タンパク質の1つは膜に結合することが示唆された。

1aA12

リガンドとの親和力を利用した単量体GTP結合蛋白質のExpression cloning法

永野幸生、松野隆一、佐々木幸子 (京大・農・食品工学)

リガンドとの親和力を利用した単量体GTP結合蛋白質のExpression cloning法を開発した。独立のcDNAを含むプラスミドを持ったコロニーを約1000個単位で培養し、細胞を溶解した。この溶解液中のタンパク質をSDS-PAGEに供し、ニトロセルロース膜へ移した。ニトロセルロース膜を[α-^{32}P]GTPとインキュベートし、GTP結合活性を持った集団を見つけた。この集団を今度は独立のコロニー約100個単位で培養して、GTP結合活性を調べた。同様にしてコロニーの集団の数を10個、1個と減らしていき、単量体でGTP結合活性を持つ蛋白質をコードするcDNAを含むコロニーを得た。SDS-PAGEにより、蛋白質を分離することにより、GTPの膜への非特異的吸着を抑えることができた。この方法はリガンドとの親和力を利用しているので、新規なGTP結合蛋白質を単離できる可能性がある。

1aB01

酵母 *Saccharomyces exiguus* の宿主ーベクター系

久冨泰資、畔柳聡、和田裕、森脇奈樹、壷井基夫（福山大・工・生物工）

私達は、*Saccharomyces* 属酵母における種の分化機構を明らかにする目的で、パン酵母 *S. cerevisiae* との比較のもとに *S. exiguus* の染色体編成及び遺伝子機能の解析を行っている。両酵母は互いに接合を行わない別種であるが、α型性フェロモンに関しては交差活性が認められる。

今回、私達は、*S. exiguus* 細胞内における遺伝子の機能発現を検定する目的で、効率の良い *S. exiguus* の宿主ーベクター系の開発・改良を行った。

S. exiguus の形質転換においては、塩基性化合物の一種ヒスタミンがプラスミドＤＮＡの細胞内への取り込みを促進すること、さらに宿主細胞の増殖ステージは比較的早い方が高い形質転換効率を示すことがわかった。また、*S. exiguus* の染色体ＤＮＡ断片を持つ６種の高形質転換能プラスミドについて、*S. exiguus* 細胞に対する形質転換効率及びプラスミドの細胞内安定性を調べた結果、これら６種の断片は *S. exiguus* の自律複製起点（ＡＲＳ）を含むこと、さらにそのうちの２種は動原体配列（ＣＥＮ）を含むことが示唆された。

1aB02

Automatic Subcloning によるTiープラスミド自動変換ラムダファージベクターの開発

布施拓市、児玉浩明、射場　厚、西村光雄（九州大・理・生物）

現在、遺伝子を単離する有力な手段の１つとしてクロモソームウォーキングによるアプローチがシロイヌナズナで試みられている。クロモソームウォーキングを行なうには、ターゲット遺伝子座の詳細なＲＦＬＰ地図の作製とマッピングされた遺伝子座が存在するＤＮＡクローン検索のための簡便な植物への遺伝子導入システムが必要である。シロイヌナズナのゲノムには平均およそ２２５ｋｂにつき１つのＲＦＬＰマーカーが見出されており、ＹＡＣやＰ１ファージを利用したライブラリーによってＲＦＬＰ地図でのクロモソームウォーキングが可能となりつつある。今回、我々はＰ１ファージ由来の *lox* 配列を組み込んだラムダファージベクターを作製した。このラムダファージベクターを用いて作製したｃＤＮＡやゲノムライブラリーをＹＡＣクローンをプローブに用いてスクリーニングした場合、得られたポジティブクローンを *cre*$^{+}$の大腸菌株に感染させるだけでシロイヌナズナＤＮＡの組み込まれた環状ＴｉプラスミドＤＮＡが得られる。ラムダファージベクターはコスミドベクターに比べてサイズが小さいが安定であり、また、このファージベクターから Automatic Subcloning により得られるプラスミドはバイナリーベクターpBI１２１をベースとしているため大腸菌でもアグロバクテリアでも増殖し、直接植物体へ導入することができるので、相補性テストの大幅な簡素化が期待できる。

1aB03

ＲＦＬＰマップに基いたシロイヌナズナ葉緑体脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のクローニング

射場　厚，西内　巧，布施拓市，西村光雄，Sue Gibson[1]，Chris Somerville[1]（九大・理・生物，[1]ミシガン州立大）

葉緑体膜脂質の特徴として，16:3 や 18:3 などの多不飽和脂肪酸の含量が高いことが知られているが，そのことが高等植物の温度適応能力に重要な意味を持つと考えられている。今回，我々はその主要な役割を担っていると思われる葉緑体 ω-3 脂肪酸不飽和化酵素に着目し，制限酵素切断断片長多型（ＲＦＬＰ）マッピングと酵母人工染色体（ＹＡＣ）によるクロモソームウォーキングを併用した新しい手法により，同酵素をコードすると思われるｃＤＮＡクローンを単離した。

単離されたｃＤＮＡクローンをアグロバクテリウムによる形質転換系を用いてシロイヌナズナ植物体に導入し，発現させたところ，緑葉組織における 16:3 および 18:3 脂肪酸のレベルが著しく増加した。

塩基配列から推定されたアミノ酸一次構造は，和田らによってラン藻からクローン化された desA 遺伝子（１）のコードする ω-6 脂肪酸不飽和化酵素とおよそ３０％の相同性を示し，その中には，１２アミノ酸残基中１０残基が一致する高い相同性領域が見出された。この領域は，高等植物とバクテリアの脂肪酸多不飽和化酵素の共通した反応機構に関与していると推定された。

１．　H. Wada, Z. Gombos & N. Murata (1990) Nature 347, 200-203.

1aB04

溶原性ファージの特性を利用した根粒菌の遺伝子ベクターの開発

内海俊樹、東四郎、阿部美紀子（鹿児島大・理・生物）

クローバ根粒菌4S株を宿主とする溶原性ファージφUは、そのゲノムDNAを宿主菌の染色体にintegrateする。溶原化の際のファージφUの *attP* 部位（宿主の染色体と組換えを起こす部位）を同定、プラスミドpSUP202にクローニングし、プラスミドpCI6とした。Tc耐性を選択マーカーとしてpCI6を4S株に導入すると、pCI6は根粒菌内では複製不可能であるにもかかわらず、高頻度でTc耐性株が得られた。サザン法による解析にて、これらのTc耐性株では、pCI6が宿主染色体にintegrateしており、その位置は、ファージφUがintegrateする位置と同一であることが判明した。また、pCI6はエンドウ根粒菌K5株の染色体にもintegrateする事が明かとなり、根粒菌の有用な遺伝子ベクターであることが示された。

1aB05

高発現プロモーターを利用した外来遺伝子の発現

大島正弘、宇垣正志、村上高、光原一朗、西宮聡、広近洋彦、後藤洋子、岡本雅次*、名取俊二*、中村茂雄**、本蔵良三**、大橋祐子
（農水省農業生物資源研、*東亜合成、*東大薬学部、**宮城県農業センター、）

大量発現を目的として植物に外来遺伝子を導入する際、これまで構成的で強い発現をするプロモーターとしてカリフラワーモザイクウィルスの35S遺伝子のプロモーターが最も頻繁に用いられてきた。我々は双子葉植物で機能する、更に多量の発現を目的とした強力なプロモーターを構築するため、種々の複合プロモーターを作製し、GUSレポーター遺伝子と繋ぎ、タバコ葉肉プロトプラストに導入して、その活性を検討した。その結果、35Sプロモーターと比較して10倍以上の活性を有するプロモーターE211を得る事ができた。

プロモーターE211は,35Sプロモーターの-412から-90の範囲を２回重複させ、さらにタバコモザイクウィルス由来の翻訳促進配列（Ω）を接続したものである。E211の汎用性を調べるため、これを導入した形質転換植物でGUS活性を指標としてその発現を検討したところ、35Sプロモーターと比べ発現の組織特異性はほぼ変わらなかったものの、発現量は十倍以上に増大した。例えば35Sプロモーターでは殆ど発現が認められなかった花粉等の組織でも明瞭な発現が検出できた。次にE211または35Sプロモーターにホタルのルシフェラーゼ遺伝子を接続しタバコに導入し、得られた形質転換タバコの葉柄からルシフェリンを吸収させたところ、35Sでは暗室中で肉眼でかすかにその発光が確認できる程度だったが、E211では格段に強い発光が認められた。またE211プロモーターの支配下にセンチニクバエの抗菌性ペプチドをGUSとの融合タンパク質としてタバコで発現させたところ、このペプチドの高発現によると考えられる興味ある現象が認められた。このように、E211は高効率構成的発現プロモーターとして有用性を持つ事が確認できた。

1aB06

タバコ培養細胞 BY-2 核抽出液による無細胞転写系の開発

山口雄記、武田穣、今関英雅、山崎健一（名古屋大・農・生化学制御）

高等植物遺伝子における転写調節の分子機構を解析することを目的として、我々はタバコ培養細胞 BY-2 より高純度の核調製法を開発し、その核抽出液による無細胞転写系を構築した。転写鋳型にはTC7 遺伝子のTATAボックスと転写開始領域のみをもつミニマル・プロモーターとその下流にGフリーカセットを挿入したプラスミドを用いた。この転写反応は、 RNAポリメラーゼⅡに依存し、正確な転写開始を行った。

さらにこの転写反応はHeLa細胞由来の無細胞転写系よりもTATAボックス内に挿入した点突然変異に鋭敏に応答した。

また、TATAボックスに依存した転写開始をおこなうには核単離時にリン酸の添加が必須であったことから、正確な転写開始には転写装置内のある要素タンパク質のリン酸化が関わることが示唆された。

現在、この点と他の植物遺伝子プロモーターによる転写反応や転写開始増幅因子TGA1a による転写活性化などについて解析を進めている。

1aB07

バーティクルガン法により得られた花粉由来のトランスジェニックハプロイド植物の解析

西原昌宏、京正晴[1]、森川弘道 （広島大・理、[1]香川大・農）

我々は、これまでに、バーティクルガン法により、マルバタバコ（*Nicotiana rustica*）未熟花粉に、Plasmid DNA ［pBN24 (CaMV35S pro-*nptII*-Nos ter, CaMV35S pro-*gus*-Nos ter)］を導入し、ハプロイドトランスジェニック植物を得ている（植物学会第57回大会発表済）。今回は、得られた２系統のトランスジェニック植物について、解析した結果を報告する。

MUGを基質とした蛍光光学的GUSアッセイにより、Line 1の葉では、非形質転換体の約300倍の酵素活性が検出されたのに対し、Line 2 では、非形質転換体のレベル以上の酵素活性は検出されなかった。また、X-Glucを基質とした組織化学GUSアッセイにより、Line 1では、葉、茎及び根の維管束、萼片、花弁、柱頭 にGUS発現が見られたが、Line 2では、いずれの組織にもGUS発現は見られなかった。*gus* 及び*nptII*をプローブとしたサザンハイブリ解析により、Line 1では、外来DNAがゲノムの1カ所以上、Line 2では、2カ所以上に組み込まれていると推定された。また、Line 1では*gus*, *nptII*とも、プロモーターからターミネーターまでの、完全なカセットの組み込みが確認されたが、Line 2では、どちらの遺伝子についても、カセットは検出されず、外来遺伝子は、断片化して組み込まれていると推定された。このトランスジェニック植物の花粉には稔性がなく、両系統とも、根端の分裂細胞で、24本の染色体が観察され、半数体であることが確認された。

1aB08

バーティクルガン法による遺伝子導入・発現における金粒子サイズの効果

服部悦子、山下稔哉、森川弘道 （広島大・理）

我々は、圧縮空気圧式バーティクルガンを用いて植物細胞への遺伝子導入に関する研究を進めている。これまでにバーティクルガンによる遺伝子導入においては、核内への金粒子の導入が遺伝子発現の必要条件であることを報告した[1]。今回、真球状で平均粒径1.1μm（（株）徳力本店）と2.0μm（Alfa Chem）の金粒子を用いて、遺伝子発現効率および核内への金粒子の導入効率に対する粒子サイズの効果について解析した結果を報告する。

GUS遺伝子を有するプラスミドDNA pBI221をコーティングした金粒子をタバコ懸濁培養細胞BY-2に導入（１ショット）し、GUSの発現を組織化学的に調べた。プロジェクタイル当りの粒子数2.5×10^6の条件では、遺伝子発現効率は1.1μm、2.0μmの金粒子を用いた場合、それぞれ0.5%、0.3%で、粒子数2.0×10^7の条件では遺伝子発現効率はそれぞれ1.5%、0.2%であった。また、核内への金粒子の導入効率を遺伝子発現効率と比較したところ、1.1μmの金粒子では遺伝子発現効率と核内への金粒子の導入効率とが実験誤差内でほぼ一致するのに対し、2.0μmの金粒子では遺伝子発現効率が核内への金粒子の導入効率の約1/2であった。このことより、粒子サイズは核内に導入された粒子の“遺伝子発現誘導効率”に影響を及ぼしていることがわかった。従って1.1μmの金粒子が2.0μmの金粒子より遺伝子発現効率が高いのは、核内への導入効率及び遺伝子発現誘導効率が高いためであると結論される。

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

1aB09

エレクトロポレーション法によるユリ花粉プロトプラストへの遺伝子導入

三好英明、今村順[1]、田中一朗　(横浜市大・文理・生物、[1]植工研)

我々は、エレクトロポレーション法によって、被子植物の雄性配偶体である花粉にβ-glucuronidase (GUS) 遺伝子を導入することに成功した。

テッポウユリ (*Lilium longiflorum*) の二細胞性花粉から単離した花粉プロトプラストに、トマト由来の葯特異的なプロモーターを含むプラスミドpTG5 (LAT52-GUS) またはCaMV35Sプロモーターを含むプラスミドpBI221 (CaMV35S-GUS) を、エレクトロポレーション法により導入した。

その結果、LAT52-GUSを導入した花粉は、蛍光、組織化学的分析共に明らかな一過性のGUS活性を示したが、CaMV35S-GUSを導入した花粉は、promoterless-GUS、あるいは無DNAでエレクトロポレーションした場合などと比べてGUS活性に有意な差は認められなかった。

この系は、パーティクルガン法と同様に花粉特異的なプロモーターの検定に有用であると考えられる。

1aB10

管状要素分化解析のためのヒャクニチソウ遺伝子導入系の開発

立石佳之、佐藤　勉、福田裕穂　(東北大・理・生物)

ヒャクニチソウ(Zinnia elegans)の芽生えの第１葉から機械的に単離した葉肉細胞は、植物ホルモンを含む分化誘導培地で培養すると高頻度かつ同調的に管状要素に分化する。演者らの研究室では、この管状要素分化に関連して発現する遺伝子が単離されてきている。このような遺伝子の機能と発現を解析する際には、単離した遺伝子とホモロガスな植物への遺伝子導入系の利用が有効であると考えられる。そこで、私たちは、ヒャクニチソウへの遺伝子導入系の開発を検討した。

系の開発のため、CaMV35SプロモーターとGUSのキメラ遺伝子(CaMV35S-GUS)とこの遺伝子の下流にヒャクニチソウフェニルアラニンアンモニアリアーゼアンチセンスDNA断片をつないだ遺伝子(CaMV35S-GUS-APAL)を用いた。

まず、ヒャクニチソウ葉切片に Agrobacterium tumefaciens を感染させ、遺伝子を導入し、葉切片上にカルスを誘導した。カルス中の、自発的に誘導された管状要素中でGUS遺伝子が発現していることが確認され、この方法で管状要素に遺伝子を導入することができた。次に、ヒャクニチソウ葉切片に、Ri-plasmidを持つ Agrobacterium tumefaciens によって毛状根を発根させ、それと同時にbinary vectorを導入し、根の木部分化過程での遺伝子の解析をおこなう方法の開発を試みた。遺伝子導入された根を高頻度で得るために、まず発根の為の条件を検討し、最適条件を決定した。次に、発根した根中で、GUSの活性を測定したところ、高頻度で遺伝子が導入されていることが明らかになった。これにより、ヒャクニチソウ根を用いた遺伝子導入系が可能となった。

1aB11

簡易調製DNAを用いた *Agrobacterium* 形質転換植物体T-DNAのPCR迅速検出法

堀池剛，黒柳正典，上野明，丹羽康夫[1]，小林裕和[1]
(静岡県大・薬，[1]静岡県大・食品栄養科学)

Agrobacterium 形質転換植物体におけるT-DNA確認法として，サザンハイブリダイゼーションおよびDNAポリメラーゼ増幅法 (PCR) が挙げられる．しかしながら，いずれの場合も，植物組織からのDNA抽出には繁雑な操作を要する．したがって，多数のサンプルを対象とした形質転換の正確・迅速な確認のために，毛状根からのDNA抽出法の改良を含めたPCRによる *rol* 遺伝子検出法を検討した．アグロピン型Riプラスミドについて，*rol* 遺伝子群の中から１対のプライマーを合成した．これらのプライマーを用いて *Agrobacterium rhizogenes* の野生株２株についてPCRを行なったところ，ともに同一の長さの DNA 断片が増幅された．また，*A. rhizogenes* A4 株感染アサガオ毛状根および15834株感染ヒヨスの毛状根から常套的なフェノール－クロロホルム抽出法に代わりガラスパウダーを用いた簡易抽出を試みたところ，簡便法においても常套法と同様に *rol* 遺伝子が増幅された．さらに，*vir* 遺伝子群のいくつかを認識するプライマーおよびボーダー配列を認識するプライマーをあわせて用いることにより，*rol* 遺伝子は *A. rhizogenes* ではなく毛状根DNAに由来することが確認された．*Agrobacterium* 形質転換植物体T-DNA迅速検出法として，本方法の汎用が期待される．

1aC01

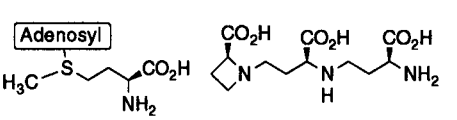
鉄欠乏大麦根におけるムギネ酸生合成経路の研究　1：ニコチアナミン合成酵素の性質

樋口恭子、西澤直子、茅野充男、森敏（東京大・農・農化）

鉄欠乏処理した大麦根からは、鉄吸収のためにムギネ酸類が分泌される。ムギネ酸類の生合成は下図のような経路で行なわれており、ニコチアナミンは重要な中間体である。演者らはS-アデノシルメチオニンからニコチアナミンを合成する酵素の精製、単離、アミノ酸部分配列の決定を目指している。

ニコチアナミン合成酵素の性質：1. ニコチアナミン合成活性は鉄欠乏処理した大麦根で強く誘導される。2. ムギネ酸類の分泌は日周変化を示すが、ニコチアナミン合成活性は終日一定である。3. 酵素活性の最適pHは9付近である。4. ゲルろ過による推定分子量は4万から5万である。5. SDS-PAGE後に酵素活性回収可能であり、推定分子量は3万である。

ニコチアナミン合成酵素の精製：各種クロマトグラフィー、SDS-PAGEゲルからの分取により、2次元電気泳動ゲル上で2スポットに精製された。今後この2つのスポットについてどちらがニコチアナミン合成酵素であるのか検討し、アミノ酸部分配列を決定する予定である。



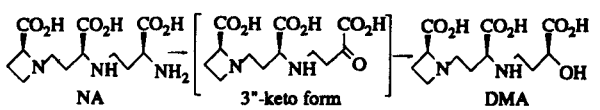
S-アデノシルメチオニン→　ニコチアナミン　→ ムギネ酸類

1aC02

鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路の研究　2：ニコチアナミン脱アミノ酵素の性質

金澤健二，大畑智子，三橋秀一，伏谷真二[1]，西澤直子，茅野充男，森敏　（東京大．農．農化，[1]東北大．薬．）

デオキシムギネ酸(DMA)は，ニコチアナミン(NA)から2段階で生合成される．今回は，NA→DMAの反応を触媒する酵素の活性測定法を改良し，いくつかの性質を調べたので報告する：(1) この反応は，アミノ基転移とそれに引き続くケト基の還元からなる2段階反応であり，co-factorとしてアミノ基受容体に2-oxoglutalate，還元剤にはNADPHを，補酵素としてPLPを要求した．(2) 前段の反応を触媒するNA脱アミノ酵素の活性測定法を確立した．即ち，アミノ基転移反応の生成物(3"-ケト体）を$NaBH_4$により化学的に還元し，DMAとして検出，定量する方法を開発した．(3) NA脱アミノ酵素の活性は，鉄欠乏条件下で強く誘導された．(4) ムギネ酸類の分泌は日周変動を示すことが知られているが，このNA脱アミノ酵素の活性は，日周変動を示さず一定だった．



DMA BIOSYNTHESIS PATHWAY

1aC03

鉄欠乏オオムギ根で発現する遺伝子　*Ids1*～*Ids4*

中西啓仁，奥村奈巳，梅原洋佐，Nicolaus von Wirén*，西澤直子，茅野充男，森　敏（東京大・農・農化，*Universität Hohenheim）

我々は鉄欠乏耐性形質転換植物の創成をめざして，イネ科植物特有の鉄キレーターであるムギネ酸の関連遺伝子のクローニングを行おうとしている．鉄欠乏及び鉄を与えた条件下で育てたオオムギの根から抽出したpoly(A)$^+$-RNAから作製したcDNAを用いてディファレンシャルハイブリダイゼーションを行うことにより，鉄欠乏時において強く発現するcDNAを7つ単離し，この内の4つの塩基配列を決定した(*Ids1*～*Ids4*, *Ids*; Iron deficiency specific clones). *Ids1*は2つのシステインリッチなドメインを持つメタロチオネイン様タンパク質であり，鉄欠乏による重金属過剰症によって誘導されると考えられる．*Ids2*, *Ids3*は共にH6H, TOME8, pTOM13などとホモロジーの高いことから，アスコルビン酸とFe^{2+}をコファクターとする2-オキソグルタル酸要求性ジオキシゲナーゼであると考えられ，現在ムギネ酸との関連について検討中である．*Ids4*は現在までに報告されているどのタンパク質ともホモロジーがなく，その性質についてもまだ分かっていない．*Ids1*, *Ids2*, *Ids3*は鉄欠乏のオオムギの根において発現し，地上部及び鉄が十分に与えられている条件下での発現は認められない．*Ids2*, *Ids3*についてはゲノミックDNAの塩基配列の決定を行った．またすべての*Ids*遺伝子について他の重金属欠乏・過剰ストレス下での発現パターンの変化について調べている．

今後は「鉄欠乏」あるいは「根」特異的発現を支配する因子について解析を重ねていく予定である．

1aC04

アルファルファ培養細胞のアルミニウムストレスに対する応答

秋山典昭、杉信賢一、川崎信二[1]、斎藤祐二（農水省・草地試、[1]農水省・生物研）

アルミニウム（Ａ１）は酸性土壌における植物生育障害の主要因とされている。Ａ１イオンのリン酸（Ｐ）代謝に及ぼす影響がその生育阻害機構の一つと考えられているが詳細は明らかとなっていない。本研究ではＡ１と植物の相互作用を解明するための第一歩として、Ａ１感受性が強いことが知られているアルファルファから得た懸濁培養細胞系のＡ１およびＰ欠乏ストレスに対する応答について調べたので報告する。

ＭＳ培地のｐＨを 4.5 に下げ、Ｐ濃度を 1/10 に減らして２日毎に 1/5 量ずつ添加する培養法でＡ１（0.2-0.3mM）の影響を検討した。Ａ１の存在により植え継ぎ後の誘導期は長くなったが、その後の増殖速度はＡ１を含まない培地のものと比べて同等以上に速くなり増殖阻害は見られなかった。形態的には細胞塊の大きさが小さくなり、その他クエン酸分泌が確認された。クエン酸はＡ１イオンをキレートして不活化することが知られている。Ａ１に馴化した２系統の培養細胞をＡ１の存在下と非存在下でＰ濃度を変化させた培地で培養した結果、１系統ではＡ１、Ｐの有無にかかわらずクエン酸の分泌が見られ、量的にはＡ１存在下・Ｐ欠乏の方が多かった。他系統ではＡ１非存在下でのクエン酸分泌は認められなかった。以上の結果からクエン酸分泌はＡ１ストレスに対するアルファルファ細胞の共通した応答と推測された。また分泌量に関して２つのストレスが影響しあっている可能性が示唆された。

1aC05

タバコ培養細胞におけるアルミニウムと鉄による増殖阻害への相乗効果

小野寛治、山本洋子、松本英明　（岡山大・資生研）

タバコ培養細胞でアルミニウムによる増殖阻害について検討する中で、アルミニウムと鉄が増殖阻害において強い相乗効果をしめすことを見いだした。即ち、50μM $AlCl_3$ 、もしくは50μM $FeSO_4$ の各々単独処理では、50μM $AlCl_3$ 、および50μM $FeSO_4$ を加えないコントロールの場合の87% および 100% 増殖を示し、ほとんど増殖阻害は　みられなかった。一方、同じ濃度の$AlCl_3$ および$FeSO_4$ を同時に20時間処理した場合には、コントロールの 9% まで増殖は低下し、著しい増殖阻害が観察された。

100μM $AlCl_3$ および100μM $FeSO_4$ の同時処理において、処理時間と増殖阻害並びに細胞のアルミニウムおよび鉄含量との関係について検討した。なお、アルミニウム並びに鉄含量は細胞を灰化し原子吸光法により測定した。その結果、細胞増殖は処理開始後10時間前後から急速に阻害されること、増殖阻害と同時に細胞のアルミニウムおよび鉄含量が増加することが分かった。さらに、処理開始後10時間以降の細胞集団においては、(1)細胞内カリウム含量の減少、(2)1Mマンニトール処理による原形質分離を起こさない細胞数の増加、(3)二酢酸フルオレセインで染色されない細胞数の増加、が観察された。

これらの結果から、アルミニウムと鉄の相乗効果により細胞膜の透過性になんらかの障害を生じ　その結果増殖が阻害されている可能性が示唆された。

1aC06

タバコ培養細胞におけるリン酸欠乏ストレスおよび酸性ストレスに伴うアルミニウム耐性について

山本洋子, 力石早苗, 松本英明 (岡山大 資生研)

リン酸欠乏細胞は, 細胞内全リン含量の低下に伴いAl 耐性を示し、細胞内へのAlの取り込み量も正常細胞の5 から7割程度に低下した(昨年度, 本大会発表)。リン酸欠乏細胞および正常細胞は、ともに細胞に取り込んだAlの一部を細胞外に排出するが、リン酸欠乏細胞ではAlの排出速度が正常細胞の2.5倍であった。従って、細胞外へのAl排出機能の高まりがリン酸欠乏細胞の示すAl 耐性をもたらしている可能性が高い。

一方、pH 4.0の酸性培地で2日間前培養した細胞 (酸性ストレス細胞) は、pH 5.5の培地で前培養した細胞に比較してAl 耐性を示す。酸性ストレス細胞の細胞内へのAlの取り込み量も、リン酸欠乏細胞と同様, 正常細胞の6割に低下した。しかし、細胞内全リン含量は正常細胞の1.3倍に増加しており、酸性ストレス細胞の示すAl 耐性は、リン酸欠乏によるものではない。

土壌においては、酸性化に伴って溶出したAlイオンにより根にAl障害が現われ、また、Alイオンは難溶性のAlPO4を形成しリン酸欠乏を引き起こす。従って、酸性ストレスおよびリン酸欠乏ストレスに晒された細胞が、Al 毒性に対する耐性を獲得する事は、合目的的なことと思われる。

1aC07

タバコ培養細胞においてアルミニウムストレスにより誘導されるタンパク質

豆塚弘毅、山本洋子、江崎文一、松本英明 （岡山大･資生研）

Alは土壌の酸性化に伴い溶出し、植物根の細胞分裂阻害や伸長阻害を引き起こす。このようにAlストレスは酸性ストレスに伴って生じる。さらにAlイオンはリン酸と難溶性の塩を形成するためリン酸欠乏ストレスをも引き起こす。

本研究ではAlストレス下でのタンパク質発現の変動をタバコ培養細胞を用いて解析した。なお、Al処理はリン酸無添加培地（pH 4.0）中で行い、タンパク質は［^{35}S］メチオニンでパルスラベルしたのちSDS-PAGEで解析した。タバコ培養細胞を 0.1 mM Al で処理するとおよそ18時間目で最も強い増殖阻害を起こすが、このときAlにより２つのタンパク質（分子量：43 kDa, 23 kDa）の発現が促進された。またこれらのタンパク質特に43 kDa のものはリン酸無添加培地（pH 4.0）においても３時間目に発現が促進された。さらにリン酸欠乏細胞においてこれらのタンパク質特に23 kDaのものが、細胞内のリン酸含量の低下に伴って増加していることがわかった。

これらの結果はAlストレスにより誘導されるタンパク質がAlストレスと同時に起こるリン酸欠乏ストレスでも誘導されることを示している。一方、我々はリン酸欠乏細胞が正常細胞よりもAl耐性を示すことを報告しており、Alストレス並びにリン酸欠乏ストレスで誘導されるこれらのタンパク質がAl耐性に関わっている可能性が考えられる。

1aC08

アルミニウム処理による大麦根液胞膜プロトンポンプの活性化

葛西身延，山本洋子，松本英明，前島正義[1]（岡山大・資生研，[1]北海道大・低温科学研）

大麦根をアルミニウム（Al）処理すると、単離液胞膜小胞のH^+輸送活性が増加する。この機構を解析するため、Al処理に関連して以下の事を明かにした。

1）Al処理は根中のABA含量を増加させる。
2）ABA処理は単離液胞膜小胞のH^+輸送活性を高める。
3）ABA含量の増加と液胞膜小胞のH^+輸送活性の増加は、Al障害の一つとして起こる原形質膜H^+-ATPase活性の低下と同じ作用をもたらすバナジン酸処理によっても認められる。

これらのことは、異なった処理によって根中で起こる共通の現象（液胞膜H^+輸送活性の増加）に共通の因子としてABAが関与している可能性を示唆した。今回は、以上の三つの処理が、液胞膜小胞のH^+ポンプのATP加水分解活性を高めること、また、イムノブロット解析により、Al処理が液胞膜H^+ポンプの量を増加させることについて報告する。

1aC09

塩ストレスによるオオムギ液胞膜プロトン輸送系の発現

田中喜之、千葉一弘[1]、前田美紀、前島正義[2]
（農水省生物研、農工大[1]、北大・低温研[2]）

オオムギはHalophyteではないが、比較的塩ストレスに強い作物であることが知られている。この塩ストレスに対する耐性に液胞が関与することが報告されている。高等植物の液胞は、種々の代謝産物、塩類などを蓄積するが、これは液胞膜に存在するプロトン輸送系をはじめ種々の輸送系により行われる。高塩濃度下では液胞のプロトンの濃度勾配を利用しＮａ$^+$イオンを液胞内に取り込み細胞質のイオンストレスや浸透圧ストレスを軽減することにより耐性を示すと考えれている。プロトンの濃度勾配の形成には、H^+-ATPaseおよびピロフォスファターゼが大きく寄与していると考えられ、この二つのプロトン輸送系酵素のクローニングを行い、その構造を明らかにするとともに塩ストレス下における変動を解析した。オオムギ(*Hordeum vulgare*, cv Kashima)を水耕法により一週間生育させ、その根よりpoly A+ RNAを調製し、これを鋳型にcDNAを合成しλgt11にクローニングしたライブラリーを作製した。Mung BeanのH$^+$-ATPaseの68 kDaサブユニットおよびピロフォスファターゼに対する抗体を用いたイムノスクリーニングにより既にそれぞれの酵素に対するクローン(ATP68#1, PP10)を得ている。更にこれらクローンをプローブにしハイブリダイゼイションによるスクリーニングを繰り返し、新しいピロフォスファターゼに対するクローン(PP1)を得た。このクローンは、PP10に対して塩基配列では７０%、アミノ酸配列では９０%程度のホモロジーを有していた。７日間生育させたオオムギを100mMNaClで処理し、経時的に根を採取したのちＲＮＡを調製し各クローンの特異的領域をプローブにしてNorthern blot解析を行った。その結果塩ストレスによりそれぞれのクローンに対応する遺伝子発現の促進が明かとなった。

1aC10

オカヒジキ液胞膜のＮａ⁺／Ｈ⁺アンチポート活性

小池説夫、前田美紀、田中喜之（農水省・生物研）

オカヒジキ(*Salola komarovii* Iljin)は海岸の砂地に広く分布するアカザ科の一年草であり、北海道厚岸の塩性地ではアツケシソウ(*Salicornia herbacea* L.)と共に自生することが観察されている。このことから、オカヒジキのNaClストレス耐性と液胞膜のＮａ⁺／Ｈ⁺アンチポート活性とを調べる目的で実験をおこなった。

種子を脱イオン水で充分に洗浄したバーミキュライトに播種し、昼夜27/22 ℃・長日条件（16時間日長）下で育て、NaCl濃度の異なる培養液を毎日灌水した。対照区（0mMNaCl濃度）よりも50mMおよび100 mMNaCl濃度培養液を与えた区の方が葉が肥厚し生育が良かったが、400mMNaCl濃度以上の処理では生育が抑制された。葉身搾汁液のＮａ⁺含量と浸透圧は培養液のNaCl濃度の上昇とともに増加した。葉に移行したNa塩は液胞に集積すると予想されたので、液胞膜小胞を調製しＮａ⁺／Ｈ⁺アンチポート活性を測定した。活性はプロトンポンプ駆動により形成された小胞内外のｐＨ勾配に基つく蛍光（アクリジンオレンジ）消光の Ｎａ⁺による回復活性により測定した。対照区（0mMNaCl濃度）の材料においてもアンチポート活性が測定され、与えた培養液のNaCl濃度の上昇にともない活性も増加する傾向にあった。これは、大麦根液胞膜のアンチポート活性がNaClストレスにより初めて誘導されるのと異なっていた。

1aD01

光化学系Ｉのサブユニットをコードする Psa F 遺伝子のクローニングとその発現

日比野隆，田中義人，沼田有子，高倍昭洋
（名城大・理工・化）

Psa F は光化学系Ｉのサブユニットをコードする核支配遺伝子である。このサブユニット含量が減少した光化学系Ｉ複合体はプラストシアニンと P700 との反応速度が減少すること，このサブユニットはプラストシアニンと架橋することから，Psa F 産物はプラストシアニンドッキング蛋白質と考えられている。高等植物ではホウレンソウ以外にこの遺伝子が単離されておらず，この遺伝子の発現，サブユニットのアッセンブリーおよび生化学的性質等は不明である。そこで今回，キュウリの cDNA ライブラリーから本遺伝子を単離し，遺伝子の発現について検討したので，その結果について報告する。

アミノ酸シーケンサーを用いて決定した本サブユニットの N-末端アミノ酸配列からオリゴヌクレオチドを合成し，PCR 法を用いてキュウリの cDNA ライブラリーから，本遺伝子の増幅を行いクローニングした。この遺伝子の塩基配列を決定したところ，Psa F 遺伝子産物は 70 個のアミノ酸からなるシグナルペプチドを含むことが明らかになった。現在，ノーザンブッロティング，in vitro の転写，翻訳実験を行っておりその結果についても報告する予定である。

1aD02

ランソウ*Synechocystis* sp PCC 6803、好熱性ランソウ *Synechococcus vulcanus* のフェレドキシン，およびPsaLサブユニットのアミノ酸配列の決定

鈴木一矢、檜山哲夫 （埼玉大・理・生化）

現在、各種のタンパク質のアミノ酸配列の決定には各種の方法が知られている。これらの中でも主なものとして、目的とするタンパク質を単離精製した後、このタンパク質を化学的あるいは酵素的に分解を行ない、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）やSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）にかけることでペプチド断片を分取し、アミノ酸配列を決定する方法が挙げられる。我々は、ランソウの *Synechocystis* sp PCC 6803、好熱性ランソウ *Synechococcus vulcanus* から光合成における重要な電子伝達体であるフェレドキシン（Fd）を単離精製し、これらをタンパク質分解酵素で消化した後、SDS-PAGEでペプチド断片を分離、ギ酸抽出を行なうことでペプチド断片を回収し、これらのタンパク質の全アミノ酸配列を決定した。また、ほうれん草より精製された光化学系反応中心Ｉ複合体のサブユニットの一つであるとされているPsaLについても、SDS-PAGEによる分離を行ない、同様の方法でアミノ酸配列の決定を行なっている。この方法を用いることにより、HPLCを用いるよりも簡単な操作でタンパク質のアミノ酸配列を決定することができた。

1aD03

好熱性藍藻 *Synechococcus vulcanus* の *psa*D 遺伝子の解析

須江七丈、古木正人、清水徳朗*、檜山哲夫、井上頼直[1]
（埼玉大・理・生化、理研・太陽光科学[1]）

高等植物と同様に、藍藻においても光化学系Ｉ反応中心複合体は十数種類のタンパク質サブユニットから構成されている。そして数種類の藍藻についてそのサブユニットのＮ末端アミノ酸配列や遺伝子の塩基配列が報告されている。我々はこれまでに好熱性藍藻 *Synechococcus vulcanus* の*psa*A／*psa*B [1]、*psa*C [2] 遺伝子の塩基配列を決定した。今回我々は*psa*D遺伝子の塩基配列を決定したので報告する。

S. vulcanus のＤＮＡライブラリーは、ＤＮＡを*Sau*3AIで部分的に切断後、ファージベクターλ-DASHの*Bam*HI部位に挿入したものを用いた。プローブには *S. vulcanus* の *psa*Dタンパク質のＮ末端アミノ酸配列[3]の一部をＤＮＡに逆翻訳して合成した１７merのオリゴヌクレオチドと、ＰＣＲによって増幅した藍藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 ＤＮＡの*psa*D遺伝子（426bp）を用いた。これら２種類のプローブを^{32}Ｐでラベルし、プラークハイブリダイゼーションでスクリーニングを行った。得られたポジティブクローンから*psa*D遺伝子を含む約２kbpのＤＮＡ断片をプラスミドベクターpTZ19Rにサブクローニングし、dideoxy法で塩基配列を決定した。

[1] Shimizu *et al.* (1992) *Plant Mol. Biol.* 18:785-791
[2] Shimizu *et al.* (1990) *Nucl. Acids Res.* 18:3644
[3] Koike *et al.* (1989) *FEBS Lett.* 253:257-263

* 現農水省四国農業試験場地域基盤研究部

1aD04

好熱性ランソウ光化学系Ⅰ関連遺伝子の単離

仲本準、檜山哲夫（埼玉大・理・生化）

我々は、好熱性ランソウSynechococcus vulcanusの光化学系Ⅰ反応中心複合体を構成するサブユニット遺伝子を単離してきた。このうち既にクローニングされその塩基配列が決定されている遺伝子（ｐｓａＡ，ｐｓａＢ、ｐｓａＣ）は、タバコ（葉緑体）遺伝子断片をプローブとしてゲノムＤＮＡライブラリをプラークハイブリダイゼーション法によりスクリーニングすることにより得られた。

本研究では、以下のような方法を用いて上記以外の光化学系Ⅰ関連遺伝子の単離を試みた。①形質転換型ランソウSynechocystis sp PCC6803の遺伝子断片をプローブとして、この好熱性ランソウのゲノムＤＮＡライブラリをプラークハイブリダイゼーション法でスクリーニングする。②近縁の好熱性ランソウSynechococcus sp.の遺伝子塩基配列に基づいてプライマーを化学合成しＰＣＲ法によって特定の遺伝子を増幅する。

1aD05

紅色光合成細菌 Rhodocyclus gelatinosus の光合成タンパク遺伝子群（ｐｕｆオペロン）の一次構造の決定

永島賢治、松浦克美、嶋田敬三　（都立大・理・生物）

紅色光合成細菌の光化学反応中心（ＲＣ）複合体をコードする遺伝子群は、光捕集複合体（ＬＨ１）とその他いくつかの蛋白質をコードする遺伝子と共に一つのオペロン（puf オペロン）を形成している。我々は紅色光合成細菌のβグループに属する細菌としては初めて Rhodocyclus gelatinosus の puf オペロンの一次構造を決定した。Rc. gelatinosus の puf オペロンは、αグループに属する紅色光合成細菌と同様に各蛋白質を上流からＬＨ１β、α、ＲＣＬ、Ｍ、チトクロムサブユニット（puf B,A,L,M,C）の順にコードしていたが、独自な特徴としてpufBとpufAの間に６１アミノ酸残基からなる膜蛋白質をコードしていると思われるＯＲＦが、またpufB の上流には４１アミノ酸残基からなる pufQ とは異なるＯＲＦが存在した。

Rc. gelatinosus は１６ＳrRNAの塩基配列及び可溶性チトクロムｃの構造に基づく系統分類によりβグループに分類されているが、上記の光合成蛋白の一次構造に基づく系統樹を描いたところ、Rc. gelatinosus はαグループに位置することが示された。特に Rhodospirillum rubrum のものと非常に高いホモロジーを持っていた。これら光合成蛋白質と１６ＳrRNA及び可溶性チトクロムＣにおける系統分類上の矛盾は、光合成器官をコードする遺伝子群の種間移動があったことを示唆している。

1aD06

Chloroflexus 属の新種と判断される新単離株の系統的解析

花田智、平石明[1]、嶋田敬三、松浦克美

（都立大・理・生物、[1]コニシ環境バイオ研）

栃木県の女夫淵温泉より単離された好熱性糸状緑色光合成細菌MD-66株は、その形態や色素の解析から*Chloroflexus*(*Cfx.*)属に同定された。しかし、その新単離株は特徴のあるバクテリアルマット様のクラスターをエネルギー依存的に形成するという点で、*Cfx.*属で唯一報告されている種である*Cfx. aurantiacus*とは異なっていた。また、好気条件下での色素合成量にもはっきりとした差異が見られた。また、キノン分析からこの菌株は従来から*Cfx.*属で明かにされているメナキノン-10に加えてメナキノン-4を持っていることが分かった。この様な表現型の違いがどのような系統関係に由来するかを遺伝子レベルで調べた。この菌株と*Cfx. aurantiacus* とのDNA-DNA ハイブリダイゼーションを試みたところ、その相同性は極めて低く(約10%)、この菌株が*Cfx. aurantiacus* と遺伝子型の上では種レベル以上に離れていることが示唆された。16S rRNAのほぼ全域（1404ベース）の配列の比較により得られた相同性は約94%であり、保存性の極めて高いrRNAとしては、上記のハイブリダイゼーションからの示唆を裏付ける進化的距離を示した。これらの結果から、新菌株はCfx.属の新種であると判断された。しかし、この様な表現型・遺伝子型の差異にもかかわらず、この菌株の光合成器官の性質は*Cfx. aurantiacus*のそれと非常に類似していた。

1aD07

緑色硫黄光合成細菌*Chlorobium tepidum* 反応中心粒子の精製

楠元範明、井上和仁[1]、那須英和、桜井英博

（早稲田大・教育・生物、[1]神奈川大・理・応用生物）

好熱性緑色硫黄光合成細菌 *Chlorobium tepidum* の光化学反応中心の精製を試みた。以下の全操作において嫌気性の維持に細心の注意を払った。菌体をBioNebulizer処理してクロマトフォアを調製し、Triton X-100により可溶化し、ショ糖密度勾配超遠心法により反応中心に富む画分を得た。Asc, DPIP存在下での閃光分光では420nmおよび553nm付近に負のピークを持つシトクロムcのスペクトルが得られ、その再還元速度（10ms領域）はDPIPの濃度に依存していた。ＥＰＲ測定では、ジチオナイトで還元され、光で還元される少なくとも2つのFe-Sセンターが観測される。このうちより高い酸化還元電位を有するセンターのgx値は、photo-accumulationにより更にもう一方のFe-Sセンターも光還元することにより、大きいg価にシフトする。この現象はPSIのF_A,F_Bに類似しているので、*Chlorobium* のF_A様Fe-Sセンターと言う意味で、以後C-F_A,同様にC-F_Bと呼ぶことにする。更にこの画分をDEAE陰イオン交換カラムクロマトグラフィーにより精製すると、SDS-PAGE後のＣＢＢ染色で主要なバンドが約6本程度にまで精製できた。この精製標品は閃光分光において、ショ糖密度勾配による標品と同様な吸光変化を示した。

1aD08

緑色硫黄細菌*Chlorobium tepidum* の光化学系複合体ペプチド

那須英和、楠元範明、吉田豊、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）

緑色硫黄光合成細菌の光化学系とＰＳＩとの類似性がさまざまな面から指摘されているが、緑色細菌の純化された粒子のペプチド組成に関する報告はほとんどない。そこで好熱性緑色硫黄光合成細菌*Chlorobium tepidum* の光化学系粒子を純化し、構成するペプチドについて研究した。

C.tepidum のクロマトフォアから Triton X-100 によって、光化学系粒子を抽出し、ショ糖密度勾配超遠心、さらにＤＥＡＥクロマトグラフィーによって精製を進め、閃光照射によりm秒領域のＣｙｔ *c* 再酸化活性を示す粒子を精製した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥでは、最終標品にはＣＢＢ染色で約６本の主要なバンドが認められた（約８０、６５、４５、３０、２３、１８ｋＤａ）。なお、この他にも薄く染色される４－５本のバンドが存在する。ＴＭＢＺによるヘム染色では、２３ｋＤａのバンドが濃く染色されたが、３０ｋＤａにも薄く染色されるバンドが認められた。蛍光性ＳＨ試薬を用いてシステイン含有ペプチド（Ｆｅ－Ｓセンターを持つペプチドの候補といえる）の同定も試みているが、数本のバンドにラベルが取り込まれていた。

なお、*Chlorobium limicola* においても同様な研究を進めている。

1aD09

緑色イオウ細菌 *Chlorobium tepidum* の *c*型チトクロムの性質と光合成電子伝達系における役割

奥村信巌，嶋田敬三，松浦克美（都立大・理・生物）

緑色イオウ細菌にはイオウ化合物の酸化に関与する複数種の可溶性チトクロム *c* が存在しているが，光電子伝達系での役割は反応中心結合型チトクロム *c* とともにあまり解っていない．

***C.tepidum* は好熱性の緑色イオウ細菌であり，絶対嫌気性であるにもかかわらずその光化学活性は他の緑色イオウ細菌と較べて酸素存在下でも安定していることが我々のこれまでの研究から示されている．その点を利用して今回は *C.tepidum* のペリプラズムフラクションの中から二種類の可溶性チトクロムを単離し，その光電子伝達系における役割について調べた．**

集菌した細胞をＥＤＴＡで処理し，浸透圧ショックをかけると，細胞を破壊しないでペリプラスム中のチトクロムを容易に遊離することが出来た．このフラクションから二種類の可溶性チトクロム c_{551} と c_{553} を分離した．特に c_{551} では酸化還元滴定により得られた中点電位は２００ｍＶ以上で，*C.limicola* で見つかっている可溶性チトクロム *c* よりも約100 mV 高いものだった．このことは光酸化反応により行った反応中心結合型チトクロム *c* の滴定結果に見られた高い中点電位（約270 mV）と対応するものと考えられ，*C.tepidum* は *C.limicola* と較べて高い酸化還元電位の反応中心を持っていることを示唆する．

以上の結果と合わせ，反応中心結合型チトクロムｃとの光電子伝達反応についても報告する．

1aD10

緑色光合成細菌のクロロソーム様再構成色素集合体の77K蛍光スペクトル

広田雅光・辻公博・嶋田敬三・松浦克美（都立大・理・生物）

緑色光合成細菌の光捕集色素であるクロロソームは、その構造が主にバクテリオクロロフィル c の自己集合によるものであることが最近示されてきた。また我々はクロロソーム抽出物及び、Bchl c と糖脂質の混合物から、クロロソームと同様な吸収スペクトル、蛍光スペクトルを示す再構成色素体が得られることを示してきた。クロロソームのBchl c の存在状態を詳しく調べるために、これらの再構成体の低温での蛍光を測定した。クロロソーム抽出物よりつくられた再構成色素体は、77Kの低温状態の蛍光スペクトルにおいても多少長波長側にシフトしていたものの、クロロソームに似た低温でのスペクトルを示した。また、Bchl c と糖脂質による再構成体は、糖脂質なしだと蛍光のピークはかなり長波長側 800 nm に存在したが、糖脂質の量が増えるに従い、短波長側にシフトしクロロソームに近くなった。 これらの結果より、Bchl c の自己集合的な存在状態には、クロロソームの主要な吸収帯を構成する成分と、それより長波長の成分があり、主要な成分の構造化には糖脂質の存在が重要であることが示唆された。

1aD11

光合成バクテリアの光反応中心に結合したカロテノイドの T_1ラマンスペクトル

大橋　直人・小山　泰　（関西学院大　理・化学）

光反応中心(RC)には 15-cis カロテノイドが結合し、過剰なエネルギーを散逸する機能を担っている。そこでカロテノイドがどの様なメカニズムでT_1状態に励起され、どの様に構造変化して、熱的にエネルギーを散逸させるかに着目した。その知見を得るために演者らは R.sphaeroides 2.4.1 の RC を精製し、三重項励起状態のラマンスペクトルを測定した。

RC の T_1状態のラマン測定には 527 nm の CW 光を用い、光子密度を変化させた。（その他 RC に還元剤を加えたり、パルス光を用いた実験も行った。）　測定は、クライオスタットを用い、 100 K で測定した。

これにより演者らは、T_1状態のラマン測定に成功した。ここでは、光子密度が高くなると 15-cis 由来のラマン線が弱くなり三重項由来と all-trans 体由来のラマンスペクトルの特徴が現れた。また高光子密度スペクトルの直後に得た低光子密度スペクトルでも前者と同じようなスペクトルが残った。。

この結果から２つの事が考察される。

① RC 結合の 15-cis カロテノイドは、T_1状態に励起されると all-trans 体に向かう構造変化を起こす。

② 光照射により還元状態になった RC は酸化状態にもどるのに長い時間かかり，この間に得た光エネルギーは Car T_1を生む。

1aD12

紅色光合成細菌の光捕集複合体ＬＨ１におけるカロチノイドの置換・再構成

嶋田敬三、三室　守[1]（都立大・理・生物、[1]基生研）

光合成における光捕集系は通常クロロフィルとカロチノイドを結合した色素タンパクを中心に構成されている。これらの色素タンパク中の色素分子種の交換を可能とするような再構成系の確立は光捕集系における光エネルギー移動過程の解析のための有力な手段を与えると考えられる。今回我々は紅色光合成細菌 Rhodopseudomonas palustris の色素タンパクの１つであるＬＨ１（B870）を用いてカロチノイドの交換が容易な再構成系を作成したので報告する。

室温でこのＬＨ１に界面活性剤オクチルグルコシド(OG)を加えていくと、1.5% 以上で Rhodospirillum rubrumで報告されているのと同様にバクテリオクロロフィル（Bchl）の 870nmの吸収成分は減少し、代りに 820nm さらに 777nm の成分が現れるが、同時にカロチノイドが分解し消失することが判った。このことはカロチノイドの複合体に対する結合力がこの界面活性剤に関して Bchl よりかなり弱い事を示すと同時に、この系がカロチノイドの再構成系として利用可能であることを示唆した。そこで OG 処理でカロチノイドを失ったＬＨ１複合体に Rhodobacter sphaeroides の効率の高いアンテナカロチノイドであるspheroidene(SP)を過剰量加え、希釈により OG 濃度を下げ再構成を行なわせ複合体を単離したところ Bchlの吸収は 870nmへ戻っており SP も R. sphaeroides ＬＨ１と同様の長波長シフトをして結合していた。Bchlの蛍光に対する励起スペクトルの測定より SPから Bchlへの励起エネルギー移動効率は 70%以上と見積もられ、本来のＬＨ１における spirilloxanthin から Bchlへの効率よりはるかに高いものであった。

1aE01

ラン藻*Synechococcus*PCC7942における光合成細菌*Chromatium vinosum*のRuBisCO遺伝子の発現と本来のRuBisCO遺伝子の除去

和田野晃、香田祐美子、小林裕和1　（大阪府大・農化、1静岡県立大、食栄）

光従属栄養で生育しうるラン藻Synechocystis PCC6803のRuBisCO遺伝子を光合成細菌*Rhodospirillum rubrum*のRuBisCO遺伝子で置き換えた変異体は、カルボキシゾームを形成できず、通常空気通気下では生育出来ない。しかし外来RuBisCO遺伝子発現のカルボキシゾーム形成への影響を見るために、*C. vinosum*のRuBisCO遺伝子により形質転換したSynechococcus PCC7942は通常空気通気下で生育し、カルボキシゾームの形成も阻害されなかった。また炭酸ガス濃縮機構も機能していた。そこで形質転換体のラン藻本来のRuBisCOを欠損させ、ラン藻の低炭酸ガス環境への適応を検討した。ラン藻本来のRuBisCOの欠損には、KpnIサイトにカナマイシンカセットを挿入した*Anacystis nidulans*6301のRuBisCOのラージサブユニットの遺伝子を用い、相同組み換えにより行った。PCR法によりゲノムのRuBisCO遺伝子を解析したところ、1.5kbの挿入が検出された。一方、粗酵素液を用いてRuBisCOの炭酸ガスに対する見かけのKm値を検討したところ、約10μMであった。またこの形質転換ラン藻は通常空気通気下で生育した。

1aE02

ラン藻*Synechococcus* PCC7942におけるPhosphoribulokinaseの活性制御様式について

平橋智裕、和田野晃　(大阪府大・農・農化)

Phosphoribulokinase(PRK)は光合成炭素還元回路(PCRサイクル)においてCO_2固定反応の基質となるRibulose 1,5-bisphosphateをRibulose 5-phosphateとATPより合成する反応を触媒する酵素である。本酵素は高等植物から単離され、光活性化や代謝中間体の影響が検討されている。一方昨年度年会において我々はラン藻PRKが光により活性化を受けずに代謝中間体により制御されている可能性を示した。本研究ではラン藻*Synechococcus* PCC7942からPRKを精製し、ラン藻における本酵素の活性制御について検討した。

30℃で培養した菌体をガラスビーズで破砕し、粗酵素抽出液を得た。硫安分画後、陰イオン交換、ゲルろ過、アフィニティーの各クロマトグラフィーにより約250倍に精製した。この精製酵素における酵素化学的性質を検討した結果、Ru5P、ATPに対するKm値はそれぞれ0.49mM、0.18mMであった。またPRKの阻害剤である6-Phosphogluconate(6-PG)の影響を検討したところ、Ru5P、ATP両方に対して非競争阻害を示し、ラン藻においてPRKはRu5Pのレベルに関わらず6-PGにより阻害されることが明らかになった。精製酵素に対する抗体を調製し、ホウレンソウ、*Synechocystis*PCC6803、*Synechococcus*PCC7942の粗抽出液を試料としてウエスタンブロッティングを行った。その結果*Synechococcus* PCC7942のPRKのサブユニット分子量は他の二つの試料のものより大きく、44,000ダルトンであることが判明した。

1aE03

藻類におけるH_2O_2耐性機構の存在

武田　徹、石川孝博、重岡　成、横田明穂[1]、平山　修（近畿大・農・食栄、[1]大阪府大・農・農化）

高等植物の葉緑体内で生成されるH_2O_2は、そのCO_2固定に及ぼす阻害的影響から、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(AsAP)により極めて速やかに消去される必要がある。これまでに我々は、葉緑体内にAsAPを含まないもしくはAsAPを含むものの、その活性が低い緑藻のEuglenaおよびChlamydomonasを用いて、H_2O_2消去機構とH_2O_2のCO_2固定に及ぼす影響について検討してきた。その結果、1)緑藻のCO_2固定は高等植物と異なり、H_2O_2に対して耐性を持つこと、2)その耐性は、CO_2固定関連酵素のフルクトースビスリン酸ホスファターゼ(FBPase)のH_2O_2に対する感受性の違いに起因していることを見いだした。そこで今回、EuglenaおよびChlamydomonasFBPaseのH_2O_2耐性機構および その他のCO_2固定関連酵素に及ぼすH_2O_2の影響について検討した。また、AsAPを含まない数種のラン藻についても同様の検討を行った。EuglenaおよびChlamydomonasの葉緑体 NADP-グリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼおよびリブロース5-リン酸キナーゼはFBPase同様、H_2O_2に対して耐性を有していた。ラン藻 Synechococcus PCC7942も 緑藻と同様のH_2O_2耐性機構を保持していた。Euglena葉緑体FBPaseは、高等植物のそれと異なり光による活性化を受けなかった。この結果より、Euglenaを含む藻類のFBPaseのSH基近傍の構造は高等植物と異なる可能性が示唆された。

1aE04

RuBisCOの履歴現象ならびに活性調節部位の進化

渡海 寛、榎本 幸人[1]、濱田 仁[2]、藤原 祥子[3]、横田 明穂
(大阪府大・農・農化、[1]神戸大・理・臨海実験所、[2]富山医薬大・医、[3]工技院・微工研)

C3, C4植物のRuBisCO(植物型)が強い履歴現象を示し、またその履歴現象を弱めるように働く活性調節部位を持っていること、光合成細菌やラン藻さらには単細胞緑藻のRuBisCO(細菌型)は履歴現象を全く示さず、活性調節部位を持たないことはすでに報告した。これらの結果から、光合成生物の水中から陸上への進化において、CO_2に対する親和性を極度に増加させた結果として履歴現象および活性調節部位を獲得したという考え方が可能になる。一方、RuBisCOの反応生成物であるグリコール酸の消去系酵素として、高等植物へと進化するColeochaetophyceaeやCharophyceaeではグリコール酸オキシダーゼ(GO)が、接合藻を除くChlorophyceae, Ulvophyceaeではグリコール酸デヒドロゲナーゼ(GD)が機能していることが知られている。よって、履歴現象と活性調節部位の獲得が光合成生物の進化のどの過程で起こったのかを知ることは、非常に興味深い。そこで紅藻、褐藻、硅藻および高等植物への進化途上の緑藻のRuBisCOの履歴現象ならびに活性調節部位の存否について検討した。

GOをもつ*Chara*(シャジクモ)、紅藻*Gelidium*(マクサ)、GDをもつ*Ulva*(アナアオサ)、*Enteromorpha*(ウスバアオノリ)のRuBisCOは植物型であった。一方、光合成細菌*Chromatium*、緑藻*Chlamydomonas*や*Euglena*のRuBisCOは細菌型であった。接合藻の一種*Closterium*(ミカズキモ)のRuBisCOはこれら両型の中間的な性質を示した。

1aE05

***Chromatium* RuBisCO への履歴現象誘発部位の導入**

樋口隆司、小林裕和[1]、横田明穂 (大阪府立大・農・農化、[1]静岡県立大・食品栄養・植物細胞工学)

高等植物型 RuBisCO はカルボキシラーゼ反応において、反応開始直後には高い活性を示すが、活性は数分以内に緩やかに低下し、やがて反応は直線的に進行することが知られている。この反応の二相性は fallover と呼ばれ、RuBisCO の構造変化による履歴現象が原因である。しかし単細胞緑藻や光合成細菌などの下等光合成生物型 RuBisCO では反応は直線性を示し、履歴現象は見られない。横田と渡海[1)]はホウレンソウ RuBisCO を用いて fallover に関与すると思われる 3 つの Lys 残基を決定した。これらの残基のうち 2 つは高等植物型 RuBisCO ではよく保存されているが、fallover を示さない下等光合成生物型 RuBisCO では Arg や Pro になっている。 我々はこれら 3 つの残基が活性にどのように関与しているのかを調べるため、高等植物と同じ L_8S_8 構造を持つが fallover を示さない光合成細菌 *Chromatium vinosum* の RuBisCO (cloned) の当該残基を部位特異的突然変異誘発によって Lys に変えた変異型 RuBisCO を得た。 これらの変異導入は直線性を示していた RuBisCO活性に変化をもたらした。大腸菌より精製したこれらの変異型酵素について、その特性を報告する。

[1)]Yokota & Tokai (1993) Submitted.

1aE06

RuBP吸光度変化を利用したRuBisCO活性の連続測定

村山寛、和田野晃、横田明穂 (大阪府大・農・農化)

RuBisCOは反応開始直後は高い活性を示すが、 蛋白の緩やかな構造変化により活性の低下を起こし、数分後に定常状態へ移行する二相性の反応を示す。また、この活性の折れ曲がりの程度は、高濃度(2mM以上)のRuBP存在下において、触媒部位とは異なる活性調節部位へのRuBPの結合により緩和されるなど、RuBisCO活性は非常に複雑な挙動を示す。履歴現象と呼ばれるこの現象を詳しく解析するため、我々はより正確な活性測定法を必要とした。RuBisCOの活性測定には幾つかの方法が確立され、広く利用されて来ているが、そのいずれの方法を採っても活性を直接的に信頼性をもって測定することは出来ない。これを可能にするには、基質あるいは生成物の変化量を連続測定する必要がある。 我々はRuBPとPGAの紫外部吸収の違いに着目した。 基質であるRuBPが紫外部に吸収を持つことはあまり知られておらず、また、そのモル吸光係数は低いため、これまでRuBisCO活性の直接的な測定に分光光度計が用いられることはなかった。 しかし、近年の測定機器の進歩により、RuBisCO反応中のRuBP吸光度の変化を測定可能なのではないかと考え試みた結果、 高感度での測定に成功した。 この方法により、RuBisCO活性の直接的かつ連続的な測定が可能になったので報告する。また、この活性測定方法を用いて履歴現象における蛋白構造変化の反応速度定数を推定したので併せて報告する。

1aE07

ACTIVATION MECHANISM OF RIBULOSE BISPHOSPHATE CARBOXYLASE/OXYGENASE BY INORGANIC PHOSPHATE

Md. ANWARUZZAMAN, Shinichi SAWADA[1], Hideaki, USUDA[2], Akiho YOKOTA, Dept. Agric. Chem., Univ. Osaka Pref., Sakai, Osaka 593, [1]Dept. Biol., Hirosaki Univ., Hirosaki, Aomori 036, [2]Lab. Chem., Fac. Med., Teikyo Univ., Hachioji, Tokyo 192-03

Ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO) requires to be activated beforehand by CO_2 and Mg^{2+} to reveal its activity. The full activation is attained by more than 120 μM CO_2 in the presnce of 10 mM $MgCl_2$ in the *in vitro* activation. RuBisCO activase has been reported to be involved in the activation in the presence of less than 10 μM CO_2 *in situ*. However, a majority of RuBisCO is in an inactivated state in sink-limited leaves of single-rooted soybean at a high light intensity, and inorganic phosphate (Pi) has been inferred to function in the activation at air level CO_2 [Sawada *et al.* (1990) *Plant Cell Physiol.* **31**, 697-704; Sawada *et al.* (1992) *Plant Cell Physiol.* **33**, 943-949]. In this study, we explored the mechanism of the stimulation of the activation of purified spinach RuBisCO by Pi. In the presence of 6 μM CO_2 at pH 8.0, the activation state of RuBisCO increased with increasing concentrations of Pi in the activation mixture. The activation was not due to contaminating CO_2 included in the stock Pi solution. The plot of the activation state against the Pi concentration gave a sigmoidal curve with an inflection point at about 3 mM Pi. The experiments with 2-carboxyarabinitol bisphosphate showed that the Pi-stimulated activation was due to the promotion of the binding of CO_2 to the activation sites even in the presence of 6μM CO_2.

1aE08

RuBisCO relative specificity簡易決定法

横田 明穂、Martin A. Parry[1] (大阪府大・農化、[1]Rothamsted Exp. Stat., UK)

RuBisCOはcarboxylase反応とoxygenase反応の両方を触媒する。carboxylase反応においてはO_2はCO_2に対して拮抗的に、oxygenase反応においてはCO_2はO_2に対して拮抗的に反応を阻害する。このcarboxylase反応とoxygenase反応の速度比 vc/voを決める ($Vcmax/Kcm$)/($Vomax/Kom$)、relative specificity (τ) は、光合成細菌のRuBisCOからC3植物のRuBisCOへの進化に伴い大きく増加する。 現在このτは、人為的に変異させたRuBisCO mutantsや新規生物のRuBisCOの解析に、欠かせないものとなっている。 これまでτは、^{3}H-RuBPと$^{14}CO_2$を使い決定されてきたが、^{3}H-RuBPの合成や$^{14}CO_2$の使用など、容易に研究できる対象ではなかった。 我々は、これらのRIを一切使わず容易にτを測定できる方法を考案した。 RuBisCOの反応の後、生成物の3-phosphoglycerateと2-phosphoglycolateのリン酸基をalkaline phosphataseによって除去した。 alkaline phosphataseはこの反応生成物である無機リン酸によって強く阻害されるためにリン酸基の除去は完全には起こらなかった。しかしこの酵素の両リン酸エステルに対する親和性は同じであったので、本法が有効であると判断した。 生成されるglycerateとglycolateはHPLCを使った高感度有機酸分析機によって定量した。 この方法を使い、すでに報告されているRuBisCOおよび種々の藻類のτを決定した。

1aE09

ジャスモン酸に応答する大豆リポキシゲナーゼＬ－４は葉の貯蔵タンパク質vsp94のメンバーである

加藤友彦、柴田大輔　（三井植物バイオ研究所）

植物リポキシゲナーゼは耐病性や細胞内シグナル伝達に関わっていると考えられているが、個々のリポキシゲナーゼの役割については不明な点が多い。私たちは発芽した大豆の子葉におけるリポキシゲナーゼタンパク質の変化について調べ、新たに３種のリポキシゲナーゼＬ－４，Ｌ－５，Ｌ－６を見いだした（Plant Physiol. 98, 324-330, 1992）。このうち最も発現量の多いＬ－４遺伝子を単離し、大豆の各組織での発現を調べたところＬ－４遺伝子は若い組織で強く発現しており、またジャスモン酸を気体状態で作用させると葉で発現量が高まることを明かとした（１９９２年度年会）。さらに種子形成の始まった大豆から２週間連続して種子を取り除き続けると、Ｌ－４遺伝子の発現量が著しく増加することも明らかにしている。今回、リポキシゲナーゼＬ－４遺伝子の全塩基配列を決定し、転写開始部位、翻訳開始部位、イントロンの挿入部位が他のリポキシゲナーゼ遺伝子間で保存されていることを見いだした。このＬ－４遺伝子から推定されるアミノ酸配列は、窒素代謝に関連して葉で蓄えられるタンパク質の１種である94-kD Vegetative Storage Protein (vsp94)の部分的なアミノ酸配列と非常に高い相同性を示した。以上の結果は、リポキシゲナーゼＬ－４が葉の貯蔵タンパク質として機能をしていることを示すものであり、リポキシゲナーゼＬ－４は vsp94のメンバーであることが明かとなった。

1aE10

ジャスモン酸に応答する大豆リポキシゲナーゼＬ－４の精製とその基質特異性

岩本博行[1]、加藤友彦、柴田大輔（[1]福山大、三井植物バイオ研）

D1 リポキシゲナーゼは細胞内情報伝達物質の生合成や病害抵抗性機構に関わっていることが明らかになりつつある。これらの役割を担うリポキシゲナーゼはそれぞれ用意されていると考えられ、複数のリポキシゲナーゼが同一植物に見いだされる。しかし、個々の植物リポキシゲナーゼの生理的役割が明確にされた例は未だにない。私たちは、発芽に伴って発現する新たなリポキシゲナーゼの存在を明らかにし、遺伝子の単離を行ってきた(Plant Mol. Biol. 16, 353-359 (1990), Plant Physiol. 98, 324-330 (1992))。発現量の多いリポキシゲナーゼＬ－４遺伝子の塩基配列・発現解析の結果、これは葉の貯蔵タンパク質vsp94であることも判明し、また、細胞内情報伝達物質であるジャスモン酸で誘導されることが明らかとなった。そこで、リポキシゲナーゼ経路で合成されるジャスモン酸とＬ－４発現誘導との関係を調べるためにＬ－４を精製して性質を調べた。開花後に作られる種子を順次取り除くと葉でリポキシゲナーゼが多量に蓄積するので、この葉からＬ－４を精製した。リノール酸に対するＫｍ値は0.8mMであったのに対し、リノレン酸に対するＫｍ値は約7mMと異常に高い値を示した。ジャスモン酸がリノレン酸から生合成されることを考えあわせると、Ｌ－４はジャスモン酸の生合成には関わっていないと考えられる。現在、Ｌ－４のジャスモン酸誘導機構を調べるとともに、ジャスモン酸生合成に関わるリポキシゲナーゼの特定を進めている。

1aE11

病害抵抗性反応を示すイネ葉で特異的に発現するリポキシゲナーゼがジャスモン酸生合成に関わっている可能性について

白野由美子、彭友良、柴田大輔（三井植物バイオ研究所）

イネがいもち病菌に対して抵抗性反応を示す場合、葉でリポキシゲナーゼ活性が上昇する(Ohta et al. Plant Physiol. 97, 94-98, (1991))。私達はいもち病菌感染イネ葉からリポキシゲナーゼをコードするｃＤＮＡをクローニングし、ノーザン分析でこの遺伝子がいもち病菌に抵抗性を示す葉で特異的に発現することを示した（彭、白野、柴田　１９９１年度年会）。さらにこの遺伝子を大腸菌内で発現させ、リポキシゲナーゼを精製し抗体を作製した。この抗体を用いたウエスタン分析からもノーザン分析の結果を裏付けることができた。今回、このリポキシゲナーゼの役割を明らかにするため、大腸菌内で活性を有するリポキシゲナーゼを発現させその性質を調べた。その結果、このリポキシゲナーゼはリノール酸には作用せず、リノレン酸のみを基質とした。また、至適ｐＨは5.5にあり、さらにリノレン酸に対する酸素導入位置を調べた結果、ジャスモン酸生合成の前駆体である13-hydroperoxy linolenic acidを生成した。これらの結果は、この酵素が病害抵抗性反応時に特異的に発現してジャスモン酸の生合成に関わっている可能性を示唆している。このような基質特異性を示すリポキシゲナーゼは今回の報告が最初である。

1aF01

細胞質遺伝に関与する超微量オルガネラDNAの蛍光顕微鏡と電子顕微鏡による同時観察へのテクノビット包埋法の応用

黒岩常祥、藤江誠、内田英伸、黒岩晴子[1]（東大・理・植物、[1]共立女子短大・生物）

高等植物における色素体DNAとミトコンドリアDNAの子孫への伝達様式を新たに開発した細胞学的技術により解析した。花粉内の精細胞は花粉管細胞の多量の細胞質によって埋められており、精細胞のオルガネラ核の存否や、その核が色素体核かミトコンドリア核かなどの正確な評価は、DAPI-圧しつぶし法で解析することは困難であった。従って、正確な評価を得るためには、細胞を圧しつぶさず切片として構造をとらえることが必要であった。しかし従来の樹脂では自家蛍光を発したり4',6-diamidino-2-phenylindole（DAPI)の浸透が悪く花粉の薄い切片におけるオルガネラ核の挙動を解析することが出来なかった。

テクノビット樹脂は、上記のマイナスの問題点を全て克服できる包埋剤であることを見い出だした。また、超薄切片は蛍光像の観察後、電子染色し電子顕微鏡でも同じ視野を観察することができることが分かった。さらにオルガネラの蛍光像をコンピュータ画像処理により電子顕微鏡像に重ねるという技術の開拓にも成功した。この技術を用いて、オシロイバナとゼラニウムの花粉の切片において色素体核とミトコンドリア核の挙動を調べた。この結果は、既に我々が提唱している「色素体DNAとミトコンドリアDNAの選択的消化が母性遺伝の機構である」と言う説を強く支持している。

1aF02

シロイヌナズナの普通葉の発生過程におけるオルガネラDNA合成のBrdU法による解析

藤江誠、河野重行、黒岩晴子[1]、黒岩常祥（東大・理・植物、[1]共立女子短大・生物）

茎頂分裂組織の未分化な細胞が、光合成に適した細胞へと分化する過程で、色素体とミトコンドリアもその構造をダイナミックに変化させる。

茎頂の未分化な細胞では、色素体は小型でチラコイド構造も未発達であるが、ミトコンドリアは巨大な紐状に発達していた。茎頂の小型な色素体には小量のDNAしか含まれないが、葉緑体への分化に伴いDNAは急速に増幅され、色素体当たりのDNA含量は約40Mbpにもなった。この色素体DNA量の増大は、体積の増大・チラコイドの発達に先行して生じていた。一方、ミトコンドリアは茎頂分裂組織では大量のDNAを含むが、葉肉細胞への分化に伴いそのDNA含量は急速に減少した。そこで、茎頂分裂組織と葉原基でのDNA合成様式を、BrdU間接蛍光抗体法を用いて解析した。吸水後3～10日目のシロイヌナズナにチミジンのアナログである5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)を取り込ませ、組織中に取り込まれたBrdUの局在を抗BrdU抗体を用いた間接蛍光抗体法により検出し、DNA合成が行なわれた領域を決定した。茎頂分裂組織の細胞から葉原基が形成されると、体積の増大・チラコイドの発達に先立って、色素体のDNA合成が急速に活性化された。色素体DNAの合成活性は、吸水後6日目の分化が進行した葉肉細胞でも検出された。一方、ミトコンドリアDNAの合成は、3日目の若い葉原基では活発だったが、分化が進行した葉肉細胞では検出されなかった。この結果、オルガネラDNAの合成は、色素体では普通葉の発生過程の後期に、ミトコンドリアでは初期に活性化されることが明らかになった。

1aF03

タバコ培養細胞BY-2におけるアミロプラスト形成の誘導過程

°酒井敦、河野重行、黒岩常祥（東大・理・植）

タバコ培養細胞BY-2を用いて原色素体からアミロプラストへの分化を誘導する系を開発し、アミロプラストの分化過程とそれにともなう色素体遺伝子の発現制御の様式を解析した。通常、BY-2は未分化な原色素体を持つが、定常期のBY-2細胞をオーキシンを含まずサイトカイニン(BA; 1 mg/l)を添加した改変培地に移すと細胞内の色素体はデンプンを蓄積し、植え継ぎ後約48時間でアミロプラスト化する。このアミロプラスト分化の過程では細胞は増殖せず、細胞当たりの色素体数、色素体DNAコピー数も変化しない。アミロプラスト分化過程における色素体遺伝子の転写活性の変化を調べるため、誘導開始後、経時的に色素体核を単離し、そのin vitro転写活性を解析した。その結果、アミロプラスト分化の過程では多くの色素体遺伝子の転写活性が低下するが、psbAとpsaA/Bの転写活性は保持されることがわかった。こうした転写活性の変化が転写産物蓄積量の変化と一致するかどうかを調べるために、色素体DNA量を一定にしたノーザンハイブリダイゼーションにより色素体転写産物の蓄積量の変化を調べた。rRNA, psbA, psaA/Bの転写産物蓄積量はアミロプラスト分化過程を通じてほぼ一定または増大するが、他の多くの色素体遺伝子のmRNA量は減少する傾向を示し、in vitro転写活性の変化と一致した。これは、BY-2におけるアミロプラスト形成過程では、転写活性の変化が色素体遺伝子の転写産物蓄積量の決定に重要であることを示唆している。

1aF04

原始紅藻 *Cyanidium caldarium* RK-1株の色素体ゲノムの解析

太田にじ・河野重行・黒岩常祥　（東大・理・植物）

真核生物の起源と進化を明らかにするためには、原核生物と真核生物の境界に位置する、より原始的な真核生物を見いだし、その遺伝子構成を調べ、他の生物と比較することが最も有効な方法と考えられる。原始紅藻類に属する温泉藻イデユコゴメ(*Cyanidium caldarium* RK-1株)は、細胞核、ミトコンドリア、色素体を各1個含む非常に単純な細胞体制をした生物で、細胞核DNA含量も真核生物の中で最も少ないものの1つである。その色素体は、ラン藻と極めて類似した光合成色素とフィコビリソームを持ち、色素体核が色素体の中心に位置していることなどから、現在知られている中で最も原始的な真核生物の1つと考えられる。本研究では、原始的な特徴を保っている色素体に着目し、その色素体ゲノムの解析を行った。

C. caldarium RK-1株の色素体ゲノムは約150kbpの環状DNAで、約5kbpという小さな逆位反復配列(IR)をもち、大単一コピー領域(LSC)は約113kbp、小単一コピー領域(SSC)は約27kbpであった。また、色素体ゲノムに特徴的な遺伝子であるrbcL及びその近傍の塩基配列を決定したところ、紅藻や褐藻で見られるように、*rbcL*と*rbcS*がオペロンとなってコードされていることがわかった。さらに重要な知見として、色素体内で機能するが、細胞核コードであると考えられていた2つのタンパク質の遺伝子、*trxM*（チオレドキシンm型遺伝子）と*trpA*（トリプトファン合成酵素αサブユニット遺伝子）が色素体ゲノム上にコードされていることを初めて発見した。

C. caldarium のような原始的な植物でも色素体ゲノムの大きさが他の植物の色素体ゲノムと同様に約150kbpと小さく、IRが存在することから、祖先型藍色細菌が共生後早期に多量の遺伝子を細胞核へと移行あるいは消失させて色素体へと変化し、IRを形成したことが推測される。その後、更に*trxM*, *trpA*, *rbcS* のような遺伝子が徐々に細胞核へ移行したと考えられる。

1aF05

ミトコンドリア融合を誘起するプラスミドの持つ全遺伝子群

高野博嘉・森君江・河野重行・黒岩常祥　(東大・理・植物)

真正粘菌Physarum polycephalumのミトコンドリア融合(mF)プラスミドは約16kbpの線状分子であり、接合期および子実体形成期にミトコンドリアの融合を引き起こす。ミトコンドリア融合を誘起する遺伝子を探索するため、mFプラスミドの全塩基配列を決定した。mFプラスミド上の10のORFは、1つのORFを除いて、全て同一鎖上にコードされていた。同一鎖上に存在する9つのORFの大きさは、アミノ酸数で5'上流から順に231、163、640、235、118、1130、366、309、547であった。mFプラスミドの最末端には205bpの逆位反復配列があり、その内側に144bpの繰り返し配列が分子種によって1から10数回繰り返していた。さらにその内側には591bpの逆位反復配列が存在していた。ORF-547は、この591bpの逆位反復配列と144bpの繰り返し配列を1つ含んでおり、逆鎖中にはこれらの配列内の読み枠部分のみからなるORF-221がコードされていた。ORF-547には今までに報告されたほとんどすべてのDNAポリメラーゼで見つかっている3つのドメインが保存されており、ORF-547はDNAポリメラーゼであることが強く示唆された。逆鎖にコードされているORF-221は3つのドメインのうちの2つしか持っておらず、DNAポリメラーゼとしては機能していないと予想される。他のORFについては相同性のある遺伝子は見いだされておらず、ミトコンドリア融合との関連については不明である。現在、融合に関連した遺伝子を同定するために、融合株から単離した非融合株のプラスミドおよびmtDNAを解析中である。

1aF06

オオムギ葉緑体リボソームタンパク質の分析

牧　秦史、田中　歩、和田　明[1]、辻　英夫　(京都大・理・植物、[1]京都大・理・物理)

我々はこれまで、緑化過程における遺伝子発現の翻訳段階における調節に注目して、オオムギリボソームのタンパク質構成の変化について研究を行い、前年度の本大会ではオオムギ細胞質リボソーム(80S)のタンパク質構成が緑化過程において変化することを報告した。今回は葉緑体リボソーム(70S)を単離し、このタンパク質構成を調べたので報告する。

暗所または明暗周期下で6日間育てたオオムギの第一葉より無傷葉緑体を単離し、低張液で破砕後、ショ糖密度勾配遠心によって70Sリボソーム画分を得た。この画分よりリボソームタンパク質を抽出し、ラジカルフリー高還元性二次元電気泳動法によってタンパク質構成を調べたところ、黄化葉と緑葉との間に差が見られた。また、同じ原核生物型(70S)リボソームである大腸菌リボソームのタンパク質構成と比較すると、葉緑体リボソームは酸性領域の構成タンパク質を多数含んでいるという特徴を持つことがわかった。緑化過程におけるリボソームタンパク質構成の変化および酸性リボソームタンパク質のN末アミノ酸配列の分析結果についても述べる。

1aF07

イネ virescent 突然変異株における葉緑体 $tRNA^{Glu}$ 遺伝子発現の温度依存性

楠見健介、射場厚、川畑俊一郎、西村光雄（九大・理・生物）

イネの温度感受性突然変異株である virescent は、30℃では正常に生育するが、20℃ではプラスチドはクロロフィルを合成せず、葉緑体としての機能と構造の発達が見られない。本研究では virescent のクロロフィル生合成系の阻害部位について調べた。これまでの研究から、緑化しない生育条件（20℃）において、葉緑体で機能する蛋白質をコードしている核遺伝子（*cab*, *rbcS* など）の発現はほとんど影響を受けないが、葉緑体にコードされている遺伝子（*rbcL*, *psbA* など）の発現は非常に強い抑制をかけられていることが明らかにされている（射場ら, 1991）。同じ生育条件でクロロフィル生合成経路を調べた結果、その主要中間産物である δ-アミノレブリン酸の蓄積が抑えられていた。このことにより、C_5経路の段階で特異的に阻害されることが示唆された。ノーザン法により解析した結果、 C_5経路の最初のステップでコファクターとして働く 葉緑体 $tRNA^{Glu}$ の発現が抑制されていた。C_5経路の基質であり、最初の段階で、葉緑体 $tRNA^{Glu}$ と結合するグルタミン酸の蓄積に異常は見られなかった。C_5経路を含むクロロフィル生合成系に働く全ての酵素は核にコードされていることから、以上の結果は virescent における低温下でのクロロフィルの合成阻害は、 葉緑体 $tRNA^{Glu}$ の特異的な発現抑制によることを示唆している。

1aF08

Euglenaの葉緑体形成過程におけるLHCPⅡの葉緑体内での転移：ストレプトマイシンの効果.

長舩哲齊、J.A.Schiff[1]、長谷栄二[2]（東京医大・微生物、[1]ブランダイス大・光生物、[2]帝京大・医・化）

先に免疫電顕法により同調培養したEuglenaのcell cycle中および葉緑体形成過程における、光化学系Ⅱ・集光性クロロフィルa/b結合タンパク質複合体(LHCPⅡ)の局在を追跡した。その結果、LHCPⅡタンパク質分子はゴルジ装置を経由し、葉緑体へ転送されることが判った。

今回、暗静置培養細胞に0.1%ストレプトマイシンを添加し、正常な葉緑体形成を誘導する光照度150 ft-cを照射し、葉緑体構造の形成過程を追跡すると、プラスチド内部の構造はある程度の発達が見られた。 すなわち、PLBに隣接し結晶様構造が形成され、ピレノイド構造から新しく5-6枚のチラコイド膜が形成された。しかしながら、ストレプトマイシン存在下では光照射後もPLB構造の消失が起こらなかった。このような細胞について抗LHCPⅡ抗体-免疫電顕観察すると、LHCPⅡは結晶様構造上に局在しチラコイド膜には全く見られなかった。 この結果から、ストレプトマイシン存在下でLHCPⅡは細胞質で合成されゴルジ装置を経由しプラスチド内に輸送されるが、プラスチド内部のLHCPⅡはチラコイド膜への転送が阻害されることが判った。

Osafuneら, J.Struct.Biol. 109:97-108 (1992)
Osafuneら, Exp. Cell Res. 193:320-330(1991)

1aF09

光化学系Ⅱ 23-kDaタンパク質のストロマにおけるプロセシング部位の決定

小西智一、丸田嘉幸、篠原健司[1]、渡辺 昭（名大・農・生化学制御、[1]農水省・森林総研）

23-kDaタンパク質の前駆体は分子量29kDaのポリペプチドで、適当なエネルギー源の存在下で単離葉緑体のチラコイド内腔へと輸送される。前回の大会で、われわれはこの前駆体がATPによって包膜を通過し、プロセシングをうけて分子量27 kDaのポリペプチドとしてストロマに蓄積することを示した。この27 kDaポリペプチドは光照射下でチラコイド膜を通過することから、輸送中間体であることが確かめられた。今回の発表ではこの中間体のアミノ末端がAla 38であること、およびその周辺の配列（Val-Cys-Lys⇓Ala）が高等植物のチラコイド内腔のタンパク質の輸送ペプチドの間で保存されていることを示す。この配列は、これらの前駆体をプロセシングするために必要であることが考えられる。

1aF10

葉緑体に輸送されたフェレドキシンNADP$^+$還元酵素(FNR)と70kD熱ショック蛋白質(Hsp70)、及びシャペロニン60(Cpn60)との相互作用

槻木竜二、西村幹夫（基生研・細胞生物、総合研究大学院大・生命科学）

Hsp70とCpn60はそれぞれが非常によく保存されたかたちで、原核細胞から真核細胞まで広く存在している一群の蛋白質であり、他の蛋白質のほどけた状態の維持、折れたたみ、複合体の形成、あるいは複合体からの解離に関与すると共に、変性蛋白質の再生に関与する分子シャペロンであることが提唱されている。近年、高等植物の葉緑体にもHsp70とCpn60が存在することが確認され、その一次構造も報告されているが、これら蛋白質が葉緑体蛋白質の成熟過程にどの様に関わっているのかは以前としてはっきりしない。

演者らは単離葉緑体に試験管内で輸送させたFNRとHsp70、Cpn60との相互作用を抗Hsp70[1]、及び抗Cpn60抗血清[2]を用いて解析した。輸送されたFNRは抗Hsp70、抗Cpn60抗血清によって、ATPの存在しない条件で免疫沈降された。このことは輸送されたFNRとHsp70、及びCpn60との間に物理的な相互作用があることを示している。更に、輸送反応時間を追って解析した結果、輸送されたFNRは一過的にHsp70と相互作用すること、そしてそのFNRとHsp70との相互作用はCpn60とのそれに先立つことが示された。以上の結果はFNRが葉緑体に輸送された後、Hsp70、Cpn60の順に連続して相互作用していることを示唆している。

[1] Tsugeki, R. and Nishimura, M. (1992) in: *Reseach in Photosynthesis*. (Murata, N. eds) in press. [2] Tsugeki, R., Mori, H. and Nishimura, M. (1992) *Eur. J. Biochem.* 209, 453-458.

1aF11

発芽カボチャ子葉のチオラーゼｃＤＮＡクローニングとその構造解析

加藤 朗[1,2]、林 誠[1]、森 仁志[1]、西村 幹夫[1,2]、（基生研・細胞生物[1]、総合研究大学院大・生命科学[2]）

カボチャなどの脂肪性種子の子葉組織では、光照射による緑化過程においてマイクロボディの機能変換が観察される。すなわち、糖新生に関わるグリオキシゾームは光呼吸に関与する緑葉パーオキシゾームへと変換するのである。我々はこの変換過程においてグリオキシル酸経路を構成する酵素群が徐々に減少し、変わって光呼吸を行う酵素群が *de novo* に生合成されることを明らかにしている。β酸化系は脂肪酸の分解を行う過程であり、グリオキシル酸経路と同じくグリオキシゾームに局在している。チオラーゼ（3-ketoacyl CoA thiolase）は、そのβ酸化系の最終反応を触媒する酵素である。チオラーゼはグリオキシゾームだけでなく緑葉パーオキシゾームにも存在するが、機能変換における変動等、詳しい解析は行われてはいない。また、マイクロボディに局在する酵素の多くは成熟型と同じ分子量で合成され、そのC末端に特徴的な局在化シグナルを持つが、動物パーオキシゾームのチオラーゼは例外的に分子量の大きい前駆体として合成され、N末端側の延長ペプチドに局在化シグナルを持つことが報告されている。そこで、マイクロボディ機能変換におけるβ酸化系の変動を明らかにし、さらに、植物マイクロボディにおける高分子量前駆体の局在化機構について解析するために、チオラーゼのｃＤＮＡクローニングを行った。その構造解析の結果もあわせて報告する。

1aF12

形質転換イネ培養細胞で機能するタンパク質の液胞輸送シグナルの解析

岩崎行玄[1]，松岡健[2]，島本功[3]，旭正[1]，中村研三[2]
（[1]福井県立大・生物資源，[2]名古屋大・農・生化，[3]植物工学研究所）

我々は，サツマイモ塊根に大量に蓄積する液胞タンパク質スポラミンを用いて，液胞への輸送機構を解析している．スポラミンはプレプロ型前駆体構造を持ち，小胞体，ゴルジ体を経て液胞に局在化する．形質転換タバコ培養細胞を用いた解析から，スポラミン前駆体のN末端プロペプチドが液胞への輸送に必須であり，その site-directed mutagenesis から Asn-Pro-Ile-Arg 配列（ＮＰＩＲモチーフ）が，輸送シグナルのコア構造であることを見いだしている．一方，オオムギレクチン等の液胞タンパク質では，C末端プロペプチドに液胞輸送シグナルが同定されているが，そこにはＮＰＩＲ モチーフは存在せず，酸性アミノ酸が数個の疎水性アミノ酸に続く特徴あるモチーフ（疎水性／酸性モチーフ）を有する．今回は，イネ培養細胞を用いて，ＮＰＩＲ モチーフが広く高等植物間で液胞輸送シグナルとして機能するか否か等を検討した．

１．野生型スポラミンは，タバコ培養細胞と同様の processing を受けたことから液胞へ輸送されていると考えられた．しかし，タバコと異なり，Ｏ－結合型糖鎖の付加は受けていないようである．

２．ＮＰＩＲ モチーフを含むプロペプチドを欠落させると，スポラミンは培地中に分泌された．このことからイネにおいても，ＮＰＩＲ モチーフが液胞輸送シグナルとして機能していると推定された．ＮＰＩＲ モチーフと疎水性／酸性モチーフは，構造上の類似性が認められないことから，高等植物細胞では，同一の植物においても，複数の液胞輸送シグナルが機能していると推定される．

1aG01

クロレラウィルス粒子に存在するＤＮＡ結合蛋白質の解析

古川誠治、山田隆　（広島大・工・醗酵）

クロレラウィルス（ＣＶＫ２）は正２０面体構造をした大型（直径 200nm)ウィルスであり、350KbのゲノムＤＮＡと４０種以上の蛋白質から構成されている。ウィルス蛋白質の中で最も多量に存在するのは52kdの糖蛋白質（Vp52）でありウィルスのカプシドを構成している。またVp52などで構成されるウイルスカプシドは4M 尿素処理によりウイルスコアから分離できることがわかっている。しかしながら、ウィルスカプシド、コア共にその蛋白質レベルでの具体的な構造と機能はいまだ明らかにされていない。

今までにクロレラウィルスはホストの細胞質で複製することがわかっており、そのことからＤＮＡ複製や転写に必要な蛋白質をウィルス自身がコア中に保持しているものと思われる。そこで、今回、サウスウエスタン法によりウィルスコアに存在するＤＮＡ結合蛋白質の検索を行なった。その結果、７つのＤＮＡ結合蛋白質が検出された。それらの中には、ｄｓＤＮＡ特異的に結合するものも存在した。また、ｄｓＤＮＡ特異的に結合するウィルス蛋白質のうち25kd蛋白質（Vp25）の結合性は塩基配列に依存していた。現在、クロレラウイルスの感染初期に発現する遺伝子の１つである *EF-3*の上流域を含むＤＮＡ断片を使用し、Vp25の転写因子としての可能性を調べているところである。

1aG02

ウイルスCVK2 が感染したクロレラにおける、ウイルス蛋白伸張因子EF-3様遺伝子の発現

福田崇雄、田村耕一郎、山田隆　（広島大・工・醗酵）

CVK2は単藻類のクロレラに感染する正２０面体の大型ウイルスである。このウイルスは約350kbpの巨大な２本鎖DNAをゲノムとする。

最近我々は天然痘ウイルスのゲノムの遺伝子とハイブリダイズするDNAを見つけた。 この領域を含む2.6kbpのEcoR Ⅰ/Hind Ⅲフラグメントがクローニングされ、塩基配列の決定が行われた。EMBLデータベースでのホモロジーサーチの結果、この遺伝子は酵母における蛋白伸張因子(translational elongation factor)EF-3の遺伝子に相当する事が判った。 このウイルス遺伝子は3255bp のORFを持ち、このORFは1085のアミノ酸をコードしている。この遺伝子産物と酵母のEF-3はアミノ酸配列上でもホモロジーが存在している。CVK2を感染させたクロレラ(NC64A)から全RNAが調整され、ノーザン解析が行われた。この結果この遺伝子はウイルスの感染サイクルの初期（感染後２０分）に発現している事が判った。驚くべき事にこの遺伝子は、感染サイクルのほとんど終わり（感染後２４０分）においてさらに多く発現していた。この遺伝子の産物の生理機能を解明するために、これを精製しin vitro 翻訳系への影響を調査している。

1aG03

Agrobacterium tumefaciens の
新染色体病原性遺伝子の分離と構造

姜熙玩、Wirawan I.Gede Putu, 小島峯雄
（名大、農、生化学制御）

トランスポゾン変異法を用いて、染色体に変異を起こした *A. tumefaciens* の非病原性変異体(B-119 株)を分離した。B-119 株と親株は成育速度と宿主への接着能において差はなかった。Tn5 は B-119 株の染色体の 1 箇所に挿入されていた。B-119 の非病原性がこの Tn5 の挿入によって引き起こされていることは標識交換法により確認された。親株染色体上の Tn5 挿入標的部位（3.0 kb）をクローニングして塩基配列を決定した。2 つの ORF（ORF-1とORF-2）が検出された。Tn5は ORF-2 の中央部に挿入されていた。相補試験も ORF-2 が病原性に関与していることを示した。ORF-2 の塩基配列よりその産物は膜タンパク質であることが推定された。本遺伝子と相同性を示す遺伝子は報告されていない。

1aG04

非マメ科植物－アベナ分泌物による根粒形成遺伝子(nod)の活性化

手呂内伸之、庄野邦彦[1]（大妻女子大・一般・生物、[1]東京大・教養・基礎科学）

われわれは非マメ科植物あるいは非宿主マメ科植物と根粒菌との相互作用を解析することによって、根粒形成における根粒菌とマメ科植物の宿主特異性が根粒形成のどの段階で、どのような要因によって決められているかを明らかにすることを目的として研究を行ってきた。すでに根粒形成過程で宿主植物にみられる根毛のカーリングという現象が根粒菌をその宿主植物から分泌されるフラボノイドで前処理(根粒形成に必須な根粒菌の nod 遺伝子の発現を誘導する処理)することによって非宿主植物の根毛のカーリングを起こすことを発表した。今回は実験の過程で未処理のクローバ菌が非マメ科植物－アベナの根毛のカーリングを誘導することを見いだし、その現象に解析を加えたので報告する。

根粒菌による宿主マメ科植物の根毛のカーリングには宿主植物の根から分泌するフラボノイドによって発現が誘導されたnod遺伝子が関係することが知られている。そこで、アベナの根毛からもクローバと同様にクローバ菌の nod 遺伝子の発現を誘導する物質が分泌しているかどうかを nod-lacZ fusion 遺伝子を持つ根粒菌を用いて検討した。その結果、

1.アベナの根毛の分泌液はクローバの根毛の主要な nod 誘導物質である7,4'- dihydroxyflavoneと同様に nod-lacZ 遺伝子を持つクローバ菌のβ- ガラクトシダーゼ活性を誘導したが、他の根粒菌の活性には影響を与えない。

2.fusion 遺伝子を持つ根粒菌をβ- ガラクトシダーゼの基質である X-gal を含む培地上でアベナに感染させると根毛およびその周辺が青色を呈し、根毛付近の根粒菌のβ- ガラクトシダーゼ活性が誘導されていることが示された。

以上の結果はアベナの根よりクローバ菌の nod 遺伝子を活性化する何等かの物質が分泌されていることを強く示唆する。またアベナでは根粒ができないことからカーリング以降のステップに植物側の原因によって根粒形成が制限されているステップがあることを示すものと思われる。

1aG05

Rhizobium leguminosarum bv.trifolii の根粒形成遺伝子を移入した Agrobacterium tumefaciens の特性

森　清一郎，東　四郎，内海　俊樹，阿部　美紀子，（鹿児島大・理・生物）

R.l.bv.trifolii ANU843株の根粒形成遺伝子（common and host-specific nod genes）をクローニングしたプラスミド，pRt032 を A.tumefaciens A136株（Ti-plasmid 欠損）と R.l.bv.trifolii H1株（Sym-plasmid欠損）へ移入した。形質転換 Agrobacterium（TM1株），Rhizobium（H1t1株）ともにホワイトクローバー（Trifolium repens cv.Ladino）に対し根粒を形成した。これらの根粒内部には，感染糸，細胞内バクテリアが存在した。さらに，TM1株は低頻度ではあるがアルファルファ（Medicago sativa cv.Common）に対しても根粒様構造の形成を誘導した。この構造内部には，感染糸，細胞内バクテリアの存在は認められなかった。

1aG06

エンドウNod⁺Fix⁻突然変異体に形成される根粒の特性

玉置雅紀、高木正伸、菅沼教生（愛知教育大・生命科学）

マメ科植物と根粒菌の共生関係は、宿主植物と根粒菌の相互作用により成立する。根粒を形成する（Nod⁺）が形成された根粒が窒素固定能を示さない（Fix⁻）宿主植物の突然変異体は、植物による窒素固定能の発現機構を解明する材料として有効であると考えられる。われわれは、エンドウNod⁺Fix⁻突然変異体E135（sym13 sym13）に形成される根粒の特性を明らかにするために、根粒のタンパク質組成、Nodulin の発現、炭素と窒素代謝に関わる酵素活性を正常品種Sparkle と比較検討した。

3～7週齢の根粒の可溶性タンパク質組成をSDS-PAGEで調べた結果、3週齢ではタンパク質組成に違いがみられず、4週齢以降E135根粒で15、38、87kDa のバンドが減少した。次に、根粒特異タンパク質（Nodulin ）の抗体を作製し、Nodulin の発現パターンをWestern blotによって比較した。その結果、3週齢では差がみられず、4週齢以降、E135根粒において35.5kDa のNodulin が消失し、代わって6週齢以降26、27、31kDa のバンドがE135根粒で新たに出現した。また、ダイズレグヘモグロビン（Lb）抗体によりLbの検出を試みたところ、E135根粒においても6つのサブユニットの存在が確認された。しかし、ヘム鉄含量はSparkle に比べE135根粒では低かった。Phosphoenolpyruvate carboxylase、Sucrose synthase、Alanine-pyruvate aminotransferase、Glutamine synthetase、Glutamate synthase の活性を測定したところ、いずれの酵素活性も3週齢では差がなく、4週齢以降E135根粒において低かった。

1aG07

病原菌シグナルによるエンドウ防御反応の制御(5)：ポリフォスフォイノシチド代謝系と原形質膜ATPase 間の相互制御について

日野　勲、豊田和弘、山田哲治、奥　八郎、白石友紀（岡山大　農）

エンドウ褐紋病菌の生産するサプレッサー(S) は宿主原形質膜 ATPase 活性を阻害すること、およびP 型 ATPase 阻害剤バナジン酸 (V) もエリシター (E) で誘導される防御反応をS と同じ様式で抑制することから ATPase と防御応答との強い関連が示されている。今回は、E および S による膜情報伝達系の制御について調べた。E はポリフォスフォイノシチド (PI) 代謝系を活性化するが、S 又は V 共存下ではこの活性化は抑制されることや、PIP2 が ATPase 活性を増高させることから、ATPase と PI 代謝系の関連が示された。原形質膜画分を 0.35% デオキシコール酸で処理後、グリセロール密度勾配遠心で得た各分画の ATPase および PI kinase 活性を調べた。その結果、S および V 感受性の ATPase 活性に富む画分中に PI kinase 活性も確認された。本活性は E で増高し、S 又は V によって抑制された。Triton X-100 処理原形質膜では、V は ATPase を阻害するにも関わらず、PI kinase 活性を阻害しないことと以上の結果とを考え合わせると、ATPase—PI 代謝系クロストークの可能性が推定された。

1aG08

エンドウ褐紋病菌サプレッサーおよびそのペプチド部分のエンドウ原形質膜ＡＴＰase活性に対する阻害効果

加藤敏朗[1,2]・豊田和弘[1]・齋藤公児[2]・田原 誠[2]・白石友紀[1]・山田哲治[1]・奥　八郎[1]

([1]岡山大・農・植病、[2]新日鐵(株)先端技術研究所)

エンドウの病原菌である褐紋病菌は、宿主の動的抵抗反応を抑制する物質(サプレッサー)を生産する。2 種類のサプレッサーを精製し、化学構造を GalNAc-Ser-Ser-Gly, Gal-GalNAc-Ser-Ser-Gly-Asp-Glu-Thr と決定した (PCP 33: 663-667,1992)。2種のサプレッサーは、ともにファイトアレキシンの蓄積を遅延させる効果を有しているものの、原形質膜ATPase 活性に対する効果は異なることが *in vitro* および *in situ* の実験にて判明した。そこでエンドウ原形質膜ATPase活性阻害を担う化学構造を明らかにするために、精製サプレッサー(2種)に加え、合成ペプチド(11種)を用いて *in vitro* での効果を調べた。実験に供したいずれのペプチドよりもSuppresc in B による阻害効果が高かった。更に、阻害効果を示したもの(Suppresc in B および8 種のペプチド)について動力学的解析を行ったところ、非拮抗型、拮抗型、およびそれらの混合型の 3 タイプに分類できた。*p*-nitrophenyl phosphateを基質としてエンドウ原形質膜画分の酸性ホスファターゼ活性に対する効果を調べたところ、ATP ase 活性に対して非拮抗型の阻害を示した3種 (Suppresc in B, Asp-Glu-Thr, Gly-Asp-Glu) は本活性を阻害した。以上の結果はそれらがATPaseのホスファターゼ部位へ作用していることを示唆している。

1aG09

イネ培養細胞のミクロゾーム膜画分にはキチン由来のエリシターに対する高親和性結合部位が存在する

渋谷直人、賀来華江、朽津和幸、Maliarik, Mary J.*（農水省生物研、ミシガン大学医学部）

種々の高等植物が、病原菌あるいは植物自身の細胞表層由来のオリゴ糖をシグナルとして、生体防御機構を活性化することが知られている。こうした糖質性のエリシターを認識するレセプターに関しては、大豆の原形質膜画分に分岐β-グルカンヘプタマーに対する高親和性結合部位が存在することが報告されているのみで、その他の植物由来あるいは特異性の異なるレセプターに関する報告は見あたらない。我々は最近、特定の重合度以上のN-アセチルキトオリゴ糖が極めて低濃度で、イネ培養細胞のファイトアレキシン[1]や活性酸素[2]の生成、特定の遺伝子の活性化[3]や細胞内外のイオン濃度の変化[4]などを引き起こすことを見いだした。こうしたオリゴ糖に対する特異的なレセプターが存在するかどうかを調べるため、$(GlcNAc)_8$のチラミン誘導体を^{125}Iでラベルした放射性リガンドを合成し、イネ培養細胞のミクロゾーム膜画分に対する結合性を調べた。ミクロゾーム膜画分に対するこのリガンドの結合は飽和型の曲線を示し、そのスキャッチャードプロットによる解析から、解離定数がnMオーダーの非常に高い親和性を持った単一種の結合部位が存在することが示唆された。また、この放射性リガンドの膜への結合は低濃度の$(GlcNAc)_7$あるいは$(GlcNAc)_8$で阻害されたが、脱アセチル化したキトサンのオリゴマーでは阻害されず、エリシター活性で認められた特異性とよく対応した。これらの結果は、この結合部位がレセプターとしての要件を備えていることを示唆するものである。 1) Yamada, A. et al., Biosci. Biotechnol. Biochem., in press.; 2) 朽津和幸、渋谷直人（1993）本大会講要; 3) 西沢洋子ほか（1991）日本植物病理学会講要; 南栄一ほか（1993）本大会講要; 4) 朽津和幸ほか(1992) 日本植物学会講要

1aG10

イネ培養細胞において糖質エリシター処理時初期に活性化される遺伝子；

南 栄一，朽津和幸[1]，渋谷直人[1]，河内 宏[1]，大槻義昭[2]
（農水省農環研，[1]生物研，[2]農研センター）

イネいもち病菌細胞壁の骨格を形成するキチンのオリゴマー(N-アセチルキトオリゴ糖；以下$(GlcNAc)_7$と略)は、イネ懸濁培養細胞に対して低濃度で高いファイトアレキシン誘導活性を示し(Shibuyaら 1990)、また短時間内に一過的な細胞内外のイオン濃度の変化をもたらす(朽津ら 1992)高活性のエリシターである。そこでこの系における核遺伝子の発現変化の解析を目的として、エリシター処理後短時間で発現する遺伝子の単離を試みた。

$(GlcNAc)_7$を15分間処理した細胞から抽出したPoly(A)$^+$-RNAを鋳型としてcDNAライブラリーを作製し、これをsubtraction法によって調製したプローブを用いてスクリーニングした。候補のクローンのうちEL2, EL3と命名した2クローンを以下の実験に供した。EL2 mRNAは無処理の細胞でも僅かに検出され、処理60分後にピークに達した。一方EL3 mRNAは無処理の細胞では検出されず、処理15分後にピークとなり60分後には再び検出されなくなった。両者の蓄積は処理6分後には観察され、極めて短時間に活性化される遺伝子であると考えられた。$(GlcNAc)_7$はこれらの蓄積に低濃度で顕著な効果を示すが、脱アセチル体であるキトサンオリゴマーは効果がなく、また高いエリシター活性を有するβ-グルカン断片も低濃度でこれらのmRNAの蓄積を誘導した。これらの遺伝子発現に対するエリシターの効果はファイトアレキシン蓄積や細胞内外のイオン濃度の変化の場合に認められたものとよく似ており、共通した初期シグナルの伝達経路の存在が示唆される。

1aG11

イネ培養細胞の糖質性エリシターに対する初期応答反応と活性酸素の生成

朽津和幸、渋谷直人（農水省・生物研・細胞生理）

植物細胞は、病原菌や植物細胞表層由来のオリゴ糖シグナルを認識して、生体防御機構を活性化する。我々はイネ培養細胞を用いて、いもち病菌の細胞壁断片由来のオリゴ糖に対する応答の情報伝達機構を解析している。細胞に低濃度のN-アセチルキトオリゴ糖あるいはβ-グルカンを与えると、直後に原形質膜を介したイオンの動きと、細胞質の一過的な酸性化[1]、特定の遺伝子発現の急激な活性化[2]などが誘導され、最終的にファイトアレキシンが合成される[3]ことを見出した。そこでこのようなエリシター応答の細胞表層における初期反応を明らかにするため、化学発光法による解析を行ったところ、細胞はスーパーオキシド(O_2^-)などの活性酸素を急速に生成することが明かとなった。キトオリゴ糖は特定の重合度以上のものだけが有効であり、その有効濃度域は nM以下と極めて低かった。脱アセチル化したキトサンのオリゴマーは、活性酸素の生成を誘導しなかった。またこの反応は、プロテインキナーゼの阻害剤により阻害された。このようなオリゴ糖の効果はエリシター活性で認められた特異性とよく一致していることから、イネ培養細胞は特定の構造のオリゴ糖を認識し、生体防御反応の一環として応答直後に活性酸素を生成すると考えられる。この反応は、生体防御機構の誘導における情報伝達に関与している可能性も考えられる。 1)朽津ら(1992) 日本植物学会講要 p.129; 2)南ら(1993) 本大会講要; 3)Yamada, A., et al. (1993) Biosci. Biotechnol. Biochem. in press.

1aG12

ニンジン培養細胞の外部刺激伝達系でのサイクリックAMPの作用機構

黒崎文也 西 荒介 （富山医薬大 薬）

ニンジンのファイトアレキシン、6-methoxymelleinの産生は細胞がオリゴガラクツロン酸を認識することによって開始され、その過程にはカルシウムがメッセンジャーとして関与することが明かとなっている。これに加えてガラクツロン酸の添加直後に一過性のサイクリックAMP(cAMP)量の上昇が観察された。 ニンジン培養細胞をコレラ毒素またはforskolinで処理することによっても短時間のcAMP量の増加に続いてファイトアレキシンの合成が誘導されたが、この生成活性はカルシウムチャンネルブロッカーやカルモジュリン阻害剤の存在で強く抑制された。これらの結果からcAMP濃度が高くなることによって細胞内のカルシウム濃度のレベルが併せて上昇する可能性が示唆された。そこでニンジン培養細胞にカルシウム蛍光指示薬fluo-3を取り込ませてからforskolinで刺激し原形質内のカルシウム濃度の変化を調べた。その結果、通常100 nM程度であるカルシウムレベルがforskolin処理の後cAMP量の増加に呼応して上昇し600 - 800 nMに達することが示された。これは高等植物細胞内の様々なカルシウム依存性の生理反応を引き起こすのに充分な濃度と考えられる。次にニンジン培養細胞から二相法によって原形質膜に富む画分を調製し、Graef等の方法によってそのうちのinside-outのベシクルにラベルしたカルシウムを取り込ませた。このベシクルに様々な濃度のcAMPを作用させたところ10 nM程度の濃度であっても充分なカルシウムの放出が認められた。これは刺激したニンジンの原形質内のcAMP濃度に対応しており、cAMPによる細胞外からのカルシウム流入が生理的な濃度の範囲内で起こり得ることが示された。Forskolinで刺激した細胞を分画してタンパク質の燐酸化の活性を調べたところcAMP依存性の活性は認められずカルシウム/カルモジュリン依存性のキナーゼが活性化されていた。これらの結果を総合して、ニンジン培養細胞ではcAMPレベルの上昇によって燐酸化を介さないカルシウムの流入が起こり結果としてカルシウムカスケードが活性化され、このシグナルクロストークがcAMPの情報伝達機構の一部であると考えた。

一般講演

第１日　３月２９日（月）　午後の部

B 会場　　分子生物学（３）
C 会場　　ストレス（２）
D 会場　　光合成（２）
E 会場　　代謝（２）
F 会場　　オルガネラ（２）・細胞培養・細胞分化
G 会場　　成長制御（１）

1pB01

ジャスモン酸メチルエステルによって誘導される
サツマイモのタンパク質　今西俊介、中村恭子、松岡
健、中村研三　（名大・農・生化）

ジャスモン酸類は植物に普遍的に存在し、老化促進、貯蔵器官の形成促進などの生理活性を持ち、また最近では特定遺伝子の発現を誘導することが明らかになっている。無菌培養サツマイモ幼植物体にジャスモン酸メチルエステルの蒸気処理をしたところ、葉において18kDaのタンパク質の大量の蓄積が誘導されることが分かった。この18kDaタンパク質は処理４日後の幼植物体の葉の全可溶性タンパク質の約10%を占めたが、葉柄、茎、根では顕著な誘導は見られなかった。18kDaタンパク質の葉における誘導は、切断した葉ー葉柄部の切り口からジャスモン酸メチルエステル水溶液を吸わせた場合にも見られた。

ジャスモン酸メチルエステルで処理した葉の抽出液より18kDaタンパク質を精製する過程で、このタンパク質はSuperoseゲルに吸着しやすい性質を持っていることが分かり、またプロテアーゼ処理によって得られた３つのペプチド断片のアミノ酸配列は、パンノキ種子のガラクトース結合性レクチンであるジャッカリンと50%近い相同性を示した。ジャスモン酸メチルエステルで１日間蒸気処理したサツマイモ幼植物体の葉から抽出したｍＲＮＡよりｃＤＮＡライブラリーを作製し、アミノ酸配列より逆翻訳して作った合成オリゴＤＮＡプローブによって同定したクローンについて現在解析を進めている。

1pB02

ジャスモン酸メチルエステルによるタバコ
BY-2 細胞の遺伝子発現パターンの変動
橋爪克仁　石川敦司　中村研三（名大・農・生化）

ジャスモン酸メチルエステル（M-JAS）をはじめとするジャスモン酸類は植物界に普遍的に存在し、植物に対して成長抑制、葉の老化促進、ジャガイモ塊茎の形成誘導等の種々の生理活性を微量で示し、最近では、植物において特定遺伝子の発現を誘導することも明らかにされている。

我々は、ジャスモン酸類による植物遺伝子の発現制御とその情報伝達機構を細胞レベルで明らかとすることを目的とし、タバコ懸濁培養細胞BY-2を M-JAS で比較的短時間処理した場合の遺伝子発現パターンの変動を解析した。mRNA 画分による _in vitro_ 翻訳産物の二次元電気泳動パターンの比較から、BY-2 細胞を M-JAS で処理した４時間後には、消失、減少するスポットに加え、多数の新たなスポットも検出され、M-JAS は、BY-2 細胞の遺伝子発現パターンに大きな影響を与えることが明らかとなった。M-JAS 処理をシクロヘキシミド(CHX)存在下で行うと、殆どの mRNA 誘導は抑えられたが CHX 存在下でも M-JAS で誘導されるスポットが検出された。M-JASで２時間処理した BY-2 より cDNA ライブラリーを作製し、ディファレンシャルスクリーニングによって M-JAS で誘導される数種類のクローンを同定し、現在得られたクローンについて解析中である。

1pB03

ジャガイモのカテプシンＤインヒビター遺伝子
プロモーターのジャスモン酸誘導に関わる領域
石川敦司、中村研三　（名大・農・生化）

ジャガイモのカテプシンＤインヒビター（ＣＤＩ）遺伝子の発現は、通常の栽培植物体では塊茎や花芽以外の器官ではほとんど検出されないが、ジャスモン酸を葉に供与するとその発現が誘導される。ジャスモン酸によるＣＤＩ遺伝子の発現誘導は、ＣＤＩ遺伝子の５’上流域の配列と大腸菌β-グルクロニダーゼ（ＧＵＳ）との融合遺伝子を導入したタバコの葉のみならず、タバコ懸濁培養細胞ＢＹ－２においても見られた。これらのことからジャスモン酸による特定遺伝子の発現誘導機構は種を越えて保存されていると考えられる。

我々は、大量の細胞を同時に処理でき、扱い易いタバコ懸濁培養細胞ＢＹ－２を用いて、ＣＤＩ遺伝子の５’上流域に存在すると考えられる、ジャスモン酸応答配列を検索した。すなわち、５’側からの様々な欠失を持つプロモーターを作製し、そのＧＵＳとの融合遺伝子をタバコ懸濁培養細胞ＢＹ－２に導入して、ジャスモン酸によりＧＵＳ活性の発現誘導が見られるか否かを解析した。その結果、５’上流　－１６０ｂｐから＋４５ｂｐの領域にジャスモン酸応答配列が存在することが明らかになった。

1pB04

アラビドプシスβ－アミラーゼ遺伝子の糖による発現制御機構に関する遺伝学的解析
三田悟、福井美紀子、中村研三（名大・農・生化）

我々はこれまでに、アラビドプシスの切断葉（ロゼット葉）の切り口から高濃度のショ糖、グルコース、フルクトースを供給することにより、葉におけるβ－アミラーゼ活性が顕著に上昇することを明らかにしており、さらに、こうした高濃度のショ糖の供給によるβ－アミラーゼ活性の顕著な上昇は、遺伝子発現の主に転写レベルで制御されていることが示唆されている。同様のショ糖による遺伝子発現の制御は、サツマイモのスポラミン遺伝子やβ－アミラーゼ遺伝子その他でも見いだされており、植物界に広く見られる普遍的な現象であると考えられる。

植物遺伝子のショ糖による発現制御機構を明らかにする目的で、アラビドプシスβ－アミラーゼのショ糖誘導に関する変異株のスクリーニングを行い、ロゼット葉におけるβ－アミラーゼのショ糖誘導が、野生株の約30%程度に抑制されている_lsi1_変異株を同定した。_lsi1_では、ショ糖以外のグルコースやフルクトースを供給してもβ－アミラーゼ活性の顕著な誘導は認められない。_lsi1_においてβ－アミラーゼのショ糖誘導が転写レベルでも抑制されているかどうかは現在解析中である。サツマイモβ－アミラーゼのショ糖誘導とは異なり、アラビドプシスβ－アミラーゼのショ糖誘導は暗下では認められない。フィトクロム反応に異常があるアラビドプシスの_hy1_や_hy3_突然変異体では高濃度のショ糖の供給によるβ－アミラーゼ活性の顕著な誘導が認められないことから、アラビドプシスβ－アミラーゼのショ糖誘導において光はフィトクロムを介して何らかの役割を担っていると考えられる。また、ショ糖からβ－アミラーゼの誘導にいたるプロセスに関する変異株は、β－アミラーゼの誘導以外の側面でも様々な表現型の異常を示すと考えられ、そういった観点からの解析結果も合わせて報告する。

1pB05

ペチュニアのフラボノイド-3',5'-水酸化酵素遺伝子のクローニング　I.　：青色花弁特異的なチトクロムP450遺伝子の同定

大林正也、嶋田幸久、中野律子、冲中泰、清川繁人、菊池泰弘
（協和発酵・筑波研）

多くの青色花弁を持つ植物では3'位と5'位が水酸化されているアントシアニン系色素が花色を担っている。この合成反応の鍵酵素であるフラボノイド-3',5'-水酸化酵素遺伝子をクローニングすることを目的として研究を行った。

本酵素は様々な知見からチトクロムP450スーパーファミリーに属すると考えられ、従来の生化学的手法では精製が困難であった。そこでチトクロムP450のヘム結合領域のアミノ酸配列が比較的保存されていることに着目し、この領域のDNA配列をLS (Low Stringency) -PCRで増幅する方法を開発した。既知のP450のアミノ酸配列から正方向16種、逆方向12種のプライマーを合成し、ペチュニア青色花弁cDNAを鋳型とし、192通りのLS-PCRを行った。塩基配列解析の結果、20種類のヘム結合領域DNA配列が明らかになった。

これらのうち青色花弁にだけ特異的に発現している配列を同定するため、まずペチュニアの青色花品種を赤色花品種（本酵素欠損株）に戻し交配を繰り返し本酵素に関する遺伝的分離集団を作成した。続いて上で明らかにしたDNA配列を元に17種類のプライマーを合成し、戻し交配集団各個体由来の花弁cDNAを鋳型としてSSP (Single Specific Primer) -PCRを行った。PCR産物解析の結果、本酵素の発現と連鎖するチトクロムP450遺伝子断片を1種類同定した。

1pB06

ペチュニアのフラボノイド-3',5'-水酸化酵素遺伝子のクローニング　II.　：全鎖長cDNAのクローニングと植物での発現

嶋田幸久、大林正也、中野律子、冲中泰、清川繁人、菊池泰弘
（協和発酵・筑波研）

前報においてペチュニア青色花弁で特異的に発現しているチトクロムP450遺伝子断片を同定した。

この断片をプローブとして青花ペチュニア花弁cDNAライブラリーからこれとハイブリダイズする約2kbpのcDNAをクローニングした。塩基配列を決定したところ、このcDNAは506アミノ酸からなるポリペプチドをコードしており、チトクロムP450に特徴的なアミノ酸配列が見られた。またアボカドのチトクロムP450とは約33％の相同性を有していた。

さらに取得した配列がフラボノイド-3',5'-水酸化酵素遺伝子であることを確認するため、この配列をpBI121/ CaMV35Sプロモーターに連結し、アグロバクテリウムLBA4404を用いて、本酵素を欠損するタバコ及びペチュニアの植物品種（ピンク色花）へ導入した。これらの形質転換植物はコントロールよりも濃い色調の花をつけた。花弁の色素を分析したところ、新たにアントシアニジンの5'位の水酸化が認められ、クローニングした遺伝子がフラボノイド-3',5'-水酸化酵素遺伝子であることを確認した。

本研究で得られた遺伝子を利用した花色の遺伝子操作の可能性についても述べる。

1pB07

雌雄異株ヤナギ科植物にみられるヒトSRYに類似したDNA塩基配列

篠原健司（森林総研）

哺乳類SRYはY染色体上に存在し、胚の生殖原基を精巣へ発達させる引き金として機能する遺伝子である。この遺伝子がコードするタンパク質は、DNA結合領域(HMG-box)を持った転写因子と考えられている。ヒトやマウスなどの哺乳類ばかりではなく、雌雄異株の植物にもこの遺伝子が存在するのか、あるならばどのような機能を担っているのかを調べる目的で、雌雄異株ヤナギ科植物（バッコヤナギ、カワヤナギ）の雌雄両個体より調製した全DNAを制限酵素で切断し、ヒトSRY(pY53.3の0.9-kb HincII断片、Dr.P.N.Goodfellow,ICRF,Londonより供与)をプローブにして、サザンブロットハイブリダイゼーションにより解析した。二種類のヤナギ科植物ではヒトSRYに類似のDNA断片が雌雄にかかわらず検出されたが、ゲノムサイズの大きいとされるイチョウでは全く検出できなかった。さらに、植物由来のヒトSRYに類似したDNA断片を得るため、ヒトSRYのHMG-box領域の塩基配列にもとづきプライマーを合成、バッコヤナギの全DNAを鋳型にして、PCR法により増幅、pUC19へクローニングした。得られたDNA断片の塩基配列は、ヒトSRYのものと63%の相同性を示した。また、塩基配列より推定されたアミノ酸配列(59アミノ酸)のうち、37アミノ酸がヒトSRYのものと一致していた。以上の結果は、雌雄異株植物にも哺乳類SRYに類似したDNA断片が存在することを示唆するものであるが、このDNA塩基配列を持つ遺伝子の発現の特性などさらに検討している。

1pB08

タバコ葉緑体リボソーム蛋白質Ｌ３遺伝子の構造および多型性の解析

田辺史生　横井史章　杉田護　杉浦昌弘（名古屋大学・遺伝子実験施設）

タバコ(Nicotiana tabacum)は母系祖先種をN. sylvestris、父系祖先種をN. tomentosiformisとする複二倍体植物であるため、塩基配列や翻訳蛋白質のアミノ酸配列に多型性のみられる遺伝子が多数存在すると予想される。葉緑体を構成する蛋白質遺伝子は核ゲノム上に存在するものと葉緑体ゲノム上に存在するものに分かれ、それらのうち核ゲノム上に存在する遺伝子が複二倍体化由来の多型を示しえる。本研究では、タバコにおいて核ゲノム上に存在する、葉緑体リボソーム蛋白質Ｌ３遺伝子の構造と複二倍体化に由来する多型性を明らかにした。

タバコ成熟葉から精製したリボソーム蛋白質Ｌ３のＮ末端アミノ酸配列をもとにオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブに用いてタバコｃＤＮＡライブラリーをスクリーニングし６個のクローンを得、塩基配列を決定した。その塩基配列から、これらのクローンは２種類に分類され、①Ｌ３蛋白質は５３アミノ酸残基のトランジットペプチドを含んだ全長２７４アミノ酸残基の蛋白質である、ことが推定され、②２種クローン間で、塩基レベルでは成熟蛋白質領域で１５塩基、トランジットペプチド領域で少なくとも４塩基と全長に均一な置換がある、③にもかかわらず、アミノ酸残基レベルでは成熟部分で１残基、トランジット部分で少なくとも３残基と、偏った置換傾向がみられる、ことが明らかになった。さらに、３′非翻訳領域で一方にある９塩基の挿入配列と、塩基置換のため２カ所の制限酵素切断部位が一方にないことを利用し、N. tabacum、N. sylvestris、N. tomentosiformisのゲノミックＤＮＡを鋳型としたＰＣＲおよびそのＰＣＲ産物のＲＦＬＰ解析により、２種遺伝子それぞれの由来祖先種を同定した。

1pB09

ラン藻のＲＮＡ結合蛋白質

杉田　護、杉浦昌弘　（名古屋大学遺伝子実験施設）

単細胞性ラン藻 Anacystis nidulans 6301 から単鎖ＤＮＡに結合する蛋白質群を分離し、そのＮ末端アミノ酸配列を決定した。このうちＲＮＡ結合ドメインの共通配列ＲＮＰ２をもつ１２ｋＤａ蛋白質について、その遺伝子の構造、転写開始点及び発現様式を調べたので報告する。　ＤＮＡ塩基配列から推定される１２ｋＤａ蛋白質は、１１０アミノ酸残基からなり、８２残基のＲＮＡ結合ドメインとＣ末端側にグリシン・リッチ領域をもつ。ラン藻のＲＮＡ結合ドメインはタバコ葉緑体リボヌクレオプロテインｃｐ２８とｃｐ３１のＲＮＡ結合ドメインと最も高いアミノ酸配列の相同性（４８％）を示した。これに対して、動物、昆虫、酵母のものとは３５％以下の相同性であった。このことは、核遺伝子コードの葉緑体リボヌクレオプロテインがラン藻起源であることを強く示唆している。１２ｋＤａ蛋白質遺伝子の転写開始点は翻訳開始コドンの上流１１２ｂｐに位置し、転写物の長さはおよそ５５０ｂであった。１２ｋＤａ蛋白質の役割を明らかにするため、異なった明暗条件と光従属栄養条件におけるｍＲＮＡレベルの変動を調べたので合わせて報告する。

1pB10

タバコの２２ｋＤａＲＮＡ結合蛋白質の構造と核酸結合特異性

花野　滋、叶麗珍、杉田　護、杉浦昌弘（名古屋大学遺伝子実験施設）

我々は、ＲＮＡ結合蛋白質の共通配列ＲＮＰ－ＣＳに対応する合成ＤＮＡプローブを用いて、タバコ N. sylvestris ｃＤＮＡライブラリーからＲＮＡ結合ドメインをもつ２２ｋＤａ蛋白質をコードするｃＤＮＡクローンを単離した。　２２ｋＤａ蛋白質（２０９アミノ酸残基）は、ＲＮＡ結合ドメイン、アルギニン／アスパラギン酸繰り返し領域、Ｚｎフィンガーモチーフ、グリシンリッチ領域からなる特徴的なドメイン構造をもつ。またグリシンリッチ領域のＣ末側にはＡキナーゼリン酸化部位の保存配列が存在する。蛋白質のドメイン構造の特徴から、転写または転写後制御に重要な役割を担っている推察される。　２２ｋＤａ蛋白質と各ドメイン構造の一部を欠失させた蛋白質をin vitro転写-翻訳系で合成し、それらの核酸結合特異性を調べた。その結果、２２ｋＤａ蛋白質は核酸結合能をもつが、ＲＮＡ結合ドメインのみ含む欠失蛋白質は核酸に結合できないことが判明した。さらに核酸結合に関わる領域を特定したので合わせて報告する。

1pB11

絞りアサガオの新転移因子*Tpn1* の構造

星野　敦[1]、稲垣善茂[1,2]、鈴木徹也[1]、久富恵世[1]、飯田　滋[1]
（[1]東理大・基礎工・生物工，[2]東大・薬）

アサガオは、江戸時代以降、わが国の伝統園芸として盛んに栽培され、絞り花アサガオの花色など、多くの易変性変異体が分離されている。

我々は、アサガオの絞り模様（キメラ斑）形成に関与する未知転移因子を探索し、”雀斑”と呼ばれる絞り花アサガオのアントシアニン色素生合成遺伝子*DFR* (Dihydro flavonol-4-reductase)中に、約6kb の新転移因子を見いだし、*Tpn 1* (Transposable element *Phrbititis nil* one) と名付けた。（1992年度本大会）　高等植物のDNA型転移因子は、そのほとんどが、標的重複の塩基数や末端反復配列などから、*Ac* 様転移因子と、*Spm* 様転移因子に大別され、*Tpn1* は、後者に属するものであった。

Tpn 1 の両末端領域の塩基配列の決定を行なったところ、両末端より1kb 以内に、転移酵素の結合部位と考えられる10bp のモチーフが、Inverted Repeats を構成して多数存在することが明らかになった。さらに、この10bp のモチーフが散在する領域には、104bp もしくは 123bp のタンデムに並んだ Direct Repeats も存在した。しかも、挿入部位近傍の*DFR* 遺伝子にも、10bp のモチーフが見いだされた。　*Tpn 1* の末端領域の特徴を、*Spm* やキンギョソウの*Tam* など、他の*Spm* 様転移因子と比較し、*Tpn1* の転移や、アサガオの*DFR* 遺伝子の発現への影響についても考察する。

1pB12

トウモロコシの転移因子*Ｄｓ*のイネゲノム中への挿入と非正統的組換え

遠藤朋子、杉田耕一、橋本尚子[1]、伊藤紀美子[1]、中井　浄、宮崎　力、八重澤貴志、井澤　毅[1]、島本　功[1]、飯田　滋
（東京理科大・基礎工・生物工、　[1]植工研）

トウモロコシの自律性転移因子*Ａｃ*は、因子内に転移に関与する転移酵素遺伝子をもち、自ら転移できるが、非自律性因子*Ｄｓ*はその大部分が*Ａｃ*の内部欠失変異であって、*Ａｃ*の転移酵素がトランスに作用した時のみ転移できる。両因子共、末端に１１ｂｐの逆繰り返し配列を持ち、トウモロコシゲノム上の挿入部位に８ｂｐの重複配列を生じる。

我々はこれまでに、単子葉植物のイネでの*Ｄｓ*の転移機構の解明を目的として、イネプロトプラスト中に、転移酵素遺伝子をもつプラスミドと*Ｄｓ*をもつプラスミドとを直接導入法を用いて同時に導入し、形質転換体カルス、トランスジェニックイネ及びその後代のイネのゲノム中の挿入*Ｄｓ*の詳細な構造解析を行ってきた。

その結果、導入された*Ｄｓ*の大部分はイネゲノム中でも１１ｂｐの末端逆繰り返し配列は保持され、８ｂｐの標的重複を起こしていることが観察された。しかしながら稀に、１１ｂｐの逆繰り返し配列に変異が起こっていたり、８ｂｐの標的重複が観察されない場合もあった。これら非正統的組換えが関与していると考えられる例を紹介し、その分子機構についても考察を試みる。

1pB13

ミカヅキモの性フェロモン（PR-IP）の遺伝子発現制御

曽根　裕、関本　弘之、藤伊　正　（筑波大　生物科学系）

ミカヅキモの有性生殖過程には、＋型細胞から放出され、－型細胞のプロトプラスト化を誘起する性フェロモン（PR-IP）が機能している。PR-IPは、19kDa, 42kDaの２種のサブユニットから成る糖タンパク質で、光の下で－型細胞から放出される性フェロモン（PR-IP Inducer）の作用で放出される。　本研究ではPR-IPの放出制御について検討を試みた。　まず42KD抗血清を用いてInducer処理後のPR-IP分子の出現を経時的に調べたところ、培地中には8hr後に放出され始めることが示された。　次に、両サブユニットの遺伝子発現変化を検討するためのcDNAプローブを作成した。まず、精製された両サブユニットをプロテアーゼ、CNBr処理により断片化し数カ所の部分アミノ酸配列を決定した。次に、PR-IP Inducerを処理した＋型細胞から全RNAを抽出し、部分アミノ酸配列を基に合成したオリゴヌクレオチドをプライマーとしてRT-PCR法を行った。それぞれのプライマーの組み合せで増幅されたDNA断片の塩基配列を確認した後、ノーザン法に用いるためのプローブとした。19kDaプローブ、42kDaプローブはそれぞれ1.2kb、1.4kbのmRNAとハイブリダイズした。また、このmRNAの発現はPR-IP Inducerの処理により誘起され、処理後8hrで最大に達したが、その後徐々に減少した。　以上の結果は、PR-IPが、PR-IP Inducerの作用を受け両サブユニットをコードする遺伝子からそれぞれ転写されることにより、放出に至ることを示している。

1pB14

クラミドモナスの接合直後に発現される遺伝子群の解析

内田英伸，佐藤直樹[1]，河野重行，黒岩常祥　（東大・理・植物，[1]東京学芸大・物質生命科学）

雌雄配偶子の接合直後に観察される諸現象には高等・下等あるいは植物・動物を問わず共通なものが多い。接合にともなう諸現象を支配する遺伝子をとらえるために、接合後10分の接合子に特異的なcDNAクローンをディファレンシャルスクリーニングした。得られたクローンのうちの１つZS102-1の転写パターンをノーザンハイブリダイゼーションにより調べた。ZS102-1の転写産物は雌雄の栄養細胞・配偶子では検出されず、接合開始後10分の細胞で検出されはじめ、30分後まで増加するが、３時間後では減少し、６時間後には検出されなくなった。また、転写産物としては、1.2knt(102α)と1.0knt(102β)のものが検出された。そこで、ZS102-1をプローブとしてcDNAライブラリーをさらにスクリーニングしZS102-69のクローンを得た。両者の塩基配列を解析した結果、以下のことがわかった。(1) ZS102-1の全長は936bpであり、ORFは552bpで3'非コード領域は　255bpであった。ZS102-69の全長は1160bpであり、ORFは564bpで3'非コード領域は475bpであった。(2) ZS102-1とZS102-69の3'非コード領域のホモロジーは低い。その領域をプローブとすると、ZS102-1と　ZS102-69はそれぞれ102αと102βの転写産物のみとハイブリダイズした。(3) ZS101-1とZS102-69のORFから推定されるアミノ酸配列はそれぞれ183残基と187残基であった。ZS102-1のORFは、ZS102-69のＣ末端側の４残基目から７番目までの４残基のアミノ酸配列を欠いたが、他の部分は全く同じアミノ酸配列であった。ORF内の塩基配列は、開始コドンから第8, 79, 142, 166番目のコドンの第３塩基が同義置換されている以外は全く同一であった。

1pB15

クロレラウィルスdsＤＮＡゲノムの分子構造

山田　隆　（広島大・工・醗酵）

日本各地の淡水湖沼から分離したクロレラウィルスは、巨大なdsＤＮＡ（ヘアピン型）をゲノムとする。京都より得られたウィルスの一種（ＣＶＫ１）について、約350Kbpのゲノムの制限酵素地図を作成した。このＤＮＡの両末端には、約１Kbp の逆位反復配列（ＩＴＲ）が見出された。この配列は、それぞれ起源の異なるウィルス全てにおいて高度に保存されており、その重要性が示唆された。ＣＶＫ１ゲノムの両末端、ＩＴＲを含む各々2Kbpの領域の塩基配列を決定したところ、ＩＴＲに隣接して20～30bpの配列が直列に数十回反復しているのを見出した。この反復配列は、偽溶原化クロレラ（pseudolysogen)から突発的に出現したウィルス変異株２種（ＣＶＫＲ２，３）において部分的に欠失していた。これらのウィルスゲノム末端の反復配列の生物学的意義について考察する。

1pB16

大腸菌の嫌気性呼吸酵素系の誘導に関与する遺伝子

藪宏典、山本勇、佐藤敏生　（広島大・理・植物）

大腸菌は嫌気性状態において、硝酸、フマル酸、トリメチルアミンＮオキシド（TMAO）、ジメチルスルフォキシド（DMSO）を用いた呼吸が可能である。我々は、硝酸、TMAO、DMSOの各還元酵素と、２種のギ酸脱水素酵素を合成できず、フマル酸還元酵素とヒドロゲナーゼの硝酸による合成の抑制が解除された *tor* 変異株 HM177 を分離している。硝酸還元酵素遺伝子の転写と硝酸抑制にはNarX/Lが二成分系転写制御因子として働いており、*tor* 変異と *narXL* の関係が示唆される。

以前この５種の酵素合成と硝酸抑制を回復させる遺伝子を見出し、それを *torR* と名付け、約１.８kbp の挿入 DNA を持つプラスミド pSK18 を得たが、続く研究中にこのプラスミドの活性が消失した。今回、再度クロン化を試みたところ、以前単離した領域の近傍に上記の *tor* 変異を回復する約３.５kbp の *KpnI* — *SalI* 断片が新たに見つかり、pUC118 に組み込み、プラスミド pKS７ を得た。

pSK7 を持つ HM177 の蛋白を SDS-PAGE で分析したところ、可溶性画分に、嫌気的条件下において27kDaの分子量を持つ蛋白が強く発現し、嫌気的でかつ TMAO が存在する条件下において52kDaの分子量を持つ蛋白が発現することが分かった。現在、発見した２種類の蛋白の ORF を決定するため、この領域の塩基配列を調べている。

1pC01

大気汚染障害に伴って発現する植物葉の脂質代謝変化の普遍性

榊 剛、田中 浄[1]、山田晃弘 （北海道東海大・工・生物工、[1]国立環境研・生物）

私たちは、大気汚染物質による植物障害の機構を明らかにするため、膜脂質への影響に注目して研究を行ってきた。ホウレンソウをオゾン（O_3）に曝すと、ほぼ一日を経て葉面にクロロシスが生じ枯死に至るが、オゾン処理を始めて数時間以内に、以下に示すような、モノガラクト脂質（MGDG）からトリアシルグリセロール（TG）に至る特異な代謝系が作動することを見出した。

a) MGDG → FFA, Galactolipase
b) FFA → acyl-CoA, Acyl-CoA Synthetase
c) MGDG → 1,2-DG, Galactosyltransferase
d) 1,2-DG + acyl-CoA → TG, Acyltransferase

更に、この代謝系作動の要因を検討した結果、初期反応はオゾンによる Galactolipase 活性の上昇（a）であり、その結果葉緑体に蓄積した遊離脂肪酸（FFA）を TG に代謝し除去するために、上記の一連の反応が作動することを明らかにした。

以上の結果は、植物材料としてホウレンソウ（16:3-植物）を使用して得たものであり、18:3-植物を含む高等植物で普遍的に発現するかどうかは不明である。そこで、16:3-植物、18:3-植物を含む８種の植物をオゾンに曝し、葉脂質の代謝変化の差異を調べたので報告する。

1pC02

亜硫酸の細胞透過性と光合成の光傷害

長谷川桂子、桜井英博（早稲田大・教育・生物）

植物に大きな被害を及ぼす大気汚染物質SO_2は、水に溶け亜硫酸イオンとなり細胞内に侵入する。亜硫酸イオンは、葉緑体の光化学反応によって生じる活性酸素を増大させることにより傷害をもたらす。

*Chlamydomonas reinhardtii*を用いて亜硫酸処理時のｐＨと、その後の光照射による失活の関係を調べた。光合成活性の低下は、処理時のｐＨが低いほど顕著であり、ｐＨ４で５分間２０ｍＭ ＮａＨＳＯ$_3$とインキュベートしたのち中性に戻し、３０分間光照射すると光合成は完全に失活したが、ｐＨ７でインキュベートした場合は失活は全く起こらなかった。亜硫酸処理時に、塩が共存すると、光照射による光合成の失活はより顕著になった。塩の効果はカチオンの価数に依存し、La^{3+}はMg^{2+}、K^+よりも著しく効果的で、カチオンによりHSO_3^-の透過が促進されることを示している。Sakakiらは、タバコ培養細胞について同様なｐＨ依存性を報告しているが、その原因として低ｐＨでは亜硫酸の非解離型の割合が高いため、亜硫酸の細胞膜に対する透過が上昇したことによると説明している。しかし、H_2SO_3のｐＫａが1.8及び7.0であること、また添加したカチオンの影響から考えると、ｐＨによる透過性の差には細胞表面の電荷が大きく影響していると思われる。なお、亜硫酸により光合成が完全に失活しても、細胞内のアスコルビン酸やグルタチオンには５０％程度の低下しか見られなかった。

1pC03

タバコ培養細胞における紫外線照射の影響について

今泉和光，米倉博子，小田 茂（ＰＬ学園女子短大・植物研）

【目的】植物および植物細胞における紫外線の影響についての研究は、今後の地球環境を考える上でも重要である。我々は、植物細胞に対する紫外線の影響を調べる目的でタバコ培養細胞を用い、紫外線照射が植物細胞にどの様な影響を及ぼすかについて調査したのでそれらの結果について報告する。

【方法】紫外線照射実験には髄（pith）より誘導し、継代培養をおこなっている、タバコ（Nicotiana tabacum var. Samsun N.N.）懸濁培養細胞を用いた。紫外線照射の影響（生死）評価は、細胞（2 ～10 cells）からのコロニー形成、あるいは培養細胞より調整したプロトプラストの、Fluorescein Diacetate（ＦＤＡ）染色による蛍光顕微鏡下での生存試験を指標としておこなった。

【結果】細胞（2-10 cells）からのコロニー形成と照射した紫外線量との関係は、暗所条件下での培養においては、照射紫外線量の増加とともに出現するコロニーの形成数は急激に減少した。しかし、紫外線照射処理後に光（3000 LUX）を照射して培養すると、光照射のない暗培養下に比べて、コロニー形成数の減少は緩慢であった。紫外線照射処理細胞からのコロニー形成においては、光が存在しない暗所条件下の培養よりも、光存在下での培養のほうがコロニー形成は増大した。これらタバコ培養細胞における光照射下でのコロニー形成の増大は、紫外線によって受けた細胞障害が光によって回復される、いわゆる光回復の効果であると思われた。

1pC04

重水素化によるクロレラ細胞蛋白質の熱安定性変化と機能変化

海野けい子、横柿修一、田井さおり、岡田昌二
（静岡県大・薬・放射薬品）

演者らは、水素(H)の代わりにその安定同位体である重水素(D)を高濃度に取り込んだクロレラ細胞（Ｄ－クロレラ）が、通常の細胞(Ｈ－クロレラ)に比べ熱感受性が高いことを見いだしており、その機構解明のため、今回Ｄ化による蛋白質の熱安定性や機能の変化について検討を行った。用いたＤ－クロレラ細胞はD_2Oを含む培地中で独立栄養的に培養を行うことにより得た。

クロレラ蛋白質の熱変性は70kDa熱ショック蛋白質(hsp 70)添加により減少することがin vitro実験により確かめられ、熱処理時Ｄ－クロレラで新たに合成されるhsp70量が少ないことが熱感受性増大の一つの要因であることが示された。また、Ｄ－クロレラのRibulosebisphosphate carboxylase(RuBisCO)等の蛋白質は、Ｈ－クロレラ蛋白質より熱変性しやすいこと、Ｄ化したRuBisCOではその活性が低下していることから、E. coli Gro蛋白質(hsp60 family)を添加しその効果を調べた。その結果D-RuBisCOの顕著な活性回復が認められた。このことから、Ｄ－クロレラではRuBisCOサブユニット自身のＤ化による変化に加え、RuBisCOのassemblyに関与しているRuBisCO binding proteinの活性の低下により、十分なassemblyが行われず、RuBisCOの熱安定性低下および活性低下が起きていることが示唆された。

1pC05

水分ストレスに伴うクロロフィル蛍光と炭酸同化作用の変化

野並浩、河内光博、福山寿雄、橋本康　（愛媛大・農）

水ストレス状態を正確に計測し、in vivoにおけるクロロフィルａの蛍光の変化と炭酸同化作用の生理的関連性について詳しい報告はないが、本研究においては水分状態計測に適した植物体を使用することによりさらに正確な研究をおこなった。植物材料として*Tradescantia virginiana* L. を使用した。葉の水ポテンシャルの低下に伴い葉の膨圧は約 0.2 MPa まで減少したが、葉の水ポテンシャルが -0.8 MPa から -1.2 MPa の間では膨圧には変化が見られなかった。また、葉の浸透ポテンシャルは、水ポテンシャルが -0.8 MPaに低下するまでゆっくり減少するが、その後急激に減少した。炭酸同化は葉の水ポテンシャルが -1.0 MPaまで低下したときゼロになり、この時、初めてFv/Fmが減少し、またFm、Fvは急激に減少した。炭酸同化がゼロになったとき膨圧は 0.2 MPa であり、葉肉細胞は葉緑体の構造を維持するための十分な膨圧を持っていると考えてもよい。従って、以上の結果は、水ストレスにより表皮細胞にある気孔が閉じたため炭酸ガスが葉の内部空隙に取り込めなくなり、炭酸ガス固定反応が正常に働かなくなったためにクロロフィルａにおける蛍光強度減少したと考えられる。本研究における水分計測の結果、クロロフィルａの蛍光は水ストレスには敏感に反応しないが、気孔が十分閉じるほどの水ストレスがかかると、炭酸ガス固定の阻害により、クロロフルａ蛍光の低下が誘導されるものと思われる。

1pC06

講演取消

1pC07

耐塩性四角豆培養細胞から特異的に分泌されるタンパク質について

江坂宗春、早川弘美、寺本貴則（広島大・生物生産）

四角豆培養細胞を0.5%、1.0%、1.5% 、2.0% (w/v)のNaClを含む培地に順次、継代していくことにより2.0% (w/v) NaClを存在下でも良好に成育する耐塩性四角豆培養細胞を獲得することができた。耐塩性四角豆培養細胞を液体培養し、培地中に分泌されるタンパク質をSDS－PAGEで解析した結果、耐塩性四角豆培養細胞から特異的に分泌される６つのタンパク質（SAP1, 2, 3, 4, 5, 6)が認められた[1)]。

SAP1を精製し、そのＮ末端側のアミノ酸配列を決定した結果、本タンパク質は細胞壁タンパク質として知られているhydroxyproline-rich glycoproteinであることが判明した。

SAP2についても同様にＮ末端側のアミノ酸配列を決定した結果、同じく細胞壁タンパク質として知られているproline-rich proteinである可能性が示された。

SAP3については分子量37,000の塩基性のキチナーゼであることがわかった。

一方、SAP4はSAP2とおなじＮ末端側のアミノ酸配列を示したことから、SAP4はSAP2の分解物か、SAP2のアイソザイムと思われる。また、SAP5とSAP6は同じＮ末端側のアミノ酸配列を有していたが、どのようなタンパク質かについては今のところ明らかになっていない。

1)M. Esaka, H. Hayakawa(1992)Plant Physiol. 100、1339

1pC08

タバコオスモチン様タンパク質の諸性質の解析

小岩尚志、佐藤文彦、山田康之　（京都大・農・農化）

TMV感染による過敏感反応に伴って誘導されるタバコのPR-タンパク質のうち、PR-5タンパク質については、これまで酸性のPR-R、塩基性のオスモチンが知られている。我々はタバコ培養細胞中にこれまで知られていない中性のPR-5タンパク質をみいだし、これをオスモチン様タンパク質（OLP）と名付け解析を進めている。培養細胞よりOLPを精製し、その機能を解析したところ、OLPは低濃度のnikkomycin Z（キチン合成阻害剤）の存在下においてタバコ黒根病菌（*Theilaviopsis basicola*）の生育を阻害することを認めた。このことはOLPが*in vivo*でキチナーゼなどと協調的に働いて植物体を糸状菌から保護していることを示唆している。一方、PR-5タンパク質の発現調節に及ぼす諸因子の影響を知るためにOLPに対する抗体を作成し、IEF-immunoblot法により解析した。OLPは培養細胞のほか、無傷植物の根において多量に蓄積していたが、これまで根において著量蓄積すると考えられていたオスモチンの蓄積はわずかであった。また、PR-R、OLP、オスモチンの蓄積はエチレンによって強く誘導されたが、TMVの感染による誘導はPR-R及びオスモチンで強く、OLPでは弱かった。一方、サリチル酸処理ではPR-Rが弱く誘導されたのみであった。

1pC09

シチメンソウの耐塩性機構について

横石 孝治、谷本 靜史（佐賀大・農）

高等植物の耐塩性機構の解明は、塩害の回避、乾燥地域で生育可能な植物の作出などの点できわめて重要な研究課題の一つである。演者らは有明海沿岸に自生するアカザ科の植物であるシチメンソウ(*Suaeda japonica*)を材料として耐塩性機構について検討している。

シチメンソウ種子は0.7MのNaClやKCl存在下でも発芽し、かなり強い耐塩性を有していた。シチメンソウの実生よりカルス(培養細胞)を誘導し、その成長に対するNaClの影響を調べたところ、培養細胞は0.3MのNaCl存在下ではほとんど増殖しなかった。しかし、培養中に出現した緑色細胞のみを選抜して得られた緑色培養細胞では、0.1MNaCl存在下でも成長は阻害されず、0.5MのNaClを培地に添加しても無選抜の培養細胞と比較して数倍の増殖を示した。アカザ科植物は塩ストレス下で細胞内にベタインを蓄積することが知られている。そこで上記の培養細胞のベタイン含量を^{1}H-NMRを用いて測定した。その結果塩ストレス下では緑色培養細胞は無選抜の培養細胞と比較して10倍から数10倍のベタインを蓄積していた。

以上の結果から、シチメンソウはベタインを蓄積することにより耐塩性を維持していることが確認できた。また葉緑体が機能的に分化している緑色細胞のベタイン含量が多いことから、葉緑体の関与が示唆された。現在ベタイン合成の鍵酵素であるベタインアルデヒド脱水素酵素の細胞内局在性について検討しているのでその結果についても報告する。

1pC10

単細胞藻Boekelovia hooglandiiの塩環境下における成長と浸透圧調節　藤井修平、Johan. A. Hellebust[1]（帝塚山短大・食品、[1]トロント大学・植物）

B. hooglandii(Chrysophyceae)の塩環境下での成長と浸透圧調節の機構を検討した。この藻類は黄金色藻類に分類される広塩性の単細胞藻で成長にナトリウムを必要とする。成長に最適な塩濃度は0.2M～0.4Mであるが1M以上では成長が強く抑制された。ＧＣ－ＭＳ分析法で細胞抽出液を分析した結果、この藻類はマニトールおよびイノシトールに加えて、シクロヘキサンテトロールを含むことが明らかになった。培地塩濃度の増加に応じてシクロヘキサンテトロールおよびマニトールが増加したが、イノシトール、アミノ酸、無機陽イオンはほぼ一定であった。また、細胞を高張処理したところ、マニトール及びシクロヘキサンテトロールが短時間で合成され、増加した。従って、この藻類はマニトールとシクロヘキサンテトロールを利用して浸透圧調節を行うものと結論される。

1pC11

塩ストレス下での生育した小麦と*Mesembryanthemum crystallinum*葉のピロリン５カルボン酸レダクターゼ

安藤俊哉、山本和生、真田幸香、和田敬四郎、玉井直人（金沢大・理・生物）

これまで多くの植物で塩ストレスや乾燥ストレスを受けると体内に多量のプロリンを蓄積することが報告されているが，ストレスに対応する仕組みはまだ明らかにされていない。

植物でのプロリン合成の末端酵素であるピロリン５カルボン酸還元酵素の塩ストレス下での活性変動の有無について相反する報告があり,本酵素のストレス下での挙動は明らかではない。

本研究では小麦幼植物と*M.crystallinum*に塩ストレスを与えると，生量当りそれぞれ５倍および13倍のプロリン蓄積が見られ,このときの粗抽出液中の本酵素の活性を測定した。NADPHに対する親和性はNADHより高く,それぞれの値は塩ストレスの有無によって影響されなかった。最大反応速度は塩ストレスを受けるとNADPH存在下では促進されるが,NADH存在下では影響されなかった。基質であるプロリン５カルボン酸に対する親和性と反応速度は塩ストレスによって変化しなかった。これらの結果をもとにしてストレス下のプロリン合成について考察する。

1pC12

浸透圧ストレスによる大麦ベタインアルデヒド脱水素酵素遺伝子の発現の制御

石谷学、高倍鉄子　（名古屋大、農、生化学制御）

ある種の植物は塩ストレスや乾燥ストレスを受けると適合溶質としてベタイン（グリシンベタイン）を蓄積することによって浸透圧調節を行うことが知られている。これまで我々は大麦の緑葉においてベタイン合成の最終段階を触媒するベタインアルデヒド脱水素酵素（BADH）の活性とそのタンパク質レベルが塩ストレスによって増加することを明らかにした。また大麦からBADH遺伝子の完全長のcDNAクローンを単離し、その塩基配列を決定した。今回我々は浸透圧ストレスによるBADH遺伝子の発現の制御機構を調べる目的でノーザンブロット解析を行いそのmRNAレベルの変動を調べた。その結果、塩ストレスまたは水分ストレスを受けた緑葉では経時的にそのレベルが増加し、48時間後ではコントロールに比べてそれぞれ6、5倍に増加していた。また緑葉のみならず根においてもBADH mRNAレベルの増加が認められた。さらに塩ストレスを解除した緑葉においてはそのレベルが減少した。これらの結果は大麦のBADH遺伝子の発現が浸透圧ストレスによって制御されていることを示している。またサザンブロット解析の結果、大麦においてBADH遺伝子は少なくとも2コピー以上からなっていることが示唆された。現在、この遺伝子の発現の制御機構に関してさらに詳細に検討を行っている。

1pC13

Is betaine aldehyde dehydrogenase localized in plastids of barley root?

Poontariga Harinasut, Manabu Ishitani and Tetsuko Takabe, Res. Inst. Biochem. Reg., Sch. Agr.- Sci., Nagoya Univ., Chikusa, Nagoya 464.

Betaine aldehyde dehydrogenase (BADH) is localized in chloroplasts in leaves of higher plants. In our previous studies, we also found BADH in roots of barley. Therefore, possible subcellular localization of BADH in root plastids of barley (*Hordeum vulgare* L.) was examined. Roots of 10-day-old seedlings of barley were used as sources for isolation of plastids. In a petri dish on ice, the roots were sliced with a razor blade and macerated gently by a mortar and pestle. The solution filtrated through 6 layers of muslin was overlayered on 10 % percoll (v/v). After centrifugation, the resulting pellet was resuspended and washed twice. The obtained plastid pellet was used for our experiment. We found some betaine aldehyde specific dehydrogenase activity in our plastid fractions. However, the possibility of contamination with other subcellular fractions such as mitochondria or cytoplasm is also carefully examined.

1pC14

大腸菌由来ベタイン合成系遺伝子のラン藻への導入

野村美加、石谷学、Ashwani K. Rai[1]、高倍鉄子（名古屋大・農・生化学制御、[1]バナラス　ヒンドー大・植物学科）

光合成生物は、浸透圧ストレスを受けると適合溶質（compatible solute）を合成し、細胞質や葉緑体などで浸透圧調節を行っている。適合溶質として知られている四級アンモニウム化合物であるベタインは *E.coli*やある種の高等植物ばかりでなく、耐塩性の高いラン藻においても蓄積することが知られている。そこで塩ストレス下においてベタインを蓄積しない淡水性の形質転換型ラン藻である *Synechococcus* PCC7942 R2-SPcへ *E.coli*のベタイン合成系遺伝子を導入し、ベタイン蓄積の生理学的意義について検討を行った。本研究では*E.coli*とラン藻のシャトルベクターであるPUC303に *E.coli*のベタイン合成系遺伝子領域をサブクローニングし、形質転換型ラン藻　*Synechococcus* PCC7942　R2-SPcに導入した。生育条件としては、1mM cholineを加え、0-500mM NaCl存在下で形質転換型ラン藻を培養した。その結果、塩ストレス下においてベタイン合成系遺伝子を導入したラン藻に比較して、導入していないラン藻では黄化現象が見られ、またベタイン合成系遺伝子を導入したラン藻ではベタインを蓄積していることがNMRによって認められた。これらに関してさらに詳細な検討を行っている。

1pC15

ベタイン合成系遺伝子のタバコへの導入

中村敏英、石谷学、高倍鉄子
（名古屋大、農、生化学制御）

ある種の植物や大腸菌などでは、塩ストレスに応答してその細胞内でベタインを合成・蓄積し、塩（水分）ストレスから回避することが知られている。

ベタインは、コリン→ベタインアルデヒド→ベタインの経路で生合成される。最初の段階を触媒する酵素は、植物ではコリンモノオキシゲナーゼ（ＣＭＯ）、大腸菌ではコリンデヒドロゲナーゼ（ＣＤＨ）であると考えられており、最終段階は植物・大腸菌ともベタインアルデヒドデヒドロゲナーゼ（ＢＡＤＨ）が触媒する。またＣＤＨにはＢＡＤＨ活性もあることが報告されている。

そこで我々は、ベタインを蓄積しない植物にこれらの遺伝子を導入することによりベタインを合成させ、塩ストレスに対する耐性などを調べようとしている。現在、大麦のＢＡＤＨｃＤＮＡあるいは大腸菌のＣＤＨ遺伝子を導入したトランスジェニックタバコの作製中である。

1pD01

バクテリオクロロフィル a（BChl）の三重項励起（T_1）状態の溶媒効果とその機構

西澤榮一・Leenawaty Limantara・南城則行・長江裕芳[1]・
小山　泰　（関西学院大・理・化学，[1]神戸市外大）

光反応中心での過剰なエネルギー散逸の機能に関与している BChl の T_1 状態は，分子間相互作用に制御されている．

BChl とバクテリオフェオフィチン a (BPhe) の T_1 状態のラマンスペクトル　15 種類の BChl 溶液と 4 種類の BPhe 溶液の T_1 状態のラマンスペクトルを測定した．BChl の場合，配位可能な（酸素原子や窒素原子を持つ）溶媒では ν_r" ラマン線（16員環伸縮振動由来）の波数は分極率 $[(n^2-1)/(n^2+2)]$ の増大（0.21 ～ 0.26 の範囲）に伴い直線的に低波数シフトした．配位しにくい溶媒や分極率の大きな（0.26 以上）溶媒では直線から外れた．軸配位子を持たない BPhe の場合，溶媒効果は現れなかった．

BChl の T_1 -> T_n 吸収スペクトル　3 種類の BChl 溶液（分極率：0.21 ～ 0.25）の T_1 -> T_n 吸収スペクトル（380 ～ 550 nm 領域）を測定した．この領域には三つの電子遷移（極大波長：510, 430, 400 nm 付近）が観測された．これらの遷移エネルギーは溶媒の分極率の増大にともない直線的に減少した．

T_1 バクテリオクロリン (BChl の骨格構造) の PPP-CI 分子軌道計算　軸配位子との配位結合の双極子モーメントを大きく設定すると，T_1 (1^3B_{2u}) - T_4 (2^3B_u) (16員環伸縮振動を介した Vibronic coupling に関係すると考えられる一対の電子状態) のエネルギー差が減少した．

ν_r"ラマン線の溶媒効果の機構　溶媒の分極率が大きいほど BChl と軸配位子との配位結合の双極子モーメントは増大し T_1 - T_4 エネルギー差は縮まる．Vibronic Coupling（エネルギー差と反比例の関係）は強まり ν_r"ラマン線は低波数シフトする．

1pD02

THE LIGHT-HARVESTING (LH-2) OF *RHODOBACTER SPHAEROIDES* STRAIN R-26.1: ISOLATION, PURIFICATION AND T_1-STATE RESONANCE RAMAN SPECTRA

Leenawaty LIMANTARA[1], Ei-ichi NISHIZAWA[1], Tomisaburo KAKUNO[2] and Yasushi KOYAMA[1] ([1]Fac. Sci., Kwansei Gakuin Univ., Nishinomiya 662, [2]Inst. Protein Research, Osaka Univ., Suita 565

The LH-2 complex from chromatophore membranes of *R. sphaeroides* R-26.1 was isolated and purified by sucrose density gradient centrifugation and non-equilibrium isoelectric electrophoresis by using two kind of detergents: an ionic detergent, lithium dodecyl sulfate (LDS) and a non-ionic detergent, sucrose mono-cholate (SMC).

Comparison of absorption spectra of the LH-2 suspension between new detergent SMC and LDS was made to prove the usefulness of the new detergent in various conditions of the preparation procedures and of resonance Raman measurements.

The resonance Raman spectra of T_1-state bacteriochlorophyll in the LH-2 solubilized with LDS and SMC is presented to characterize the pigment-protein complexes and to understand the intermolecular interaction between the pigment and the apo-protein.

1pD03

クロロフィル b (Chl b) のNMR分光法に於ける溶媒効果と中心金属 Mg の配位状態の研究

亀井信明、島村敏夫[1]、栗本宜孝[2]、古川憲治[2]、小山 泰 (関西学院大学・理・化、[1]松下テクノリサーチ、[2]コベルコ科研)

クロロフィルは、光合成過程に於いて、その中心的役割を担っている。その一種であるクロロフィル bと溶媒との分子間相互作用を解明する為に、その中心金属 Mg の配位状態に注目し、それを評価し得ると考えられるα, β, δ位の水素についてNMR分光法で溶媒に対する依存性を測定し、化学シフトの位置によって考察した。

ほうれん草から単離したクロロフィル bを高速液体クロマトグラフィーを用いて精製し、それを試料とした。装置は、日本電子製 GSX- 400 型及びJNM-A 500 型 FT-NMR を使用し、異性化を抑制する為に、0 ℃下で^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{1}H NOESYを測定した。

その結果より、次のことが、考えられる。① α, β, δ位の水素共、5 配位溶媒よりも 6 配位溶媒の方が、より低磁場 (高周波数) シフトする傾向がある。② α位の水素は、β, δ位の水素に比べて 6 配位溶媒による影響を受け易い。③ 6 配位の溶媒と 7-C=Oとの相互作用により、7-C=Oの分極が変化し、その結果α-Hの化学シフト値が変化する。

以上の事を裏付ける為に、更に多くの溶媒で測定する必要がある。

1pD04

NMR分光法によるバクテリオクロロフィル a の溶媒効果と中心金属Mgの配位状態の研究

古川憲治、栗本宣孝、Limantara Leenawaty[1]、小山 泰[1] (コベルコ科研、[1]関西学院大学・理・化学)

バクテリオクロロフィル a(BChl a) は、バクテリアの光合成過程に於いて、中心的役割を担っているが、その BChl a と溶媒との分子間相互作用を解明するために、その中心金属Mgの配位状態に注目し、それを評価できると考えられるα, β, δ位の水素について、NMR分光法で溶媒に対する依存性を測定し、化学シフトの位置によって考察した。

Rhodobacter sphaeroides R-26.1 から単離し、高速液体クロマトグラフで精製した BChl a を試料とした。装置は、日本電子㈱製JNM-A400及びA500型のFT-NMRを使用し、試料の分解を抑制するために0℃下で ^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{1}H NOESY等を測定した。

その結果、①α, β, δ位の水素とも、5配位溶媒よりも6配位溶媒の方が、より低磁場 (高周波数) シフトする傾向がある。 ②α位の水素は、β, δ位の水素に比べて6配位溶媒による影響を受けやすい。 ③6配位の溶媒とC_{2a}=Oとの相互作用によりC_{2a}=Oの分極が変化し、その結果α位の水素の化学シフト値が変化する。ことが判明した。

1pD05

R. sphaeroides 2.4.1 のアンテナ複合体に結合したスフェロイデンの蛍光とその励起スペクトル

三木陽介、亀山忠幸、九鬼導隆、小山 泰、R.J. Cogdell[1]、渡辺泰堂 (関西学院大・理、[1]グラスゴー大・植物)

[序論] 光合成バクテリアにおいては、光捕穫色素蛋白複合体に結合した全トランス-カロテノイドが光エネルギーの捕穫及び伝達といった役割を担っている。我々はこれまで、フリーな全トランス-スフェロイデンやβ-カロテンなどのカロテノイドのエネルギーレベルを決定し、エネルギー伝達のメカニズムに関する基礎知識を得てきた。今回、色素蛋白複合体に結合したスフェロイデンの低温での蛍光とその励起スペクトルを測定したので、以下に報告する。

[実験] 光合成細菌 *R. sphaeroides* 2.4.1 から調製した LH2 を 0.1% LDAO - 20mM Tris・HCl(pH 8.0) に懸濁し、等量のグリセリンを加え試料溶液とした。これを 170 K まで冷却し、その吸収、蛍光及び蛍光励起スペクトルを測定することにより、励起準位の構造を調べた。

[結果] 今回、すでによく知られている光学活性な B_u^+ レベル及び光学不活性な $2A_g^-$ レベルの他に B_u^+ レベルの高エネルギー側に一つ ($3A_g^-$)、そして B_u^+ レベルと $2A_g^-$ レベルの間に一つ (B_u^-)、新たな電子レベルを発見した。これらは、フリーな全トランス-スフェロイデンにおいてもすでに確認済みである。その二硫化炭素溶液中での各電子レベルに対して今回同定した各レベルは、B_u^+ レベルが 500 cm^{-1} ブルーシフトし、$2A_g^-$、$3A_g^-$、B_u^- レベルはそれぞれ 100、300、700 cm^{-1} レッドシフトした。今後さらに詳細に実験を行い、新たに発見したレベルを正確に帰属し、カロテノイド-クロロフィル間のエネルギー伝達のメカニズムを解明していく。

1pD06

カロテノイドの$2^1A_g^-$状態での振電相互作用のメカニズム

九鬼導隆，長江裕芳[1]，R.J. Cogdell[2]，小山　泰
（関西学院大・理，[1]神戸市外大，[2]グラスゴー大・植物）

光合成初期過程でのカロテノイドの主な役割の一つは光エネルギーの捕穫と（バクテリオ）クロロフィルへのエネルギー伝達である．このメカニズムを解明しようと思えばカロテノイドの励起一重項状態の特性や各エネルギーレベル間の相互作用が重要となる．カロテノイドのC=C伸縮振動の波数ν[C=Cstr]は基底状態（$1^1A_g^-$）で1510～1530cm^{-1}と非常に低く，S_1（$2^1A_g^-$）状態では1700～1800cm^{-1}と異常に高い．これは$1^1A_g^-$－$2^1A_g^-$の振電相互作用に起因している．また，ν[C=Cstr(S_1)]は溶媒の分極率によってシフトすることが知られており，このシフトは$2^1A_g^-$－$1^1B_u^+$の振電相互作用によると考えられてきた[1]．

我々は五種類のカロテノイドでν[C=Cstr(S_1)]のシフトを詳細に検討し，溶媒を非極性・極性に分類するとそれぞれν[C=Cstr(S_1)]と溶媒の分極率に良い直線関係があることがわかった．また，ν[C=Cstr(S_1)]のシフトはカロテノイドの種類にあまり依存せずそれぞれのカロテノイドで同じ様なパターンを示した．

最近，カロテノイドで$1^1B_u^+$の上下に一つずつ新しいエネルギーレベルが見つかった．そこでPPP-SD-CIによる分子軌道計算より各エネルギーレベルと$2^1A_g^-$との振電相互作用の大きさを概算した結果，ν[C=Cstr(S_1)]のシフトは$2^1A_g^-$－$1^1B_u^+$ではなく$2^1A_g^-$－$3^1A_g^-$の振電相互作用に起因することがわかった．

また，*R. sphaeroides* 2.4.1の色素蛋白複合体に結合したスフェロイデンの場合ν[C=Cstr(S_1)]は有機溶媒中よりさらに低くなっていることがわかり，色素蛋白複合体中では$3^1A_g^-$のエネルギーが有機溶媒中より低くなっていると考えられる．

[1] T. Noguchi et al., J. Phys. Chem. (1991), 95, 3167.

1pD07

フコキサンチン－クロロフィル a/c 蛋白複合体（FCPA）におけるフコキサンチンの周囲の環境

波多野由美、九鬼導隆、小山　泰、加藤哲也[1]（関西学院大・理・化学、[1]京大・理・植物）

褐藻類及び珪藻類に含まれるカロテノイドであるフコキサンチンは、非常に効率良い電子伝達を行うことが知られている。我々はラマン分光法を用いて、遊離したフコキサンチンのモデルとして蛋白に結合したフコキサンチンの周囲の環境について検討した。(a) FCPA の過渡種のラマンスペクトル；ポンプ光及びプローブ光として 527 nm、パルス幅 70 ps、繰り返し 1 kHzの光を用いた。(b) 全トランスーフコキサンチンの S_1 ラマンスペクトル；ポンプ光及びプローブ光として 532 nm、パルス幅 100 ps、繰り返し 800 Hzの光を用いた。(c) 全トランスーフコキサンチンの T_1 ラマンスペクトル；センシタイザーを用い 337 nmでポンプし、生成した T_1 種を 532 nmでプローブした。以上の比較により、FCPA におけるフコキサンチンの周りの環境について以下の 2 つのことが結論できた。① FCPA においてフコキサンチンは強い相互作用を受けている。 様々な有機溶媒中で測定した全トランスーフコキサンチンの S_1 状態におけるν(C=C str.) と、各有機溶媒の分極率 $(n^2-1)/(n^2+2)$ (n は溶媒の屈折率) の関係から、蛋白に結合したフコキサンチンは分極率の高い環境にあるということがわかった。② 2つ以上のカロテノイド分子が互いに並んで結合している。 ここではカロテノイドのみを励起しているため、T_1 状態は生成しないはずである。しかし、FCPA の過渡種は全トランスーフコキサンチンの S_1 及び T_1 状態に対応している。このことは、FCPA 内で二分子のカロテノイドが空間的に隣接していることによって起こるシングレット・ホモフィッションの過程を通して、T_1 状態が生成することを示している。

1pD08

カロテノイドの分子構造と分光特性 III

三室　守，長鳴　雲兵，長岡　伸一，高市　真一
（基生研，お茶の水女子大，愛媛大，日本医大）

光合成生物には多種のカロテノイドが存在し，それらは，光捕獲，光障害の防御等の機能を有する．我々は，藻類においてアンテナ色素として機能するカロテノイドの分子構造とその光学特性との関連について解析を進め，それらは第１（Ｓ１）励起準位からの蛍光発光という特徴を持つことを明らかにした．今回は吸収スペクトルによるＳ１状態の直接検出を試みた．

用いた試料は褐藻から単離したフコキサンチン，およびβ－カロテンである．

フコキサンチンについては，Ｓ１蛍光の０－０遷移に対応する吸収帯を極性溶媒（ＣＳ２），非極性溶媒（ｎ－ヘキサン）のいずれにおいても明確に検出できた．振動子強度はＣＳ２中の方が大きく，溶媒の分極率の増加に対応して，励起状態の対称性が大きく変化することと対応すると考えられる．

一方β－カロテンの場合，Ｓ１準位は吸収スペクトルで確認できるが，その分子吸光係数は，いずれの溶媒においても，フコキサンチンのそれより小さい．蛍光は，主としてＳ２状態からの発光であり，励起状態がフコキサンチンのそれと大きく異なっていることが明らかになった．

上記の２種を含む分子構造の異なるカロテノイドについて，蛍光の量子収率に対する溶媒効果が顕著に認められ，共役しない部分の構造も影響を与えていることが明らかとなった．

これらの結果に基づいて，分子構造と分光特性との関連を議論する．

1pD09

光合成細菌 Rhodopseudomonas acidophila 7050 色素蛋白複合体の色素組成とエネルギー伝達効率に対する培養光強度の影響

高市真一[1,2]，A.T. Gardiner[2]，三室守[3]，R.J. Cogdell[2]
（[1]日本医大・生物，[2]Glasgow 大・植物，[3]基生研）

光合成細菌 Rhodopseudomonas acidophila 7050 では強光と弱光培養により光捕集系の Bchl 型に差異があることが知られている．そこで光強度を変えて培養し色素蛋白複合体を精製し，色素を分析した．強光では B890 と B800-850 複合体を合成し，弱光では B890 と B800-820 複合体に置き変わった．B890（強光）の主なカロテノイドはスピリロキサンチン，アンヒドロロドビブリンで，B890（弱光）のは共役二重結合の短いリコペン，ロドピンに変わったが，Bchl 型とペプチド組成は同一であった．B800-850 の主成分はロドピン，ロドピン・グルコシド，リコペンで，B800-820 のはリコペン，ロドピナール・グルコシドであった．Bchl 型の変化に対応したロドピンからロドピナールへの変化がみられた．複合体中でのカロテノイドから Bchl へのエネルギー転移効率は強弱光の B890 共にカロテノイド組成の差異に係わらず低かった．一方 B800-850 は B800-820 より効率が低く，主成分のロドピンとロドピナールの違いに起因すると思われる．

1pD10

メタノール資化性・好気性光合成細菌 Pseudomonas radiora のカロテノイド酸の存在状態

斉藤智，高市真一[1]，嶋田敬三[2]，西村行正
（東京理科大・応用生物，[1]日本医大・生物，[2]都立大・生物）

前回は Pseudomonas radiora の色素蛋白複合体（RC-LH1 複合体）に含まれているカロテノイドと，複合体に結合せずに膜中に存在する主成分のカロテノイド酸について報告した．今回は膜成分を内膜（細胞質膜）と外膜とに分画し，そこに含まれるカロテノイドについて調べ，膜中での存在状態を検討した．

カロテノイドはＨＰＬＣで分析した．内膜及び外膜試料の分離を確認するため，内膜に特異的な Bchl，外膜に特異的なリポ多糖の成分である 2-keto-3-deoxyoctonate (KDO) を定量した．細胞をフレンチプレスで破砕し，ショ糖密度勾配遠心によって２つのバンドを得た．Bchl，KDO 量の測定から，密度の低いバンドは内膜画分，高いバンドは外膜画分と判定したが，互いの成分の混在が若干認められた．内膜画分のカロテノイド組成は色素蛋白複合体での分析と一致し，外膜成分の混在によるカロテノイド酸も検出された．外膜画分には主成分のカロテノイド酸が多量に存在していることが確認され，このカロテノイド酸は外膜に特有な成分であることが示唆された．また電気泳動の結果から，カロテノイド酸は色素蛋白複合体とは異なるタンパク質と，複合体を形成している可能性が示唆された．

1pD11

液体ヘリウム温度における光合成器官からの熱発光

野口　巧、井上頼直、園池公毅[1]（理研・太陽光科学、[1]東大・理・植物）

熱発光は、光合成器官におけるラジカル成分の状態を調べるために用いられてきた手法であるが、従来は77K以上での測定のみが行われていた。そこで、低エネルギーのラジカル成分を検出することを目的として、77K以下での熱発光を測定した。その結果、チラコイド膜のグローカーブにおいて20,50,70,90Kの4つのバンドが観測された。このうち、90KのバンドはいわゆるZバンドと同一のものであり、その他のバンドは今回新しく発見されたものである。これらのバンドは反応中心の光化学系における電荷分離状態には直接関与せず、主に光捕集系のクロロフィルに由来することが以下の事実より確かめられた。(1)反応中心において電荷分離を起こす赤色光のみでは、これらの熱発光バンドは誘起されなかった。(2)単離したＬＨＣＩ、ＬＨＣＩＩは、ＰＳＩ、ＰＳＩＩのコア複合体よりも強い発光強度を示した。(3)精製したクロロフィル(Chl) *a* 及び *b* は、固体状態においてチラコイド膜と同様な熱発光バンドを示した。メタノール中における精製Chlでは、20Kのバンドのみが観測されたことから、50-90KのバンドはChl分子同士間の電荷分離成分に由来し、20KのバンドはChl分子とリガンドアミノ酸残基との間の電荷分離成分に由来すると考えられた。これらの結果から、ヘリウム温度における熱発光は、光合成器官中におけるChl－Chl間及びChl－タンパク質の相互作用やChlの存在状態を調べるのに有用であると考えられる。

1pD12

キュウリの単離エチオプラストによるクロロフィライドbからクロロフィルaの合成

伊藤寿、[1]田中義人、田中歩、辻英夫（京大・理・植、[1]名城大・理工・化学）

クロロフィル（Chl）bはChl aの第二ピロール環のメチル基が、アルデヒド基に酸化されることによって生じる。一方アルデヒド基が還元されてメチル基になる反応は生体内では起こりにくく、Chl bからChl aへの転換は一般に起こらないと考えられてきた。

しかし、以前我々はクロロフィライド（Chlide）bをキュウリの単離エチオプラストに与えたところ、Chl aが蓄積することを示し、Chl bからChl aへの転換系の存在を明らかにした。そこで、この転換系を改良しその性質について調べたのでここに報告する。Chlide bからChl aへの転換は、エチオプラストの膜画分または可溶性画分単独では起こらず、この両方が必要であることがわかった。また、この反応の至適ｐＨは約７．５で、反応にはＡＴＰが必要である。Chlide bの代わりにChl bを与えてもChl aの蓄積は見られなかった。

この反応はChl a/bータンパク質複合体の形成および集光装置の光環境への適応に重要な役割を果していると推測される。

1pD13

シロザ成葉のクロロフィラーゼの精製とその性質：ＣｏｎＡへの親和性と糖タンパクとしての可能性

北　憲明、高宮　建一郎、塩井　祐三　（東工大・生命理工）

・序　クロロフィラーゼは古くから知られている酵素であるにもかかわらず、植物内での機能はよく知られていない。今回、細胞内での局在性および機能を調べる予備段階としてシロザ成葉から本酵素を精製し、その性質を調べた。

・方法・結果　精製は、Toyopearl HW-55による疎水性クロマトを中心にして行い、３４０倍に精製した。現在、ヒドロキシアパタイトなどによる精製についても検討している。また、ConA Sepharoseに対して親和性を持っており、本酵素が糖タンパクであることが予想される。分子量はゲル濾過の結果では２０－３０ｋＤａであった。クロロフィル *a*、*b* を基質としたときのＫｍ値はそれぞれ、５．０μＭ、２．３μＭとなった。本酵素はシロザ葉のアセトンパウダーから界面活性剤を用いずに抽出された。しかし、粗精製した葉緑体内での酵素の分布について調べたところ酵素は膜に付着して存在することが分かった。精製された酵素は水溶性であるが、アセトンパウダー処理などのいずれかのステップで可溶化されたものと考えられる。今後は、酵素に対する抗体を作成し、これを用いてさらに詳細な葉緑体内での分布を調べたいと考えている。

1pD14

クロロフィル分解反応の阻害によるフェオフォルビドの蓄積

塩井　祐三，高宮　建一郎，下川　敬之[1]　（東工大・生命理工・生体機構，[1]宮崎大学・農）

我々は先にシロザの粗抽出液におけるクロロフィル分解反応では最終産物として，ピロフェオフォルビドが蓄積することを報告した．本講演では自然界の分解と異なり何故フェオフォルビドが蓄積するのかについて検討したので報告する．クロロフィルの分解反応に，粗クロロフィルの代わりに純化したクロロフィルを用いるとクロロフィルの分解量は著しく低下する．このことは粗クロロフィル画分の中に活性化因子が存在していることを示唆している．フェオフォルビドの蓄積は粗酵素標品を用いた時は見られるが，アセトン分画を用いて部分的に精製した酵素標品では，クロロフィルの消失は起こるが，フェオフォルビドの蓄積は見られなっかった．部分精製した標品では，アスコルビン酸塩(1mM) の添加または嫌気条件によってクロロフィルの消失はほぼ完全に阻害されるが，フェオフォルビドの蓄積がみられた．また，クロロフィルの変化量とフェオフォルビドの生成量が一致しないことから，この分解は酵素反応によるもので２つの反応，フェオフォルビドの生成と酸素の必要なクロロフィルの消失の反応が存在すること．さらに，フェオフォルビドの蓄積は酸素を必要とするクロロフィルの消失反応が粗酵素標品の中に含まれる物質によって阻害されることによって起こると考えられる．

1pD15

マサキ斑入り葉における色素欠損機構の解析

増田建、C.Gamini.Kannangara[1]、塩井祐三、高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構、[1]Carlsberg Laboratory, Denmark）

中心部に白色の斑入りを持つ、マサキ(*Euonymus japanicus*)葉を材料として、色素体分化のメカニズムを解明するため、白色部における色素欠損機構の解析を試みた結果を報告する。斑入り葉白色部には、クロロフィル、カロチノイドはほとんど含まれておらず、またプロトヘム含量は緑色部に対して約30%であった。5-アミノレブリン酸(ALA)を白色および緑色部にそれぞれ処理し、暗所中での色素の蓄積を見たところ、白色部では蛍光を持つテトラピロール中間体の蓄積は、ほとんど認められなかった。そこで組織におけるALA、Porphobilinogen (PBG) およびポルフィリンの合成量を測定したところ、白色部ではALAを緑色部と同程度合成するのにも関わらず、PBGは殆ど合成されなかった。従って、白色部ではPBGを合成するための酵素、PBG synthaseが欠損あるいは活性が低下していることが想定された。

また、植物におけるALA合成は、プラスチドtRNA^{Glu}要求性であることから、白色部におけるtRNA^{Glu}遺伝子の発現を調べたところ、対照の他のtRNA(tRNA^{Phe})遺伝子がほとんど発現していなかったのに対して、有意に高い発現が認められたが、緑色部と比較すると約50%の発現であった。現在、白色部におけるプラスチド遺伝子の発現について検討中である。

1pE01

イネ葉緑体エンドペプチダーゼの精製

清田誠一郎、坂野勝啓（農水省・生物研）

Suc-ala-ala-ala-pNA(STANA)を基質とする金属エンドペプチダーゼ（Chl-EP1）をエンドウの単離葉緑体または緑葉全体から精製し報告した。抗Chl-EP1抗体を用た解析から、この酵素が他の高等植物にも広く分布することがわかった。分子量（105kD）は植物間でよく保存されていたが、抗体の反応性には違いが見られ、１次構造の違いが示唆された。そこで、イネChl-EP1を精製し、エンドウの酵素との比較を行ったので報告する。

精製はイネ緑葉全体を材料とした。エンドウの場合と同様に、葉全体から精製を行った場合でもSTANA分解活性は各クロマトグラフィで単一ピークを示した。精製方法はエンドウに準じた方法で行った。Toyopearl HW-55やDEAE Toyopearl 650Sでの挙動は、エンドウと同様であった。Hydroxylapatiteカラムでは、エンドウChl-EP1が吸着した10 mM potassium phosphate, pH7.6では吸着しなかったため、緩衝液のpHを6.8に下げた。精製イネChl-EP1は、抗エンドウChl-EP1抗体と反応した。

イネChl-EP1の葉緑体局在性の確認およびエンドウChl-EP1とのペプチドマッピングによる比較を現在行っている。

1pE02

発達中のダイズ子葉におけるウリカーゼ遺伝子発現

高根健一、田中耕二、杉本昭夫、岡崎勝一郎、河内宏[1]、田島茂行（香川大・農・生物資源、[1]農水省農業生物資源研）

ウリカーゼは、ダイズ根粒でのアラントイン代謝における鍵酵素で、根粒組織においてのみ発現すると考えられてきた。しかし、ウリカーゼ遺伝子発現は発達中のダイズ子葉においても見られ、種子の成熟に関与していると思われた。

発達中の種子を用いたノーザンブロット分析は中期種子発達段階の組織において、ウリカーゼmRNAの存在を示した。精製された根粒ウリカーゼに対するモノクローナル抗体を用いたイムノブロッティングとELISA分析においても子葉中にウリカーゼタンパク質の存在が確認され、その含有量は可溶性タンパク質の約0.01%であった。

1pE03

登熟ダイズ種子におけるアスパラギナーゼ活性と遊離アミノ酸量との関連性

増田亮一　（農水省・食総研）

ダイズ種子では，転流される主要な窒素化合物ASNは，種皮柔細胞層でGLNに変わること，種皮，子葉にはGS1，ASNase活性が存在することが明らかになった．

登熟中，種子に多量の遊離アミノ酸を含む品種があり，１％ＦＷを越え，通常ダイズの２－３倍となる．特に，ASNは1/2に達する．これは，種子の要因に限ると，ASN分解活性が低いためと考えられる．多アミノ酸種の子葉では，ASNase活性が登熟前期（タンパク質蓄積開始時期），通常ダイズの１／２に低下することが判明し，遊離アミノ酸含量が最大となる時期と一致した．また，種皮ASNase活性にも，同じ時期に低下が見られ，通常ダイズでも遊離アミノ酸含量の最大期と重なった．従って，種子ASN量は種子ASNaseによって制御されていると考えられる．

登熟後期の種子からASNaseをTSKgel Toyopearl HW65，同Super-Q，同Phenylのクロマトグラフィーで部分精製した．Native-PAGE後の活性検出では，K依存性ではない約35kDのサブユニットペプチド，10-20kDの分解ペプチド数本が認められた．現在更に精製中である．

1pE04

チューリップリン片内貯蔵タンパク質の合成と分解

山崎拓也・志田由起子・五十嵐太郎・大山卓爾
（新潟大・農・農化）

チューリップ球根リン片内には多量のデンプンとともに窒素も貯蔵しており、根や茎葉部の生長に利用される。収穫時の球根リン片内窒素の貯蔵形態について調べたところ、90% 以上はリン酸緩衝液可溶性画分に存在し、高分子成分と低分子成分をほぼ等量づつ含んでいた。高分子成分はおもにタンパク質で、水溶性画分（アルブミン）約60% 、塩可溶性画分（グロブリン）約40% であった。タンパク質の構成アミノ酸組成では、グルタミン酸、アスパラギン酸、セリン、グリシンなどが比較的多く含まれており、ジャガイモ貯蔵タンパクのパタチンと類似していた。SDS-PAGEによると、収穫時の球根では分子量21, 22, 32, 33kD付近に大量に集積しているペプチドが検出された。これらのバンドはPAS 染色されたため糖鎖を含む可能性がある。二次元電気泳動によるといずれのバンドも等電点の異なる複数のペプチドより構成されていた。

開花時（5 月）から、継時的に球根を採取し、ペプチドのパターン変化を調べた。開花以後収穫までの約1 カ月に、21, 22 32, 33kDの貯蔵タンパク質が多量に集積した。促成栽培のために 8月から10月にかけて球根を低温貯蔵すると、これらのバンドは減少し、分解初期に 17kD のペプチドが現れた。10月末温室で栽培したところ12月開花時には貯蔵タンパクはほとんど消失した。また、低温処理をせずに温室で栽培した場合には、植え込み前まではほとんど貯蔵タンパク質の分解はおこらず、植え込み後の分解も処理した球根と比べ緩徐であった。

1pE05

乾燥種子における揮発性物質の生成と種子発芽力

張　明、劉　岩、篠原麻男[1]、江刺洋司（東北大学・教養、[1] 高砂香料総研）

植物種子の多くは乾燥状態に置かれても、種によっては凡そ180 種に及ぶ揮発性物質を生成・放出していることが明らかになった。これらの一部は GC-MSによって同定されたが、単純な炭化水素(propylene, butene, butane等）からモノテルペン類（α-pinene, β-pinene, p-cymene 等)、 種々のアルコール、アルデヒド類が含まれるが、これらのガス成分放出に種特異性は認められなかった。これらの内、多くの種子に一般的なものは、MtOH、EtOH、isoPrOH、MeCHO、Acetone で、これらの放出は相対湿度（RH）と密接に関連し、-3.5℃でも認められる。澱粉種子・脂肪種子とに拘らず、EtOHと MeCHO間の相互変換は高RH（53～75%)下で起り、乾燥種子中での Alcohol 脱水素酵素の作動が確認された。また、高RH下では種子内で加水分解反応が進行していることは、 EtOH や MeCHO が AcOEtを添加した場合にも検出されることから明かとなった。一方、低RH(12 ～33%)下では、エステル化反応が優先することは、微少揮発性成分であったAcOHガスを添加して封入した場合に、AcOEt の放出が増加することから証明された。これらの物質の多く、特に MeCHO は乾燥貯蔵中の種子の発芽力を顕著に低下させた。以上の事実から、遺伝子銀行等での低温・密封容器貯蔵中に起こる種子の劣化は、種子自身の放出する揮発性物質にもよることが推定された。

1pE06

好冷菌 *Vibrio* sp. ABE-1株のNH_4^+輸送系について

長　雅子、高田　泰弘、福永　典之（北大・理・植物）

多くの細菌では、NH_4^+を窒素源として利用する事が知られており、NH_4^+を細胞内に取り込むための、エネルギー依存性の輸送系の存在が、いくつかの細菌で報告されている。しかしこれらの輸送系の性質は、まだ不明な点も多い。今回、我々は海洋性好冷菌 *Vibrio* sp. ABE-1 株のNH_4^+輸送系について、NH_4^+の放射性アナログである$^{14}CH_3NH_3^+$ の intact細胞への取り込みによりこの輸送系のいくつかの性質について調査した。

NH_4^+存在下で生育した大腸菌では、NH_4^+輸送活性が抑制されることが以前に報告されているので、本菌でも窒素源をNH_4Cl からグルタミン酸に変えた合成培地で培養した細菌を実験に用いた。窒素源をグルタミン酸とした場合、細菌の生育は顕著に悪くなったが、このように生育させた対数増殖期中期以降の細胞では$^{14}CH_3NH_3^+$ の取り込み活性が見られた。この取り込みは、KCl によって活性化され、50mM KClで最大値に達した。0℃から15℃までの低温域での活性はほとんど変わらず、25℃では約60％に低下し、40℃では完全に失活した。一方0℃から25℃の温度範囲内では、$^{14}CH_3NH_3^+$ に対するKm値には大きな変化は見られなかった。

1pE07

Heterosigma akashiwo同調培養における硝酸取り込みの周期的変動

宮城布明、藤伊　正（筑波大・生物）

硝酸の細胞内への取り込みは硝酸代謝の第一段階であり、NRと同様に複雑な制御を受けていると考えられる。本研究では、硝酸取り込み機構とその制御の解明ならびに関与する因子の同定のための基本的課題として、海産ラフィド藻Heterosigma akashiwoを用い硝酸取り込みの諸特性を調べた。硝酸(NO_3)の取り込みは、[^{15}N]-$NaNO_3$をN源として与え、細胞のNの同位体比の変化により測定した。

NO_3をN源として培養した細胞はNO_3の高い取り込みを示したが、培地中のN源をNO_3からNH_4に換えると1日でNO_3取り込み活性は失われた。また、NH_4をN源とした細胞は、NO_3を取り込むようになるまでに3時間のlag timeを要した。このような現象はNH_4取り込みではみられなかった。タングステン酸を用いてNR活性を阻害してもNO_3取り込みは阻害されないことから、NO_3取り込みはNRとは独立してNO_3によって誘導されていると考えられる。

H. akashiwoは、12h-light/12h-darkの光周期下で高い同調培養が可能であるが、そのような条件下でNO_3取り込みは明期の初期に最大、暗期の初期に最小のピークを持つ日周リズムを示した。NH_4取り込みは明期の始まりとともに上昇し、暗期の始まりとともに低下した。NR活性は明期の中期にピークを持つリズムで変化していた。NO_3取り込みのリズムはNR活性のリズムとは位相がずれており、独自の制御を受けているものと考えられる。

1pE08

好大気汚染物質植物の育成　（６）道路沿い野生植物および栽培植物からの”好NO_2候補植物”のスクリーニング

鎌田光宜, 桧垣 朝, 濃野昌子, 神 幸夫, 入船浩平, 中田政司, 豊原源太郎, 藤田耕之輔', 森川弘道 （広島大・理, '広島大・生物生産）

我々は大気汚染物質であるNO_2を”好んで”吸収・同化し、かつNO_2を単一の窒素源として生育できる植物、すなわち好NO_2植物の創製を目指して研究を進めている。これまでに道路沿いに生育する野生植物及び栽培植物のNO_2同化能力を調べ、”好NO_2候補植物”のスクリーニングを行なってきた。植物を重窒素でラベルしたNO_2（4±1ppm）に明所（10 klux）下で８時間（9:00-17:00）暴露させた後、ケルダール分析により乾物重あたりの総還元態窒素量を測定した。他方、質量分析により還元態窒素中に占める^{15}Nの割合を決定し、両者から乾物重あたりに同化されたNO_2由来の窒素量を求め、これをNO_2同化能力として相互に比較した。野生草本植物52種、栽培草本植物60種、栽培木本植物37種、合計149種の植物について調べた結果、キク科にNO_2同化能力の高い植物がみられ、一般にイネ科植物は同化能が低かった。また、木本植物は調べた限りではいずれも同化能力は低かった。NO_2同化能力は植物間で著しく異なり、同能力最大のダンドボロギク（野生キク科）と最小のイオナンタ（アナナス科）の間には約1000倍の差異がみられた。野生草本植物におけるNO_2同化能力の最大／最小比は143倍で、　栽培草本植物（950倍）に比べて植物間の能力差は小さかった。　また、総還元態窒素の5-11%以上をNO_2由来の窒素が占める植物が149種中32種見い出された。

1pE09

好NO_2木本植物のスクリーニング；　同化能力と樹種の特性

松井邦夫、桧垣朝[1]、木谷和重、森川弘道[1]
（トヨタ自動車（株）、[1]広島大、理、植物）

我々は大気汚染物質(NO_2)を”好み”、汚染物質を必要栄養素として生育する植物”好大気汚染物質植物”の育成を目標として研究を進めている。

本研究では、対象植物を木本植物とし、常緑広葉樹、落葉広葉樹、針葉樹について約70種のNO_2同化能力を測定した。暴露実験は4±1 ppm $^{15}NO_2$, 約10,000 lux, 27±1 ℃の条件下で８時間（昼間；9:00-17:00）行なった。

その結果、最大の同化能力を示したユーカリと最小のヒイラギでは、同化能力に約30倍の差があった。また、同化能力と樹種の特性にはある程度の関連が見られた。

1pE10

ダイズ根と根粒サイトゾルにおける硝酸還元酵素の性質

金山喜則、木村佳代　（名古屋大・農・園芸）

ダイズ葉には３種類の硝酸還元酵素が知られており、根にはＮＡＤＨ依存で硝酸誘導型の酵素（ｒＮＲ）が存在している。根への根粒菌の感染により形成された根粒のサイトゾル、すなわち根粒における植物由来の画分にもＮＡＤＨ依存型硝酸還元酵素（ｎＮＲ）の存在が知られており、これまでの知見から構成的に発現している可能性がある。そこでｎＮＲとｒＮＲが、同じ根由来の酵素であるにもかかわらず発現様式が異なる点に注目し、その性質を検討した。

ｎＮＲが非誘導型であることを厳密に検討するため蒸留水で水耕を行ったところ、硝酸無添加で 1.65μmol/h/gfwの活性を示し、硝酸添加による活性の増加はわずかであった。このｎＮＲ活性は硝酸で誘導されたｒＮＲ活性の２倍以上の高さであった。 NADPH依存活性は根では全く見られなかったが、根粒では若干検出された。また用いられた根粒菌由来のバクテロイドにはほとんど硝酸還元活性は見られず、ｎＮＲがバクテロイド酵素の混入ではないことも確認した。

両酵素を数種プロテアーゼインヒビターを用い、Blue Sepharose CL-6BおよびMono Qにより部分精製した。Mono Qでは根、根粒いずれにおいても単一の活性ピークが見られ、ほぼ同じ位置に溶出された。 また両酵素とも最適ｐＨは7.5、Ｋｍ値は１～２ｍＭであり、葉のＮＡＤＨ依存酵素より高いＫｍ値を示し、ｎＮＲ・ｒＮＲは葉の酵素とは明らかに異なっていた。またNADPH依存活性／NADH依存活性についても双方とも約0.1であった。以上より、ｒＮＲとｎＮＲは発現様式が異なるものの類似した性質を持っていることが明らかとなった。

1pE11

紅藻 Porphyra yezoensis の硝酸還元酵素に対するモノクローナル抗体

° 中村良子、佐治光[1]、近藤矩朗[1]、猪川倫好
（筑波大・生物、国立環境研[1]）

紅藻 Porphyra yezoensis から抽出、精製したNADH-NR(硝酸還元酵素)を調べた結果、他の植物のNADH-NRとほぼ同様の構造をとることが明らかになった。しかし、P. yezoensisのNADH-NRは特に最適pHが他の植物起源のNADH-NRよりも高い点が特徴的であった。また部分活性では、diaphorase活性の最適pHが全活性の最適pHとほぼ一致するので、NADHの還元反応に関与する部分に他のNADH-NRと異なる構造をとることが推測された。

そこでP. yezoensisの精製NRを用いﾏｳｽから22個のﾓﾉｸﾛｰﾅﾙ抗体(NR1からNR22)を得た。これらはすべてNRの全活性、または部分活性を阻害し、15個は100kDのNRサブユニットを認識した。この結果と、trypsin または Staphyrococcus aureus V8 protease による限定分解の結果生じた断片に対するcross-reactivityから、少なくとも得られた抗体のうちの2個(NR14、NR18)はNRのdiaphorase部分を認識し、4個(NR6、NR7、NR10、NR13)は終末NR活性部分を認識していると考えられた。また抗体のうちの7個(NR6、NR7、NR8、NR10、NR15、NR20)はﾜﾑｶﾃﾞやﾜﾉﾏﾀなどの多細胞性紅藻の100kDから110kDのNRサブユニットを認識した。しかしこれら7抗体は単細胞性紅藻のCyanidium caldarium と Porphyridium purpureum のNRサブユニットを検出できなかった。また、NR10はクリプト植物、褐色植物、緑藻からのNRサブユニットのうちのいくつかを認識し、NR6、NR15、NR20はいずれもホウレンソウ、タバコのNRサブユニットを認識した。

1pE12

ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942の *nirA* オペロンの発現におよぼすMSXの影響

鈴木石根、杉山達夫、小俣達男（名古屋大・農・農化）

Synechococcus PCC 7942の硝酸イオンの取り込みおよびアンモニアへの還元に関わる遺伝子群は、ゲノムDNA上で *nirA* (亜硝酸還元酵素遺伝子)、*nrtA, B, C, D* (硝酸イオン輸送体の構成タンパク質の遺伝子)、*narB* (硝酸還元酵素遺伝子)の順に存在し、それらはオペロンを構成している(*nirA* オペロン)。*nirA* オペロンの発現は転写レベルで制御されており、硝酸イオンを同化して生育している細胞にアンモニアを与えると、その転写は速やかに停止する。一方、1μMのMSX(グルタミン合成酵素の特異的な阻害剤)を添加してアンモニアのグルタミンへの同化を阻害すると、*nirA* オペロンの転写は活性化され、転写産物の量は60分以内に約7倍に増加した。細胞内のアミノ酸濃度を測定したところ、アンモニアを添加した場合には、グルタミンが蓄積してグルタミンとグルタミン酸の濃度比(Gln/Glu)が上昇するのに対し、MSXを添加した場合にはグルタミンの濃度は速やかに減少して90分後には検出できなくなった。これらの結果は、グルタミン濃度の上昇あるいは低下がシグナルとして作用して、*nirA* オペロンの転写を調節している可能性を示唆するものである。現在、*nirA* オペロンの発現と、GS−GOGATサイクルの代謝中間体の変動との関係を解析中である。

1pE13

ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942の *nirA* オペロン上流域に位置する遺伝子の機能解析

堀江宣行、鈴木石根、杉山達夫、小俣達男　（名古屋大・農・農化）

Synechococcus PCC 7942の硝酸イオンの取り込みと還元に関する遺伝子群は *nirA* オペロンとして存在しており、その発現は還元型窒素源であるアンモニアによって阻害される。このオペロンの上流域についてノーザン解析を行ったところ、*nirA* の転写開始点の上流0.25kbから約2.5kbの領域も同様の転写制御を受けていることが明らかになり、その転写方向は *nirA* オペロンとは逆向きであることがS1マッピングにより示された。この領域の塩基配列を解析したところ、1050bp (ORF1)と930bp (ORF2)の2つのORFが存在していた。ORF1のコードするタンパク質は既知のタンパク質のいずれとも有意な相同性を持たないが、ORF2のコードするタンパク質は LysR family に属する転写因子と高い相同性を持っていた。ORF1の挿入変異株はアンモニア培地では正常に生育するが、硝酸培地では黄緑色を呈し窒素同化力の低下が推測された。これに対しORF2の挿入変異株はいずれの窒素源でも正常に生育したが、硝酸還元酵素活性および *nirA* オペロンの転写は野生株に比べておよそ半分に低下していた。これらの結果はORF1、ORF2が硝酸還元系の遺伝子発現の調節に関与している可能性を示唆している。

1pE14

ラン藻*Synechocystis* PCC 6803におけるグルタミン合成酵素の活性阻害物質

光部篤人、小俣達男、杉山達夫（名古屋大・農・農化）

グルタミン合成酵素（GS）は、ラン藻の窒素同化に中心的な役割を果たしている。*Synechocystis* PCC 6803では、硝酸塩で生育する細胞にアンモニウム塩を添加すると翻訳後の調節によりGS活性が短時間で低下することが報告されている。この活性調節機構の解明を目的として研究を行い、この不活性化に関与すると推定される物質を細胞抽出物に見出したのでその詳細を報告する。硝酸塩で生育した細胞にアンモニウム塩を添加しGS活性を不活化した細胞の抽出物を硝酸塩で生育した細胞から抽出したGSに加えると、GS活性の低下が認められた。この不活化効果は添加抽出物を熱処理しても失われなかったが、Papain処理によって失われた。この不活性化に関与する物質はタンパク質であると推定され、SDS-PAGEによりサイズは14kDであると推定した。この物質はゲル濾においても、また、イオン交換クロマトグラフィーにおいてもGSの画分に溶出され、熱処理を加えるとGSから分離した。このことからこの物質はGSと会合し活性を阻害すると推定される。目下阻害様式の解析ならびにアミノ酸配列の決定を行っている。

1pE15

葉緑体局在型グルタミン合成酵素による光呼吸経路の調節機構

木崎暁子、竹葉剛[1]（京大・農生、[1]京府大・生科）

グルタミン合成酵素には、細胞質に存在するＧＳ１と、葉緑体（プラスチド）に局在するＧＳ２との、二つのアイソザイムが知られているが、このうち、ＧＳ２は、硝酸還元系で生成するアンモニアを同化する役割と共に、光呼吸経路において、グリオキシル酸のアミノ基のドナー（Glu、Ala）を供給すること、グリシンから遊離するアンモニアを同化すること、の役割をもち、光呼吸経路の重要な key enzyme の一つである。ＧＳの活性阻害剤である methionine sulfoximine (MSO) をタバコの葉切片に与えて、光を照射すると、強光下では２日ほどで、葉は褐変し、細胞は死滅する。MSO を与えても暗黒においたものや、水対照区のものは、もとの緑色のままである。

MSO を与え、ＧＳ２活性を止めると、上記理由により、光呼吸経路は回転しなくなるが、その結果、比較的すみやかに、photoinhibition が観察される。この状態が一定時間続けば、光障害、すなわち、光合成装置の破壊が進行する。MSO を与えなくても、通常のタバコ葉に強光を連続して照射すると、組織内に次第にアンモニアが蓄積してくるので、ＧＳ２活性が制限となっていることがわかる。演者らは、イネＧＳ２遺伝子のプロモーターが、アンモニアにより発現調節を受けていることを見い出しているが、光呼吸条件下でアンモニアが蓄積することが、ＧＳ２遺伝子の発現が光呼吸条件下で促進されることの分子機構ではないか、と考えられる。

1pF01

カボチャ子葉のマイクロボディ機能変換過程におけるマイクロボディ膜タンパク質の変動

山口勝司、森仁志、西村幹夫（基生研・細胞生物）

カボチャなどの脂肪性種子の子葉組織では、光照射に伴う緑化に伴いマイクロボディの機能変換がみられ、貯蔵脂肪を分解し糖新生に関与するグリオキシゾームが、光呼吸の一端を担う緑葉パーオキシゾームへと変換する。私達はこの機能変換に働く調節機構を明らかにするため、マトリックスに局在するグリオキシゾーム及び緑葉パーオキシゾームに特異的な酵素を、指標として解析を加えている。一方、この機能変換におけるマイクロボディ膜の変動については、ほとんど知見が得られていない。今回、マイクロボディ膜を構成する膜タンパク質に焦点を置き、マイクロボディ機能変換を解析したので、その結果を報告する。マイクロボディは単位膜に囲まれたオルガネラであり、浸透圧変化により損傷を受けやすい。そこでラフィノースで浸透圧を調整したパーコール自己密度勾配遠心法により、マイクロボディの調製を試みた。この方法を用いることにより、機能変換の各過程にある子葉組織からマイクロボディを、無傷かつ他のオルガネラの混入が少なく取り出せることが判明した。調製したグリオキシゾームから膜分画を調製すると、分子量31ｋ（ＭＰ31）と28ｋ（ＭＰ28）のタンパク質が濃縮され、これらがマイクロボディ膜に特異的なタンパク質であることが示唆された。ＭＰ31に関してその特異抗体を調製し、マイクロボディ機能変換に伴う量的変動を解析した結果、このタンパク質は種子発芽の進行と共に増加し、機能変換によって減少していくことが示された。

1pF02

カボチャ登熟子葉の輸送ベシクルに存在するGTP結合タンパク質

嶋田知生[1,2]、西村いくこ[1]、西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物、[2]総合研究大学院大学・生命科学）

低分子量GTP結合タンパク質は酵母や動物の細胞内でタンパク質のベシクル輸送に重要な役割を果たしている。登熟種子細胞では限られた種類の種子タンパク質が粗面小胞体で大量に合成され、輸送ベシクル（デンスベシクル）を経由して液胞へ送られる。今回は、この液胞へのベシクル輸送の機構を理解するために、カボチャ登熟子葉より単離したデンスベシクルを用いてGTP結合タンパク質がこの輸送系に関与しているかどうかを調べた。

登熟子葉よりパーコール法で単離したデンスベシクルをSDS-PAGEにかけ、ニトロセルロース膜に転写し、[α-^{32}P]GTPと反応させたところ25、27、37 kDaの3種のタンパク質がGTP結合能を持つことが判明した。これらのタンパク質がデンスベシクルに局在していることをショ糖密度勾配遠心法により確かめた。この[α-^{32}P]GTPの結合がATP、UTP、CTPで阻害されず、GTPおよびGDPで阻害されたことから、これらのタンパク質はGTP (GDP)を特異的に結合することが示された。これらのGTP結合タンパク質は単離デンスベシクルをコール酸ナトリウムやTriton X-100で処理するとよく可溶化されるが、高塩、尿素、アルカリ処理では可溶化されず膜に強固に結合していることが示唆された。現在、これらのGTP結合タンパク質のベシクル輸送系における役割について検討中である。

1pF03

液胞内におけるプロ型前駆体タンパク質のプロセシングの特異性

西村いくこ、西村幹夫（基生研・細胞生物）

細胞内の粗面小胞体で合成されたプロテインボディタンパク質のプロ型前駆体はデンスベシクルにより液胞へ運ばれた後プロセスされて成熟型タンパク質に変換する。演者らはこのプロセシングに関与する液胞プロセシング酵素をヒマ胚乳より単離精製した(1)。この精製酵素は複数種のプロテインボディタンパク質のプロ型前駆体を成熟型に変換した。今回は、液胞内におけるプロセシングの特異性について得られた知見を報告する。

カボチャのプロテインボディに局在するタンパク質(11S globulin, 2S albumin, pumpkin trypsin inhibitor, MP32 protein)のcDNAより推定される前駆体の一次構造と成熟型タンパク質のN末端アミノ酸配列より、液胞内のプロセシングの部位を決定したところ、いずれもAsparagaine残基のC末端側で切断されていることが判った。各々のタンパク質のプロセシング部位近辺の一次および二次構造には類似性は認められなかった。各前駆体タンパク質のハイドロパシーを解析すると、プロセスされるAsparagaine残基はいずれも親水領域に局在しており、プロセスに関与していないAsparagaine残基は疎水領域に分布していた。また、*in vitro* で合成させたプレプロ型前駆体や変性タンパク質は翻酵素により制限なく切断分解される。これらの結果は液胞プロセシング酵素がプロ型前駆体タンパク質の分子表面に露出しているAsparagaine残基を認識し、切断することによって成熟型タンパク質が形成されること、および液胞に輸送されてくるプロ型前駆体はすでにフォールディングしていることを示唆している。

(1) Hara-Nishimura, I., et. al.(1991) FEBS Lett., 294, 89-93.

1pF04

ヒマ種子の液胞プロセシング酵素の局在性と登熟および発芽時における変動

平岩呂子[1,2]、西村いくこ[1]、西村幹夫[1]（[1]基生研・細胞生物、[2]愛知教育大学・教育）

種子タンパク質のプロ型前駆体は粗面小胞体で合成され、デンスベシクルにより液胞へ輸送された後に、プロセシング酵素によって切断されて成熟型タンパク質に変換する。我々はこの液胞プロセシング酵素をヒマ種子胚乳より単離精製し、この酵素が複数種の液胞タンパク質プロ型前駆体のプロセシングに関与していることを明らかにしてきた。今回は、液胞プロセシング酵素の局在性と種子の登熟および発芽時における変動に関して得られた結果を報告する。

液胞プロセシング酵素の特異抗体を作製し、登熟ヒマ胚乳細胞の免疫電顕観察を行った結果、本酵素は液胞の可溶性画分に局在していることが示された。ついで、ヒマ種子の発達段階における本酵素の変動を活性と酵素タンパク質量の両者について調べた。活性測定には合成ペプチドを基質として用い、酵素量はイムノブロット法により検討した。胚乳における本酵素の活性とタンパク質量はともに、種子の登熟に従って増加し、発芽が進むにつれて低下した。胚乳以外の組織では、子葉にも本酵素の活性とタンパク質が検出された。さらに、ヒマ以外の植物を用いて同様の実験を行ったが、その結果、カボチャ子葉とダイズ子葉で活性が検出され、そのうちカボチャ子葉の酵素は本酵素の抗体と反応することが判明した。

1pF05

液胞形態形成に機能する酵母*VAM*遺伝子

和田　洋　（東大、教養、生物）

液胞は高等植物の細胞体積の90%以上、酵母の細胞体積の約1/4を占める大きな細胞内小器官であり、各種の代謝産物の貯蔵、膨圧の制御、細胞質の恒常性維持などに機能する液胞コンパートメントを形成している。この液胞コンパートメントが大きな体積を保持し、大きな緩衝能を備えていることは、植物、菌類の細胞が環境の変化に対して適応する場合に重要と考えられる。この液胞形態の形成、維持に機能する分子機構を明らかにするため、遺伝学的、分子生物学的解析手段の適用の容易な酵母を用いた解析を行なった。酵母の、液胞形態に異常を示す突然変異株を得て、液胞形態に関与する9つの*VAM* (vacuolar morphology) 遺伝子を同定した。*VAM1, VAM5, VAM8, VAM9*遺伝子についての解析の結果、これらの遺伝子が液胞蛋白質のゴルジ体から液胞への蛋白質輸送の過程に機能していることが示された。一方、*VAM2, VAM3, VAM4, VAM6,VAM7*遺伝子に欠損をもつ突然変異株は大きな液胞をもたず、多数の小胞構造をもつことから、これらの遺伝子は大きな液胞形態の形成、維持に機能すると考えられた。*VAM7*遺伝子の構造解析を行なった結果、*VAM7*遺伝子産物(Vam7p)が細胞骨格構成成分と弱い相同性を示し、またいわゆるcoiled-coil構造を形成しうるアミノ酸配列をもつことが示された。現在、抗Vam7p抗体を調整しており、これを用いて酵母細胞内のVam7pの動態を明らかにすることを予定している。

1pF06

自食作用不能変異株の単離とその解析

塚田美樹、大隅良典（東大・教養・生物）

液胞内プロテイナーゼ欠損株を栄養培地から炭素源または窒素源飢餓培地に移すと液胞内に細胞質を一重の膜で囲んだ構造体Autophagic body(以下ABとする)が蓄積する。タンパク分解酵素欠損株を親株として栄養飢餓条件下にABを蓄積しないという形態学的指標による突然変異の分離を試みたところ、目的とする変異株が一株得られた。四分子分析によりこの変異は、核性の劣性変異であることがわかった。また、この変異は自食作用(Autophagy)不能という形質により単離されたことから、*apg1*と命名した。変異株を野生株とかけあわせてタンパク分解酵素をもちながらAB蓄積不能変異をもつ株を得たところ、この株ではタンパク分解酵素があるにもかかわらず液胞でのタンパク分解が起きないことがわかった。また、ホモの２倍体では胞子形成できなかった。この変異株は窒素源飢餓培地中で野生株よりも速やかに生存率が低下することがわかり、この形質を指標にさらに多くの自食作用不能変異株の単離を行い、約38000のコロニーから99の変異株を得た。これらの変異は*apg1*を含む15の相補性グループに分けられた。15の変異株はいずれも液胞でのタンパク分解不能であり、胞子形成不能であった。現在、*apg1*のクローニングとシークエンシングを試みている。これらの変異株を解析することにより自食作用に関与する遺伝子群と、その作用機構の分子レベルでの理解が進むものと期待される。

1pF07

ニチニチソウ細胞の低細胞密度培養

坂野勝啓、矢崎芳明、清田誠一郎、沖原清司
（農水省・生物研）

低い細胞密度（10^5個/ml程度以下）のもとでは植物細胞の増殖は阻害される。この原因は細胞からその増殖に必須である物質、例えばビタミンやホルモンの様なものが細胞外に放出されて希釈され、再吸収できなくなるためとされている。ニチニチソウ培養細胞の場合、低細胞密度での増殖阻害の原因としてリン酸の過剰摂取（植物生理学会・1991年度年会）、培地中の溶存炭酸ガス濃度の低下と培地ｐＨ低下の減少（植物学会 1992年度大会）についてはすでに報告した。

今回は、さらにこれら以外の要因について検討を進めるために、細胞密度を2-5個／mlとしてconditioned medium の効果について検討した。このためにコマ撮りビデオ装置による連続観察を行い、細胞の生存状態、分裂、死に至る過程を観察した。ＭＳ培地から調製したconditioned mediumを用いて、少なくとも１回の細胞分裂と、５日間程度の生存を維持することができた。しかし、その後の培養で細胞中のでんぷん顆粒が消失し、結局細胞は死んだ。Conditioned mediumのモデルとしてのリン酸を含まないＭＳ培地では, 5%炭酸ガス気流中、ｐＨが5.8と3.9のいずれにおいても, 培養開始後数時間以内に細胞死が確認された。Conditioned medium 中に特別な"conditioning factor"が存在するかどうかは検討中である。

1pF08

タバコ培養細胞BY-2のミニプロトプラストの凍結保存

園部誠司、杉山純一、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

タバコ培養細胞BY-2のプロトプラストをパーコール中で遠心すると液胞が取り除かれたプロトプラスト（ミニプロトプラスト）が得られる。細胞質分裂の時期にある細胞から調製したミニプロトプラストを培養すると細胞質分裂が完了することは以前報告し、細胞機能がミニプロトプラストにすることで損なわれないことを示した。次に、ミニプロトプラストでは液胞がほとんど含まれていないことから、凍結による傷害を受けにくく、液体窒素中で保存できるのではないかと考えられたのでこれを検討し、その結果、肯定的結論を得たので報告する。最近、遺伝子の機能を調べる目的で培養細胞を用いた形質転換実験がさかんに行なわれているが、形質転換した細胞を凍結保存することにより、より効率的に遺伝子機能の解析を効率的に行なうことができると考えられる。

植え継ぎ５日目の細胞からプロトプラストを調製し３０％パーコール中で遠心することによりミニプロトプラストを得た。ミニプロトプラストを１０％DMSOを含む改変Linsmaier-Skoog培地に懸濁し、－３０℃で２時間予備冷却したのち、液体窒素中に７日間保存した。解凍は３０℃で素早く行ない、培地に懸濁し培養した。解凍されたミニプロトプラストのほとんどは細胞膜が無傷であり、形態的には凍結前と同様であった。現在、より厳密な凍結条件と正常細胞に効率よく復帰させる条件を検討中である。

1pF09

タバコ培養細胞BY-2のミニプロトプラストの培養

杉山純一、園部誠司、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

タバコ培養細胞BY-2のプロトプラストを培養すると、細胞壁を再生し、伸長したり分裂したりすることがすでに報告されている。今回、われわれはプロトプラストから液胞を除去したミニプロトプラストを単離し、その培養を試みた。

BY-2細胞より調製したプロトプラストをパーコールの密度勾配遠心にかけ液胞を取り除いて得たミニプロトプラストを2,4-Dを含むLinsmaier-Skoogの改変培地で培養すると小さな細胞から成る細胞塊が形成された。これは細胞質の増加を伴わずに分裂のみを行った結果であろうと思われた。2,4-Dを含まない培地で培養したところ、細胞壁と液胞が再生され、プロトプラスト培養と同じように伸長する細胞が得られたが、この他に一個の細胞が数カ所のくびれを持ちながら伸長し、大部分を液胞が占めるような細胞も見られた。2,4-Dを含まずプロピザマイドを加えた培地で培養すると、普通に伸長する細胞はみられなくなるが、この数珠状の細胞は見られるところから、この特異な伸長様式の機構に表層微小管は関与していないと考えられる。現在、細胞壁の強度と液胞量とのバランスの変化に依存するのではないかとの仮説を立て、その仮説について検討中である。また、数珠状細胞の出現頻度と培養条件との関係についても調べている。

1pF10

タバコと Nicotiana benthamianaの体細胞融合雑種のアブラムシ耐性と葉面樹脂成分

萩森　学、松井正春[1]、篠田徹郎[1]、松崎敏明[2]、篠崎靖宏[2]
原田晴康[3]　（日本たばこ・植物開発研、[1]農水省野菜茶試
[2]日本たばこ・たばこ中研、[3]日本たばこ・葉たばこ研）

タバコに、N. benthamianaのアブラムシ耐性を導入するため、両種の細胞融合雑種を作出した。雑種及び両親植物について、アブラムシ耐性および耐性に寄与していると考えられる葉面樹脂成分を調査した。アブラムシ耐性試験はモモアカアブラムシ（Myzus persicae）１齢幼虫を被検植物の葉片上で飼育し、その生存日数及び成虫化率を調査することにより行った。葉面樹脂は、新鮮葉をクロロホルムに１０秒間浸すことにより抽出し、部分精製後 TLC及びGCにより分析した。雑種はN. benthamianaとほぼ同程度のアブラムシ耐性を示した。葉面樹脂成分については、雑種はN. benthamianaには存在しタバコには含まれない、シュークロースストリエステル、シュークロースジエステルおよびグルコースエステルを含んでいることが示された。

1pF11

cyclic AMP による *Micrasterias thomasiana* var. *notata* の接合子形成誘発の制御

今泉真知子　（滋賀医大・生物）

Micrasterias thomashiana var. *notata* の homothallic 株の接合子形成は、細胞を窒素源を除去した培地に移すことによって誘発される (Imaizumi et al., 1990)。藍藻の *Anabaena* を窒素源を除去した培地に移すと、細胞内 cyclic AMP (cAMP) 量が増加する事実が報告されていることから、我々は、*Micrasterias* の接合子形成の誘発に cAMP が reguratory な役割を果たす可能性があると考え、その可能性について検討を行なった。

窒素源を除去した培地に、exogenous cAMP (0.2-3 mM) を添加した場合、接合子形成は誘発されず、細胞増殖が著しく促進された。cyclic nucleotide phosphodiesterase の阻害剤である caffeine (0.05-1 mM) や theophilline (0.05-1 mM)、また、8-bromo cAMP (0.2-3 mM) を添加した場合にも同様な結果がみられた。2-3 mM dibutyryl cAMP の添加は、配偶子形成を直接に阻害することにより接合子の誘発を抑えたが、細胞増殖を促進する効果は示さなかった。10-25 μM forskolin の添加は、接合子の誘発を抑え、増殖を僅かに促進させた。我々は、さらに、窒素源を除去した培地に移された細胞の細胞内 cAMP 量を経時的に測定した。接種後、細胞内 cAMP 量は、一旦増加して、basal 量（窒素源を含む培地に移された細胞の細胞内 cAMP 量で、11.6 ± 3.6 pM/10^6 cells）の 3-4 倍に達したが、その後減少し、配偶子の対合時には、basal 量の 1/5 以下の値になった。これらの結果は、cAMP が、接合子形成の誘発を抑制するシグナルとして働くと同時に細胞を増殖させるシグナルとしても働く可能性を示唆している。

1pF12

出芽酵母1倍体細胞におけるPPF遺伝子産物の役割

頼藤徹也、大隅良典　(東大・教養・生物)

酵母*Saccharomyces cerevisiae*1倍体には性a、αがある。α細胞により分泌されるαファクターはa細胞に作用し接合に必要な一群の遺伝子発現を誘導する。その結果細胞周期の停止、プロジェクションと呼ばれる突起の形成が起こる。この突起形成には細胞周期の停止に比べ高濃度のαファクターの作用を必要とする。高濃度のαファクターの信号伝達および突起形成のメカニズムを明らかにするため突起形成不能株を単離し3つの遺伝子*PPF1,PPF2,PPF3*を見いだした。そしてこれらに変異の起こったa細胞の形態変化について前回報告した。

a細胞はαファクターに対して適応を起こし、出芽増殖を再び開始する。その開始に必要な時間はαファクターと結合したリセプター数に比例することが知られている。*ppf1, ppf2, ppf3*細胞は明らかにこの適応に要する時間が早まっていることが今回新たに見いだされ、*PPF1,PPF2,PPF3*のいずれかがこのαファクターのリセプターをコードする遺伝子(*STE2*)である可能性が示唆された。そのため*STE2*遺伝子をこれらの変異株に導入したが突起形成能は回復しなかった。このことから*PPF*遺伝子産物はリセプターの下流にその作用点を持ち、かつ突起形成に直切関与するのではなく信号伝達に関わっているものと予想される。また*ppf1,ppf2,ppf3*の変異の接合効率に与える影響についてa細胞、α細胞の両細胞について報告する。

1pF13

VIRAL H-*RAS* PROTEIN INHIBITS PLANT CELL DIFFERENTIATION

Kyu Chung HUR, Y.J. CHANG, H.S. KOH, J.S.LEE* and H. IMASEKI** Dept. Biol., Ewha Univ., *Dept. Mol. Biol., Seoul Natl. Univ., Seoul, Korea, **Res. Inst. Biochem. Regul. Nagoya Univ. Nagoya

Three *ras*-like proteins (Mr. 21, 23, and 27 kD) which have a specific GTP-binding property were detected in the membrane and cytosolic fractions of both monocot (*Zea mays*) and dicot (*Glycine max*). These proteins were released when membranes were treated with hydroxylamine. This result indicates that these proteins are fatty acylated to membrane lipids. The 27 kD component was purified from hypocotyl membranes of *Glycine max*. This highly purified protein showed both GTP-binding and GTPase activities.

In parallel to this experiment, to address a possible role of the *ras*-like proteins in plant, tobacco cells were transformed with the viral H-*ras* gene in both sense and antisense directions through the *Agrobacterium* system. Both sense and antisense transgenic cells proliferated to the same degree as callus in the auxin-medium. However, under the regenerating conditions, the viral H-*ras* expressing cells did not fully regenerate plants, whereas the antisense transformant cells regenerated normal plants.

1pF14

ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換過程におけるDNA鎖切断の動態－－アルカリ溶出法による解析－－

杉山宗隆、庄司雄一[1]、駒嶺穆　(東北大・理・生物、[1]東北電力・応技研)

ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素への分化転換過程においては、オーキシン及びサイトカイニンに依存した自発的な修復型DNA合成が見られる。これまでに核様体の沈降速度の解析を行い、このDNA合成に続いてDNA鎖切断の再結合が起きることを示唆する結果を得ている。今回、アルカリ溶出法により分化転換に伴うDNA一本鎖切断の動態について改めて検討したので、その結果を報告する。

DNAのアルカリ溶出による解析は以下のように行った。様々な条件下で培養した単離葉肉細胞からプロトプラストを調製し、これを孔径 2 μm のポリカーボネートフィルター上で穏やかに溶解して、タンパク質を分解・除去した後、0.035 mL/min の流速で pH 12.1 の水酸化テトラプロピルアンモニウム溶液を流下させた。一定時間毎に溶出液を集め、エタノール沈澱後、ジアミノ安息香酸を加え、蛍光強度を測定して溶出液中のDNAを定量し、DNAの溶出速度を求めた。この方法では、DNAの溶出速度が一本鎖DNA断片の大きさに依存することを利用して、一本鎖DNA切断の相対量を推定することができる。現在までに行った解析の結果はDNA鎖切断が培養過程で新たに生じることを示しており、DNA鎖切断を含めたDNA修復系全体の活動が高まることが分化転換に深く関わっていると思われる。

1pF15

ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換におけるポリADPリボース合成の解析

庄司雄一、杉山宗隆[1]、駒嶺　穆[1](東北電力・応技研、[1]東北大・理・生物)

NADを基質としてタンパク質にADPリボースを転移するポリADPリボシル化反応は核タンパク質の可逆的修飾の1つであり、DNA修復に関与すると言われている。ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素への分化転換においては、修復型DNA合成が存在すること、ポリADPリボース合成阻害剤が管状要素の形成を阻害することなどからDNA修復系が重要な役割を果すと考えられる。本研究では、これまでに調べられたポリADPリボース合成阻害剤に比べて特異性が高く、低濃度で有効な阻害剤フェナンスリジノン(PT)を用いてポリADPリボース合成と分化転換の関連について解析した。培養した細胞から核を単離してポリADPリボース合成活性を調べたところ、PTは管状要素の形成を抑える濃度で活性を阻害した。また、PT存在下で培養した細胞では、修復型DNA合成のレベルが著しく抑えられた。これらのことからDNA修復系が分化転換に関与することが示された。

単離核を用いて分化転換誘導条件下でのポリADPリボース合成活性を調べたところ、培養時間を経るにしたがって活性は著しく上昇した。これに比べて、オーキシンやサイトカイニンを含まない(分化転換が起こらない)対照培地で培養した場合には、活性は明らかに低かった。これらの結果から、ポリADPリボース合成と修復型DNA合成を含むDNA修復系のオーキシンとサイトカイニンによる活性化がヒャクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換に関与していることが推論された。

1pG01

新規・アレロパシー物質レピジモイド

長谷川宏司、角田英男、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・化学）

Molisch(1937) の定義によれば、植物から放出される化学物質が他の植物や微生物に相利・相害的に作用する場合、これをアレロパシーという。

クレス種子を他の植物の種子や幼植物と混植すると、クレスの相手の植物のシュートの成長が顕著に促進される。このアレロパシーはクレスの発芽種子から分泌される化学物質に起因する。このアレロパシーの原因物質（アレロパシー物質）を大量のクレス発芽種子の分泌液から種々の精製手段を経て、単一物質として単離することに成功した。種々のスペクトルデータからsodium 2-*O*-rhamnopyranosyl-4-deoxy-*threo*-hex-4-enopyranosiduronateと推定し、クレスの学名（*Lepidium sativum* L.）に因んでlepidimoide（レピジモイド）と命名した。レピジモイドはヒモゲイトウの下胚軸の成長を3 μM 以上で促進し GA_3 の 20-30倍もの高い活性を示した[1)]。この新規・アレロパシー物質レピジモイドの化学構造を確定するために、種々の合成モデルについて解析を行った。その結果、α-L-rhamnose と D-glucose を材料にして数段階の合成反応を経て得た合成品のスペクトルデータが、天然物のそれと完全に一致したことから上記のレピジモイドの化学構造の正しいことが判明した。

1) K.Hasegawa et al.:Plant Physiol. 100,1059-1061(1992).

1pG02

*Eurycles amboinensis*に含まれる新規植物生理活性物質

阿部知子、加藤登紀子[1]、菅原二三男、Made Sumatra[2]、吉田茂男（理研、[1]日本女子大、[2]BATAN）

インドネシアにおいて塊茎及び葉を沈痛剤等とし利用されている薬用植物の*Eurycles amboinensis*茎葉部メタノール抽出液をクレス発芽試験に供試したところ、非常に強い発芽阻害作用を示した。そこでこの抽出液中に含まれる発芽阻害物質の単離・同定及び生理作用の解明を行なった

メタノール抽出液をHPLC（カラム：Senshu Pak ODS-4251 SH、溶媒：４５％メタノール(2.0ml/min)、検出：紫外吸収(254nm）で分析したところ、５本のピーク（KG-I,II,III,IV,V）が観察された。次に各ピークについて分取し、それぞれの分画についてクレス発芽試験を行なったところ、KG-IV,Vの２分画に強い発芽阻害作用が認められた。ジベレリン（GA）はイネ科植物種子の糊粉層細胞においてα－アミラーゼの合成をde novoに誘導することが知られている。そこでハダカムギ無胚種子をGAを含むKG-IV及びKG-V溶液に処理しα－アミラーゼ活性を測定したところ、GAによるα－アミラーゼ活性誘導を阻害することが明らかになった。この阻害濃度はアブシジン酸とほぼ同じレベルであった。

1pG03

バレイショ葉および塊茎の傷害によるジャスモン酸の生成

幸田泰則、喜久田嘉郎（北大・農・植物）

ジャスモン酸（ＪＡ）はバレイショ塊茎形成物質であるチュベロン酸と類似した化学構造を持ち、強いバレイショ塊茎形成活性を持つ。バレイショ葉のＪＡ含量はわずかであるが、傷害を与えると３０分後から急増し、４時間後に最大となりその後減少を示した。ＪＡの前駆体である 12-oxo-PDA はほとんど増加しなかった。これは 12-oxo-PDA reductase はＪＡ生成の律速因子ではないことを示している。老化の影響を軽減するためにＢＡを添加したところ、ＪＡの生成量は更に増加した。バレイショ植物体の葉に連続して傷害を与え続けた場合、草丈は減少したが葉中のＪＡ含量の増加や、塊茎形成の促進は見られなかった。したがって傷害によるＪＡ生成は一時的なものであり、塊茎形成とは無関係であると思われた。

塊茎髄部組織を切り出してインキュベートした場合も、葉と同様に４時間後に最大となるＪＡの生成が見られた。このＪＡ生成は塊茎の齢、温度、ｐＨ等により大きく影響された。またactinomycin D はこのＪＡ生成を全く阻害しなかったが、cycloheximide は完全に阻害した。傷害により放出されたリノレン酸からこのＪＡが生成したと考えられるが、形質膜の燐脂質からリノレン酸を切り出す phospholipase A_2の阻害剤はＪＡ生成を阻害しなかった。この結果はリノレン酸はプラスチドの糖脂質に由来する可能性を示している。

1pG04

ジャスモン酸によるバレイショ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）

バレイショの塊茎形成は、ストロン次頂部の髄部細胞が放射方向へ肥大することにより開始される。我々は先に、強いバレイショ塊茎形成活性を示すジャスモン酸（ＪＡ）が、バレイショ塊茎組織細胞を顕著に肥大させることを見い出した（1992年度年会にて発表）。植物細胞の肥大は、浸透圧の増加と細胞壁伸展性の増大により引き起こされると考えられる。そこでまず、ＪＡが細胞内の可溶性糖類（Glc,Fru,sucrose）の含量に及ぼす影響を調べた。

GlcとFru含量はＪＡにより大きな変動を受けなかったが、sucroseは10^{-6}M以上のＪＡ処理区において顕著な増加を示した。しかし、actinomycin D 及びcycloheximide はＪＡによる細胞肥大を阻害したが、sucrose の増加は抑えなかった。

一方、各種細胞壁合成阻害剤はＪＡによる細胞肥大を阻害したことから、何らかの細胞壁の変化が肥大の要因であると考えられた。そこで、ＪＡ処理による細胞壁構成成分の変化を調べたところ、セルロース及びペクチン画分の量はＪＡ処理によりわずかに増加したが、ヘミセルロース画分の量は対照区を下回った。

以上の結果より、ＪＡは sucroseの増加による浸透圧の増加を引き起こすとともに、細胞壁合成系に影響を及ぼし、細胞壁の伸展性を変化させ、バレイショ塊茎細胞の肥大を誘起することが示唆された。

1pG05

サイトカイニンにより抑制される遺伝子 CR9 と CR20 の発現に関する解析

寺本陽彦、桃谷英樹[1]、竹葉剛[2]、辻英夫（京都大・理・植物、[1]基生研・発生生物、[2]京都府大・生活科学・応用生物）

切り取ったキュウリ子葉はサイトカイニン処理により肥大する。この系において、ベンジルアデニン（BA）により発現が抑制される遺伝子のクローンとして単離されたCR (cytokinin-repressed) 9に対応するmRNAについてノザンブロットによる解析を行うとともに（日本植物学会第57回大会、1992)、cDNAの塩基配列を決定し、そこから推定されるアミノ酸配列の一次構造上の特徴を検討した（第15回日本分子生物学会年会、1992)。今回は、別のクローンであるCR20について報告する。ノザンブロットにおいてはCR9同様、以下の性質を示した。i) BA処理後4時間以内に大きく減少する。ii) BA 10^{-8}～10^{-5}Mの範囲において、処理濃度が大きいほどより大きく減少する。iii) 抑制効果には、高いサイトカイニン（BA、イソペンテニルアデニン、トランスゼアチン）特異性が認められ、アデニンや2,4-D処理（オーキシン）では変化はみられなかった。CR20とCR9とは大きさが異なるほか、クロスハイブリダイズせず、また、塩基配列上の類似性も小さかった。

1pG06

傷害カボチャ果実中果皮組織におけるエチレン生成酵素（ＥＦＥ）の誘導及びその性質

兵藤　宏、橋本智世、両角進吾、胡文忠[1]、田中邦明（静岡大・農・生物生産、[1]吉林農大・食品科学）

カボチャ果実の中果皮（果肉）組織は傷害により著しくエチレンが生成される。それは傷害によりＡＣＣ合成酵素及びエチレン生成酵素の活性が顕著に増大することに依存することを私達は既に報告してきた。今回はカボチャ（*Cucurbita maxima* Duch.cvs.Ebisu,Miyako）果実の中果皮組織から*in vitro*にエチレン生成酵素（Ethylene-forming enzyme,ＥＦＥ）を抽出し、酵素の性質を調べ、一方傷害による酵素の誘導様式を調べた。ＥＦＥの抽出は主としてVerveridis と Johnの方法に従った。粗酵素を Sephadex G-25のゲル濾過により得られた酵素液を用いて性質を調べた。ＥＦＥの最適ｐＨは 7.2で、反応は基質であるＡＣＣ、酸素の他にアスコルビン酸と鉄イオン（Fe^{2+}）を補酵素として要求した。ＡＣＣに対するKm値は0.168mMであった。酵素はｏ-フェナントロリン、ＰＣＭＢ，ＰＣＭＰＳにより強く活性が阻害された。傷害によりＥＦＥの活性は顕著に増加した。ＥＦＥの活性誘導には内生エチレンが促進的に作用していることがエチレンの作用の阻害剤であるＮＢＤを用いることにより明らかになった。これは内生エチレンがＡＣＣ合成酵素の誘導を抑制していることと対比して興味のある事実と考えられる。

1pG07

メロン果実のACCオキシダーゼcDNAのクローニング

山本光章、藤波宏治、柳沢裕子、小倉長雄、中川弘毅、佐藤隆英（千葉大・園芸）

高等植物においてエチレンは メチオニンを前駆体としてS-アデノシルメチオニン（SAM）、1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸（ACC）を経て生合成される。この経路では、SAMからACCへの変換を触媒するACC合成酵素が律速酵素であるとされているが、ACCからエチレンを合成するACCオキシダーゼも果実の追熟においてその量が増加する。本研究ではエチレン生合成系の調節機構を解明するため、ACCオキシダーゼのcDNAのクローニングを試みた。成熟したメロン果実のcDNAライブラリーを作成し、成熟前、成熟期の両果実から調製したpoly(A)$^+$RNAをプローブとしてディファレンシャルスクリーニングを行ったところ、トマト果実のACCオキシダーゼのcDNA・pTOM13に対しホモロジーの高いcDNA（MURs1-20）が得られた。しかしこのクローンは43アミノ酸に相当する5′側の塩基配列を欠いていた。

成熟アンデスメロン果実のcDNAライブラリーをpMURs1-20をプローブとしてスクリーニングし、318アミノ酸に相当するコーディング領域を持つ1282bpのcDNAを得た。これによりメロン果実のACCオキシダーゼは、分子量約36000で、構成するアミノ酸の配列は他のACCオキシダーゼと大変類似しており、特にトマト果実のそれとは79.6%のホモロジーを示した。ノーザンハイブリダイゼーションを行ったところ、エチレンの生成量の増加に伴ってmRNA量も増加し、ピーク後も減少があまり見られなかった。

1pG08

カボチャにおけるＡＣＣ合成酵素の発現に及ぼす植物ホルモンの影響

山岸なおみ、山崎健一、今関英雅（名古屋大・農・生化学制御）

植物ホルモンであるエチレンの生合成はその前駆体である1-aminocyclopropanecarboxylate の合成酵素（ＡＣＣ合成酵素）によって律速されている。カボチャには少なくとも２種類の酵素型（傷害誘導型；Ｗ、オーキシン誘導型；Ａ）が存在し、それぞれの遺伝子発現は刺激特異的である。

本研究では、植物ホルモンによるエチレン生合成の制御を調べるためにＷ型とＡ型のｃＤＮＡをプローブとし、植物ホルモン処理によるｍＲＮＡの蓄積量の変動を調べた。

Ｗ型の遺伝子発現はオーキシン処理やアブシジン酸処理で促進されるが、サイトカイニン処理では変化はなかった。またエチレンによって可逆的に抑制された。

一方、胚軸切片におけるＡ型ｍＲＮＡの蓄積は、アブシジン酸やエチレンの共存で減少し、サイトカイニンによってはわずかに増加した。また胚軸切片のオーキシン処理の際には同時にＷ型もわずかに発現してくるが、無傷の芽生えにオーキシンをスプレーするとＡ型のみが発現し、Ｗ型は発現しなかった。現在、傷害応答に影響を及ぼすと考えられているメチルジャスモン酸、サリチル酸等についても調べている。

1pG09

無菌的に培養したカボチャのインドールアセトアミド、インドールアセトニトリルの存在とアミドヒドロラーゼ活性

鶴崎健一、Ranganatha Rajagopal[1]、高橋真澄、桜井直樹、倉石晉　（広島大・総科・自然環境、[1]Inst. Plant Biol., Royal Vet. & Agri. Univ.）

高等植物でのインドール酢酸（IAA）生合成経路を検討するために、無菌的に生育させた黄化カボチャ（*Cucurbita maxima* Duch.）から、インドールアセトアミド（IAM）とインドールアセトニトリル（IAN）の2種類のインドール化合物の存在とIAAの植物体中での分布を調べた。IAMは主に微生物のIAAの前駆体といわれている。播種後1週間のカボチャを、子葉、下胚軸、根の3つの部分に分けて分析した。IAA量は、^{13}C-IAAを内部標準としてGC-SIMで定量し、IAM、IANはGC-MSで定性した。IAA量は根で最も多かった（根 92 pmole/g.f.w.、下胚軸 52 pmole/g.f.w.、子葉 23 pmole/g.f.w.）。IAMとIANはすべての組織から見いだされた。さらに、カボチャの根からIAMをIAAに変換するアミドヒドロラーゼの活性も検出した。この酵素は微生物で報告されているアミドヒドロラーゼと最適pH、最適温度、K_m値、安定性などで異なった性質を持っていた。したがって、カボチャ植物体中にIAMが存在し、根にアミドヒドロラーゼの活性もあることから、IAM→IAAというIAA生合成経路がカボチャの根に存在する可能性が示された。

1pG10

クリカボチャ未熟種子からのカウレン合成酵素の精製

斎藤臣雄[2]、神谷勇治[1]、山根久和[2]、室伏　旭[2]、桜井　成[3]、高橋信孝[3]　（[1]理研フロンティア、[2]東大・農化、[3]理研）

カウレン合成酵素は、ゲラニルゲラニルピロリン酸からコパリルピロリン酸を生成するA酵素と、コパリルピロリン酸からカウレンを生成するB酵素とから構成されている。本研究では、直接カウレンを生成するB酵素の精製を試みた。

クリカボチャ（Cucurbita maxima L.）未熟種子の胚乳から可溶性酵素を調製し、各種カラムを用いて精製を行った。

Butyl-Toyopearlカラムにより、目的のB酵素とA酵素を分離することができた。得られたB酵素フラクションを、DEAE-8HRカラム、Phenyl-5PWカラム、再度DEAE-8HR カラム、ヒドロキシアパタイトカラムを用いて精製した。最終精製酵素分画のSDS-PAGEにおいて、分子量86kD付近に主要なバンドが認められた。TSK G3000SWxlカラムを用いた高速ゲル濾過クロマトグラフィーにおいて、酵素活性は標準タンパク質に比べて広い範囲に認められたため、分子量は推定できなかった。Butyl-クロマトグラフィーでの活性の回収は低かったが、その後の4ステップの活性回収率は5.2%で、比活性は145.9倍にまで精製された

Phenyl-精製酵素分画において、至適pHは7.0前後であった。2価の金属イオンのうちMg^{++}, Mn^{++}, Co^{++}は、補酵素として酵素反応を顕著に促進したが、Cu^{++}, Ca^{++}, Ba^{++}は阻害的に作用した。また、酵素安定化のため用いられる牛血清アルブミンは、0.2 mg/mlで酵素反応を阻害した。現在、SDS-PAGE で分離した該当タンパク質のシークエンス解析を行っている。

1pG11

ヤエベニシダレの枝の屈曲に及ぼすジベレリンの作用

中村輝子、早乙女真紀、石黒友紀子、伊藤玲子、日暮祥子、細野真由美、石井幸夫[1]　（日本女子大・理、[1]森林総研・多摩）

エドヒガン系のヤエベニシダレの2年生接木を用いて、枝の伸長と木化に関すると考えられる物質の影響を調べた。GA_3、AMO1618、IAA、フェルラ酸及びナフトキノンの0.1 ～100μg/plant を90%エタノール溶液として5μlずつ、当年枝の頂芽に約一週間間隔で4回与えて成長を調べた。GA_3 処理の枝においては伸長が促進され、枝垂れ現象は認められなかった。他の物質の処理においてはGA_3 処理のような効果は認められなかった。枝の成長において、ジベレリンには、伸長部位における伸長促進効果と、屈曲部位における屈曲阻害効果があることが明らかとなった。ヤマザクラの幼植物を用いた予備実験により、ジベレリン処理のリグニン含量に及ぼす効果を調べたところ、伸長部位では減少し、伸長停止部位では増加した。これにより、ヤエベニシダレの屈曲部位において、ジベレリンがリグニン含量を増加させることにより枝の固さを増加させ、枝垂れ現象を阻害している可能性が考えられる。

1pG12

シロイヌナズナ種子の発芽におけるジベレリンと光の関係

趙毓橘、姜鳳中、神谷勇治　（理研フロンティア）

目的: シロイヌナズナは赤色光照射およびジベレリン(GA)処理によって発芽が促進される事が知られてるが、赤色光照射効果とGA投与効果との関係については不明な点が残されている。本研究はシロイヌナズナの種子を用いて発芽に必要なジベレリンの構造と光の関係を明らかにすることを目的とする。

方法:シロイヌナズナの種子を常法に従って0.8%寒天培地に播き、暗条件下で22℃に5日間培養した後、発芽率を調べた。各種GAおよび GA生合成阻害剤を0.8%寒天培地に含ませて種子を処理した。播種後24時間暗所においたものに赤色光と近赤外光を各10分間照射し、その後4日間暗所で培養した。

結果: 1日間吸水させたシロイヌナズナの種子に赤色光を照射すると100%近く発芽したが赤色光照射の後にすぐ近赤外光を10分間照射すると赤色光の発芽促進効果は打ち消された。赤色光の代わりに10^{-5}MのGA$_3$を与えると、暗黒中でも発芽が促進された。GA生合成阻害剤のウニコナゾール（GA生合成の早い段階、カウレンの酸化を阻害）とプロヘキサジオン（GA生合成の後期、2－オキソグルタル酸要求型酸素添加酵素を阻害）を与えると何れの場合も発芽が抑制されたが、GA$_3$を与えると発芽が回復した。これらの阻害剤に対してGA$_3$の回復効果は 光条件によって異なることが示された。吸水時にウニコナゾール処理をすると光条件下でも発芽を完全に抑制したが、24時間種子を吸水させた後にウニコナゾールを処理した場合は発芽を抑制しなかった。(E. Nambara et al. 1991) これに反しプロヘキサジオンで処理した場合は48時間吸水後でも発芽を抑制した。光とGAの構造の関係を明らかにするため、GA生合成阻害剤とGA$_1$, GA$_4$, GA$_9$, GA$_{20}$を用い発芽促進効果を測定している。

1pG13

ジベレリンの茎の伸長促進作用における転写の関与

金田剛史、柿本辰男、柴岡弘郎　（大阪大・理・生物）

アズキ上胚軸切片のオーキシン（IAA）による軸方向への伸長はジベレリン（GA）によって促進される。この現象には細胞数の増加は含まれていない。また、IAA+GA処理による細胞伸長時に表皮細胞の細胞質表層微小管が長軸と垂直方向に配向することが知られており、GAによる伸長促進と深い関係があると考えられている。本研究では、このようなGAによる伸長生長の促進や微小管の配向変化の過程におけるGAによる遺伝子発現の必要性について調べた。

IAA+GA処理中に転写の阻害剤であるアクチノマイシンDを処理すると伸長生長が阻害されるが、アクチノマイシンDはIAA単独処理時の伸長作用にも阻害的な効果を示すので、このような方法ではアクチノマイシンDがGAの作用を阻害しているのか否かを判定するのは困難である。GAの伸長促進効果はGAをIAA処理の前に与えても見られることが知られている。そこで、GA処理中（1時間）にアクチノマイシンD処理をし、その後に洗ってIAA処理（14時間）をしたものについてその伸長と微小管の配向を調べた。その結果、アクチノマイシンDはGAによる伸長作用および微小管の配向の変化を阻害することが判明した。このことから、GAは転写を介して細胞質表層微小管を長軸と垂直方向に配向させ、伸長促進を起こすことが示唆された。

1pG14

SITE OF ACTION OF THE *Ls* GENE

Stephen Swain[1,2], Tamio SAITO[1], Jim B. REID[2] and Yuji KAMIYA[1], [1]Frontier Research Program, RIKEN, Wako, Saitama 351-01, Japan, [2]Univ. of Tasmania, Hobart, Australia

Analysis of endogenous gibberellin (GA) levels revealed that pea plants homozygous for the *ls* mutation have reduced GA levels in shoots and seeds compared with wildtype (*Ls*) plants. Cell-free enzyme preparations from developing seeds were used to demonstrate that the *ls* mutation acts early in the GA biosynthesis pathway and results in reduced conversion of geranyl-geranyl pyrophosphate to copalyl pyrophosphate. A range of GA-synthesis mutations, including *ls*, have been used to demonstrate a log-linear relationship between endogenous GA_1 levels and internode length. The lh^i mutation also reduces GA levels in developing seeds causing increased seed abortion compared with wildtype (*Lh*) plants. Results obtained from the lh^i and *ls* mutations suggest that GAs are required for normal seed development in the first few days after fertilization.

一般講演

第２日　３月３０日（火）

一般講演

第２日　３月３０日（火）　午前の部

B 会場　　分子生物学（４）
C 会場　　ストレス（３）
D 会場　　光合成（３）
E 会場　　光生物学（１）
F 会場　　形態形成
G 会場　　細胞壁（１）

2aB01

光合成細菌*Rhodobacter capsulatus fdxN*上流のNifA結合部位は逆方向への転写を司る複数の*nif*-プロモーターに共有されている

佐伯和彦、藤原武志、松原　央（阪大・理・生物）

非共生型窒素固定細菌のニトロゲナーゼ系遺伝子群(*nif*)の発現は、アンモニアなどの固定化窒素によって調節される。固定化窒素の欠乏は、窒素同化に共通の制御因子NtrCによる*nifA*の発現を誘導し、NifAは他の*nif*遺伝子のプロモーター上流のTGT-N10-ACA配列に結合して発現を正に制御することが知られている。私達は、*R.capsulatus*の８鉄フェレドキシンＩ遺伝子(*fdxN*)をクローニングし、その破壊が窒素固定活能の著しい減少をきたすことを明らかにしてきた。周辺領域の塩基配列決定は、*fdxN*の上流には２鉄フェレドキシン(10kDa)及びフラボドキシン様ドメインを持つ蛋白質(48kDa)をコードする*fdxC*とORFU1、さらに上流の相補鎖には窒素固定に必須な疎水的蛋白質(19kDa)及び８鉄フェレドキシン様ドメインを持つ蛋白質(20kDa)をコードするORFU2とORFU3、の存在を示した。単一の転写単位と考えられるORFU1-*fdxC*-*fdxN*及び逆向きのORFU2-ORFU3それぞれの5'上流には、既知の*nif*-プロモーターと相同な配列が認められ、これらに挟まれてNifA結合配列が１箇所認められた。*fdxC*中にも*nif*-プロモーター様配列が存在していた。これらの間の制御関係を調べるために、*fdxN*あるいはORFU3と大腸菌の*lacZ*との融合遺伝子を作製し上流域を部分的に欠失させて、*R.capsulatus*内での発現を解析した結果、逆方向の二つのオペロンが単一のNifA結合部位を共有していることが明らかとなった。ORFU1ならびにORFU2との融合遺伝子を用いた解析についても報告する。

2aB02

好熱性シネココッカスのアロフィコシアニンに関する研究（1）
フィコビリゾームの構成とアロフィコシアニン遺伝子の解析

曽我麻美子、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）

フィコビリゾーム（ＰＢＳ）はラン色細菌と紅藻にのみ存在する複雑な集光性色素蛋白質集合体であり、そこで収集された光エネルギーは光化学系Ⅱ反応中心に伝達される。我々は、好熱性ラン色細菌 *Synechococcus elongatus*のＰＢＳの全構造の解明を進めているが、これまでにロッド部分を構成するフィコシアニン（ＰＣ）とリンカー蛋白質について検討を行ってきた[1]。今回、コア部を構成するアロフィコシアニン（ＡＰＣ）とリンカー蛋白質に関して解析を行ったので報告する。

本ラン色細菌のフィコビリゾームを調製し電気泳動的に組成を調べると、１３種のサブユニットが分離された。それぞれのＮ末端配列解析の結果から、７種がＰＣのロッド部を残りの６種がＡＰＣのコア部を構成することが推定された。そこでＡＰＣ－αとβのＮ末端アミノ酸配列を参考にして、ＰＣＲプローブを作成しＤＮＡライブラリーからＡＰＣ遺伝子のクローニングを行った。その結果、ＡＰＣ－α，βおよびリンカー蛋白質Ｌｃ[10]の遺伝子（*apcA, apcB, apcC*）はＡＰＣオペロンを形成することがわかり、その全塩基配列を決定した。一方、ＡＰＣ蛋白質を精製しその熱安定性を調べると、常温性ＡＰＣに比べて２０℃程度安定であった。遺伝子から推定される一次構造について、常温性ＡＰＣと比較しその特徴について議論する。

なお本研究は通産省次世代研究制度の一環として新エネルギー・産業技術総合開発機構の委託を受けて実施したものである。

1) Hirano, M. *et.al.*, 9th Int. Cong. Photosynth. (1992)

2aB03

Synechococcus PCC 7942フィコシアニン遺伝子族の光と窒素栄養の環境適応時における発現様式

澤木弘道、小俣達男、杉山達夫（名古屋大・農・農化）

ラン藻*Synechococcus* PCC 7942 では、アンテナ色素であるフィコシアニンをコードする*cpcBA*遺伝子が、ゲノム上に２セット存在する(*cpcB1A1*、*cpcB2A2*)。これらの遺伝子は、それぞれ独立したプロモーターから発現する多重遺伝子族であることが知られている。多重遺伝子族では、環境の変化に適応する過程において、それぞれの遺伝子間に発現調節の違いのある例が報告されている。そこで、*cpcB1A1*と*cpcB2A2*のそれぞれの遺伝子に対して特異プローブを調製し、培養条件を変えたときのmRNA蓄積量の変化を測定した。環境因子として照射光強度と窒素栄養状態を選んだ。照射光強度の実験では、弱光(2500*lx*)から強光(16000*lx*)に移したときの変化をみた。このとき、２種類の*cpcBA* mRNAの量はともに、強光照射４０分後には、1/100以下に減少した。また、窒素栄養状態の実験では、４時間の無窒素栄養処理後に窒素源を再添加した。窒素源の再添加後、２種類の*cpcBA* mRNAの量は増加し、２時間後までに一定のレベルに達した。いずれの実験条件においても、環境の変化による*cpcBA* mRNAの量の変化は観察されたが、２種類の*cpcBA* mRNAの分子種の量を比較すると、常に*cpcB1A1*が多く発現しており、その量比が逆転するなどの大きな変化は認められなかった。

2aB04

ワラビrbcL遺伝子の下流域の構造

江尻成美、増田恭次郎、菅井道三、島田浩章[1]、山田恭司
（富山大学・理・生物、[1]三井植物バイオ研）

我々は、下等な維管束植物であるワラビ(Pteridium aqilinum)の葉緑体ＤＮＡのうち、rbcL遺伝子とその下流の領域の構造解析を行なった。その結果、ゼニゴケORF316(zfpA)に相同な配列およびアルギニンtRNA-CCG遺伝子についての知見が得られたので報告する。

(1)zfpAは、当初ゼニゴケ葉緑体ＤＮＡにおいて、ジンクフィンガー構造をもつタンパク質をコードしうるORFとして見出され、後に、その発現がエンドウにおいて確認された遺伝子である(佐々木ら 1989)。我々は、ワラビ葉緑体ＤＮＡにzfpAと相同性の高いリーディングフレーム(塩基配列で57.4%、アミノ酸配列で73.6%)をrbcLの0.5kb下流に見出した。このzfpA相同配列は、258a.a.をコードしうるが、開始コドンであるべき位置はATGではなくACGであった。また、ジンクフィンガーを有するタンパク質に保存されている配列($CX_2CX_{15}CX_2C$)についても2番目のCysがArg(CGT)に変化していた。現在この相同配列の発現について調査中である。

(2)アルギニンtRNA遺伝子(trnR-CCG)は、ゼニゴケ葉緑体ゲノムではrbcLの直下に位置しているのに対して、タバコ・イネでは葉緑体ゲノムそのものから欠失している。本研究により、ワラビの場合、この遺伝子は少なくともrbcLの下流には存在しないことが明らかになった。この結果は別のシダであるリュウビンタイで得られている結果(吉永ら 1992)とは対照的なものである。

2aB05

シダ植物におけるchlL遺伝子の構造と発現

松田　学、増田恭次郎、菅井道三、山本直樹[1]、山田恭司
（富山大・理・生物、[1]農水省・森林総研）

chlLは、ゼニゴケ葉緑体ＤＮＡ上で機能未知のタンパク質をコードする遺伝子として発見された。我々はすでにchlLに相同な配列がシダ類および裸子植物の葉緑体ＤＮＡ上に存在することを見出している(Yamada et al.1992)。chlLの機能については欠失変異体を用いた研究によりchlL遺伝子産物が暗所におけるクロロフィル合成に必要であることがわかってきた。(Fujita et al.1992 J.Y.Suzuki & C.E.Bauer 1992)

まず、ホウライシダの葉緑体ＤＮＡのクローンライブラリーよりゼニゴケchlL相同配列を含む断片をサブクローニングし、ホウライシダchlLの塩基配列を決定した。ホウライシダchlLがコードするアミノ酸配列には、ChlLタンパクに保存されている４個のシステインのうち３個と、ATP結合サイトと考えられている配列(GX$_4$GKS)が保存されていた。しかし、開始コドンの位置はACGが占めていた。以上の特徴は、他のシダであるワラビからクローニングしたchlLの場合でも、全く同様であった。

ワラビは暗中で発芽し、グリーニングできるので、次に、発芽直後のワラビ原糸体より全ＲＮＡを抽出し、ワラビchlLクローンをプローブとしてノーザンハイブリダイゼーションを行なった。この結果、ワラビにおいてchlLが少なくとも転写レベルにおいて発現していることが確認された。

2aB06

トウモロコシPEPC遺伝子結合タンパク質の単離と構造解析

嘉納ゆり子、松岡信[1]
（農水省果樹試、[1]農水省生物研）

我々は、すでに、トウモロコシcDNAライブラリーからPEPC遺伝子5´上流域に結合するタンパク質因子のクローンを複数単離している。これらのクローンは相互のハイブリダイゼーションにより、５つのグループに分けられる事が明らかになった。またこれらのクローンについてRNAブロットハイブリダイゼーションを行った結果、緑葉、苞葉、枝梗、茎等、PEPC遺伝子を発現している組織には強く発現し、根、穀粒、絹糸等PEPC遺伝子を発現していない組織ではほとんど発現がみられない事が明かとなった。

2aB07

C$_4$光合成遺伝子の転写はC$_4$植物に固有な遺伝子発現系により制御されているか。

松岡　信、経塚淳子[1]、島本　功[1]、村上（嘉納）ゆり子[2]、
（生物研、植工研[1]、果樹試[2]）

C$_4$植物の光合成遺伝子はC$_3$植物にはみられない細胞特異的な発現を示すことから、C$_4$植物にはC$_3$植物に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。しかし、我々のこれまでの実験によりC$_4$植物のPPDK遺伝子についてはC$_3$植物中でも発現し、しかも光による制御を受けることが解って来た。そこで今回はC$_4$植物から単離したPEPC遺伝子（C$_4$葉肉細胞で強く発現、C$_3$ではほとんど発現しない）とrbcS遺伝子（C$_4$では維管束鞘細胞、C$_3$では葉肉細胞で発現）のプロモーターをGUSと結合し、イネに導入してその活性発現の特異性を見た。その結果、これらのC$_4$プロモーターはC$_3$植物であるイネの中で葉肉細胞特異的に発現した。さらにこの発現は光により制御され黄花葉ではGUS活性は全く観察されなかった。これらの結果はC$_4$植物におけるC$_4$光合成遺伝子の転写を制御している制御系と類似な物がC$_3$植物にも存在することを示している。そこでこの可能性を調べるために、既に同定したPEPC遺伝子のcis配列とイネ核タンパク質結合性を検討した所、たしかにイネ核中にはcis因子と結合するトウモロコシと類似したタンパク質が存在することが解った。

2aB08

Arabidopsis における光合成遺伝子の組織特異的発現制御の分子機構

丹羽康夫、磯野協一、関原明[1]、森川弘道[1]、小林裕和
（静岡県大・食品栄養科学、[1]広島大・理）

モデル植物 *Arabidopsis thaliana*（シロイヌナズナ）を用い、光合成遺伝子の組織特異的発現制御について検討した。代表的な光合成遺伝子として葉緑体ゲノムにコードされている、リブロース 1,5 - 二リン酸カルボキシラーゼ／オキシゲナーゼ (RuBisCO) の Ｌサブユニット遺伝子 (*rbcL*)、および核ゲノムにコードされている RuBisCO Ｓ サブユニット遺伝子 (*rbcS*) 群、クロロフィル *a/b* 結合タンパク質遺伝子 (*cab*) 群に注目した。*rbcL*、*rbcS*、*cab* 各々のプロモーターを含む領域をクローニングし、各遺伝子について転写量および転写活性を、緑葉および非光合成組織としての根とカルスについて検討した。*rbcS*、*cab* 両遺伝子群および *rbcL* に関して、転写段階でその発現が制御されていた。*rbcS* および *cab* について、プロモーター領域をレポーター遺伝子のβ - グルクロニダーゼ (GUS) と結合し、パーティクルガン法により *A.thaliana* 葉および根に導入した。その結果、葉および、発現量は低いながら根においても、両キメラ遺伝子の一過性発現を検出した。この結果から、*rbcS*、*cab* 両遺伝子の器官特異的発現制御に、転写装置および DNA の構造の違いが関与している可能性が示唆された。

2aB09

自殺遺伝子*adh*形質転換*Arabidopsis*を用いた光合成突然変異体選抜系の樹立

小林京子，丹羽康夫，勝村孝子，小林裕和
(静岡県大・食品栄養科学)

植物光合成遺伝子発現制御シグナル伝達機構を解明するために，モデル植物 *Arabidopsis thaliana*（シロイヌナズナ）を用いた分子遺伝学的解析が有効であると考える．アルコール脱水素酵素（ADH）は，allyl alcoholを毒性アルデヒドacroleinに変換するため，ADH遺伝子（*adh*）は遺伝子発現低下突然変異体の選抜に利用できると考える．*adh*のコード領域および転写ターミネーターを含む約2.2 キロ塩基対（kbp）のDNA断片を*A. thaliana*（Columbia）よりクローニングした．一方，代表的な光合成遺伝子であるリブロース 1,5-二リン酸カルボキシラーゼ／オキシゲナーゼ（RuBisCO）Sサブユニット遺伝子*rbcS*の発現に着目し，別途クローニングした*rbcS-3B*プロモーターおよびその上流を含む約1.5 kbpのDNA領域の下流に*adh* DNA断片をつなぎ，バイナリーベクターpGA28（pGA469より作製）に導入し，プラスミドpGA-rbcS-adhを作製した．*Agrobacterium tumefaciens* GV3101を用い*A. thaliana*（Bensheim, *adh*⁻）を胚軸より形質転換した．*A. thaliana*（Bensheim, *adh*⁻）は，allyl alcoholに非感受性であったが，形質転換体は葉組織において*adh*を発現し，allyl alcohol処理により24時間以内に枯死した．形質転換体種子を突然変異原ethyl-methanesulfonate（EMS）処理し，*rbcS-3B*の発現が低下してallyl alcohol耐性になった突然変異体を選抜している．

2aB10

マツcab遺伝子の光非依存的、葉器官特異的発現の制御領域のGUS遺伝子による解析

山本直樹（森林総研）

マツの cab遺伝子は光に依存することなく暗所でも明所でも発現する（光非依存的発現）という点では、光による誘導のみられる被子植物の cab遺伝子とは大きく性格を異にしている。しかし、組織特異的な発現を示す点においては、被子植物、裸子植物（マツ）にかかわらず共通している。このマツcab遺伝子に特異的な発現様式は、そのプロモーターの特性として説明することができる。

マツcab6プロモーター上の光非依存的、組織特異的な発現制御領域を同定するために、さまざまな長さの欠失プロモーターを作製、GUS遺伝子と融合後、タバコに導入し、解析を行った。形質転換体当代の展開葉で調べると、転写開始点の上流-474まで削り込んでもGUS活性に著しい減少はみられなかった。更に
-349,-217 bpと削り込むに従ってGUS活性は減少し、-143 bpまで削り込むとついにGUS活性は認められなくなった。また、F1種子の芽生えを用いた実験では、-143を除く全ての欠失プロモーターでGUS活性は子葉に限られ、胚軸や幼根には認められなかった。以上より、マツcab6遺伝子の上流 -217～-147 bpの領域に葉器官特異的な発現を制御する因子があるものと推測した。

2aB11

葉緑体psbD/C遺伝子クラスターからの光応答転写制御に関わる因子の部分精製

角山雄一、和田拓治、椎名隆、豊島喜則（京大大学院、人間・環境学）

コムギの葉緑体psbD/C遺伝子クラスターには４ヶ所の転写開始点が同定されている（D/C-1～ -4）。その内３ヶ所は、光照射によって変化せず構成的に発現しているのに対して、psbD遺伝子の610 bp上流に位置するD/C-3 部位からの転写は光によって顕著に促進される。我々は光照射前後のプラスチドからの抽出物を利用して、D/C-3 部位からの光応答転写をin vitroで再現することに既に成功している。また、このinvitro 転写系を用いて5'欠失プロモーターの転写活性を測定し、光応答を行うD/C-3 のプロモーターは、通常の原核生物タイプのプロモーターを持ち構成的に発現しているD/C-4 プロモーターとは異なっていることを示した。従って光応答D/C-3 部位からの転写にはこのプロモーター特異的な転写装置または制御因子が必要であり、それは光照射後のプラスチドの抽出物に存在すると考えられる。そこで４時間光照射を行ったプラスチドから1% TritonX-100存在下で抽出した成分についてヘパリンーセファロースCL-6B クロマトグラフィーを行ったところ、構成的に起るD/C-2 部位からの転写に必要な成分と光応答プロモーターのD/C-3 部位からの転写に必要な成分では、カラムに対する吸着性が異なっていた。これは、両プロモーターの転写装置（制御因子）が異なっていることを示しており、現在それぞれの因子の精製を進めている。

2aB12

全寄生植物ネナシカズラ属に存在する色素体ゲノムの遺伝子構成

山田恭司、永井俊幸、増田恭次郎、菅井道三、古橋勝久[1]
（富山大・理・生物、[1]新潟大・理・生物）

光合成を全く行わない全寄生植物にも色素体ゲノムは存在している。そのゲノムの遺伝子構成や機能はどうなっているのだろうか。すでにわれわれはサザン分析により、ネナシカズラ（Cuscuta japonica）の色素体ゲノム上には少なくとも20種のタバコ葉緑体遺伝子に対する相同配列が存在することを見いだしている(昨年度植物学会)。本研究では新たにアメリカネナシカズラ（C. pentagona）についてサザン分析を行い、C. japonicaの場合と比較した。またすでに確立されているin vitro培養系(古橋, 1991)においても調べ、自生の場合と比較した。

C. pentagonaの組織から全ＤＮＡを抽出し、タバコ葉緑体ＤＮＡクローンから調製した６種の光合成系遺伝子（psaA, psaB, psbB, psbC, atpA, atpB）をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行った。６８°Ｃでのハイブリダイゼーションの結果、シグナルの有無についてはC. japonicaの場合と全く同様であった。すなわち、すべてのプローブのシグナルが、強弱はあるものの、認められた。一方、in vitro培養したC. pentagonaの全ＤＮＡのサザン分析では、psaA、psbC、atpBをプローブとした時、自生の場合とは異なるシグナル・パターンを示した。この現象は、C. japonica では、少なくとも今回使用した6種のプローブに関するかぎり、観察されなかった。

今後、ネナシカズラ色素体ゲノム上に存在する光合成系遺伝子の相同配列について、その詳細な構造と発現を調べる予定であるが、その手始めとして、現在、rbcLの相同配列のＰＣＲによるクローニングを試みている。

2aC01

ショ糖脂肪酸エステルが果実・野菜の低温感受性に及ぼす影響

山脇和樹，渡辺　良，児下佳子，内藤圭子，邨田卓夫　（静岡大・農・生物生産科学）

低温感受性果実，野菜の収穫後の低温保持中の低温障害を防止，軽減する目的で，ショ糖脂肪酸エステル(C_{10}～C_{18})を塗布，浸漬処理したところ，いくつかのもので効果のあることが認められた．しかし，結合している脂肪酸の種類によってその効果は異なり，作用のメカニズムについても全く不明である．この物質が植物体の低温感受性に及ぼす影響を明らかにするために，呼吸活性を中心に調査した．

低温に弱い青果物のナス，トマト，ピーマン，キュウリ，ヨウサイ等を用い，CO_2 排出，O_2 吸収，ミトコンドリアの基質酸化能，TTC 還元力等について調査した．インタクトな青果物では，低温下での呼吸に対するショ糖脂肪酸エステル処理の影響は個体差が大きく一定の傾向を見いだせなかった．青果物から誘導，継代培養したカルスでは，低温ストレスによって呼吸活性が低下し，その度合は数種のショ糖脂肪酸モノエステル(laurate, myristate, palmitate ; HLB価=15～16)の滴下処理により抑えられることを見いだした．しかし，この抑制効果はカルスによって異なり，ナスでは顕著にみられたが，トマトではそれほど明確ではなかった．継代培養と同じ培地で青果物の組織切片を約2週間インキュベートしたもの，或いは実生の幼植物体でも呼吸活性の低下やショ糖脂肪酸エステルの効果の違いが認められたが，カルスの場合ほど顕著ではなかった．

2aC02

低温により発生するダイズ種皮の褐色色素の分析

高橋良二、秋山　高（北海道農業試験場）

開花期の低温（約15℃）により白目ダイズ（種皮と臍が黄色のダイズ）の種子の臍周辺が褐変し、外観品質が低下する現象が北海道で問題になっている。そこで色素の抽出、定量、分析を行った。

着色種子100gの種皮の着色部位周辺から5.4mg、非着色種子の対応する部位から1.2mgの黒色色素が回収された。この結果より、色素は非着色種子にも存在し、低温によって合成が誘導されると考えられた。

この色素は以下のようなメラニン（フェノールの酵素的酸化によって作られる高分子の色素）に共通にみられる性質を示した。①水、有機溶媒に不溶で1M KOHに可溶。②塩酸で沈澱を生成し、酸化剤により脱色され、塩化第二鉄により褐色の沈澱を生成。③吸光度は可視部から紫外部にわたって短波長側に単調に増加し、400～600nmの吸光度の対数がほぼ直線となった。④赤外吸光は、3.0 μm、3.4μm、6.1μmに吸収を示し、それぞれ(-OH)、(-CH)、キノンに対応すると考えられた。⑤X線回折の結果は、これまでに報告されている高等植物のメラニン（カテコールメラニン）と同様に、Bragg Spacing 4.2Aに相当する一つのピークが認められた。⑥アルカリ熔融による分解産物の同定をTLCによって行ったところ、カテコールと等しいRf値（0.9）を示した。以上の結果より、抽出された色素はカテコールメラニンであると推定された。

2aC03

植物細胞の凍結による細胞質酸性化

吉　田　静　夫（北大・低温研）

植物細胞の凍結傷害機構に関する最近の研究から、凍結脱水による細胞膜の不可逆的な機能損傷が細胞傷害の原因と考えられている。電子顕微鏡による細胞微細構造の観察から、凍結傷害にともなって細胞膜の超微細構造が不可逆的に変化することがすでに明らかにされているが、その原因はまだ十分には解明されていない。本報告では、冬小麦の葉肉プロトプラストを用いて凍結による細胞質ｐＨの変化を低温顕微鏡下における蛍光画像解析によってしらべた。低温馴化前の実生から分離されたプロトプラストを致死的な温度（－５℃）まで凍結すると細胞質ｐＨは急激に低下した。一方、十分に低温馴化させ-２０℃の凍結に耐える実生から分離されたプロトプラストでは－２０℃まで凍結してもｐＨの低下は観察されなかった。したがって、細胞質ｐＨの低下と凍結傷害の間には密接な関係が有ることを強く示唆するものと考えられる。凍結による細胞質の酸性化は外液にＫＣｌを添加することによってかなり抑制されることから、細胞膜を介してK^+イオンの特異的な出入りが関係しているものと思われ、各種のイオンチャンネル阻害剤を用いて検討中である。凍結による細胞質の酸性化は低温傷害（冷害）と同様に液胞からのH^+の流出による可能性も考えられ、これらについても併せて報告する。

2aC04

ハードニングにより誘導されるクロレラ可溶性蛋白質の2D-HPLCによる分画

本城賢一、城斗志夫、吉元誠、波多野昌二（九州大、農、食化工）

Chlorella ellipsoidea IAM C-27 は3℃、24時間の低温処理（ハードニング）により特異的な蛋白質の誘導を伴い、耐凍性を獲得する。しかし、これらの蛋白質の機能はほとんど不明である。耐凍性獲得に関与する蛋白質を精製し、性質を調べることはそれらの役割および機能を理解する上で大きな助けとなる。今回、陰イオン交換カラムと逆相カラムを組み合わせた2D-HPLCとSDS-PAGEを用いてハードニングにより誘導される可溶性蛋白質を分画した。

この操作により、低温処理24時間以内に少なくとも34個の可溶性蛋白質が新しく誘導され、またその量が増加することが示唆された。このうち21個の蛋白質は低温処理6時間目という早い時期に変化した。これらの精製蛋白質をPVDF膜にエレクトロブロッティング後、目下、N-末端アミノ酸配列を決定し、その相同性検索を行っている。現在まで、N-末端アミノ酸配列が決定された蛋白質のうち2つはRibulose-1,5-bisphosphate carboxylase 小サブユニットおよびPhotosystem II oxygen-evolving complex protein 2 前駆体とそれぞれ高い相同性を示した。

2aC05

ハードニングにより誘導されるクロレラ遺伝子の解析

城斗志夫、船橋淳、佐野恵子、吉元誠、波多野昌二
（九大、農、食化工）

Chlorella ellipsoidea C-27は3°C、24時間の低温処理（ハードニング）により耐凍性を獲得する。私どもは先に本学会においてハードニングで誘導される24の遺伝子(*hiC*遺伝子)のクローニングについて報告した。今回、これら*hiC*遺伝子と耐凍性との関係を明らかにし、またこれらによりコードされる蛋白質の機能の推定を行った。

低温で傷害を受ける低温感受性株 *C. ellipsoidea* C-102 (sensitive)と低温下で生存可能だが耐凍性は獲得しない低温耐性株 *C. ellipsoidea* C-102 var. (resistant)および耐凍性獲得株 *C. ellipsoidea* C-27の3株から高分子量DNAを調製し、サザンハイブリダイゼーションにより *hiC*遺伝子と耐凍性の関係を調べた。その結果、24の*hiC*遺伝子のうち少なくとも16の遺伝子は耐凍性あるいは低温耐性に関する遺伝子であることが示され、特にその中の2つの遺伝子は耐凍性に深く関与していると推察された。

さらに、*hiC*遺伝子の塩基配列を決定し推定されるアミノ酸配列からその遺伝子がコードする蛋白質の機能を検索した。現在までに塩基配列が決定された遺伝子のうち、*hiC*305はペプチジルプロリルシストランスイソメラーゼと、*hiC*909はアブシジン酸で誘導される大麦の蛋白質と、*hiC*312および*hiC*205は綿およびアブラナのLEA (late embryogenesis abundant) 蛋白質と高い相同性が認められた。

2aC06

ホウレンソウの凍結耐性に関与する耐熱性 COR（Cold-regulated）タンパク質

数岡徹、大江田憲治（住友化学・宝塚総研・生命工学研）

LEA（late-embryogenesis-abundant）タンパク質と相同性を有する低温誘導タンパク質は、その高い親水性のため、100 ℃で 10 分間の熱処理においても変性による凝集が起こらず上清に残るというユニークな性質を有する。私達は、ホウレンソウを用いて低温誘導される耐熱性タンパク質をスクリーニングした結果、顕著に低温誘導蓄積する 140kDa 及び 85kDa のタンパク質、COR140, 85 を検出した（1992 年度植物生理学会発表）。これら2つのタンパク質の低温処理期間中における蓄積量は凍結耐性の増加と高く相関した。また、これらのタンパク質は葉と茎で特異的に誘導され、根では全く誘導されなかった。この組織特異的誘導と一致して、凍結耐性もまた葉と茎で特異的に誘導された。これらの結果は COR 140, 85 が凍結耐性の獲得に深く関与していることを示唆する。さらに、私達は、COR85 を 92% 以上の純度の単一タンパク質まで精製した。そのアミノ酸組成はグリシンとリジンに富み、疎水性アミノ酸残基はわずかであった。一方、抗 COR85 抗体は COR140 とも交叉反応したことから、これら2つのタンパク質は互いに相同的であると思われる。本講演では COR タンパク質がいかにして凍結耐性に関与するかを議論する。

2aC07

植物細胞におけるペルオキシダーゼとHSPに対する熱ストレスの影響

若松國光、平島恵美、片山洋子、高巣正子、安藤満[1]
（福岡女子大学・生物学科、[1]国立環境研究所）

トウモロコシ（Zea Mays L.）の芽生え（32°C、暗所）に熱ストレス（～44 °C）を与えると、組織によってペルオキシダーゼ活性の変動に違いがみられた。子葉鞘ではその比活性は温度に従って低下したが、茎では44°Cを超えると低下した。また根では変化がみられなかった。 生重量当りの総ペルオキシダーゼ活性は高温においては、茎では未処理の約１０%、子葉鞘では約２５%、根では５０%低下した。可溶性タンパク質量は熱ストレスによって、子葉鞘ではほとんど変らず、茎では増加し、根では低下した。熱ストレスに比較的安定な茎においてはHSP70ファミリーの合成が著しく、熱ストレスに感受性の高い根においては、70ファミリーの合成はあまり顕著でなく、むしろHSP60ファミリーの誘導が顕著であった。 形態形成能を失ったカルス細胞では熱処理１日後の生重量当りの総ペルオキシダーゼ活性はコントロールの４０%、比活性は５４%に低下したが、可溶性タンパク質量は８６%であった。 熱ストレスによって誘導されたHSPは７４、７３、６８および５１kDが顕著で、７０kDのHSPは逆に減少傾向にあった。これらの結果より、熱ストレスによってペルオキシダーゼの合成系が抑制されて、HSPの合成が促進されたものと考えられる。

2aC08

光合成細菌のペリプラズムに存在する熱ショックタンパク質

高山喜晴、山本勇、佐藤敏生 （広島大・理・植物）

我々は以前、dimethy sulfoxide(DMSO)還元酵素の前駆体がペリプラズムに輸送された後、活性を持つ構造の形成にある因子が関与しているのではないかと推論した。一方、細胞内の様々なオルガネラで、ある種の熱ショックタンパク質(hsp)がタンパク質の折りたたみや会合を促進する事が報告されている。しかし、原核生物のペリプラズムでは、そのようなhspはほとんど知られていない。そこで、光合成細菌のhspの局在性について調べた。

２つのhsp(hps60とhsp13)は構成的に発現しており熱ショックにより合成速度が上昇した。その他に６種類のhsp(分子量：89kd, 72kd, 45kd, 30kd, 20kd, 18kd)が熱ショックにより誘導された。特にhsp18はhsp60やhsp13と同様、顕著に誘導された。hsp13は細胞質にしか認められなかったが、hsp60とhsp18はペリプラズムと細胞質の両方に存在した。

2aC09

ラン藻 *Synechococcus* PCC7002 の *groESL* 遺伝子の単離と解析

林　秀則、村田紀夫（基生研）

高温に適応したラン藻 *Synechococcus* PCC7002 では光化学系II活性が高温に対してより強い耐性を示す。この光化学系II活性の高温耐性を支配する要因は現時点では不明である。そこで光合成の高温適応における熱ショックタンパク質の関与を探る目的で、その遺伝子の単離および形質転換体の作製を試みた。

熱ショックタンパク質 HSP60 および GroEL における相同性の高いアミノ酸配列を参考にして混合オリゴヌクレオチドを作製した。これをプライマーに、また *Synechococcus* PCC7002 の遺伝子をテンプレートに用いたPCR反応によって、250塩基対の産物が得られた。その塩基配列より予測されるアミノ酸配列は *Synechococcus* PCC7942 の GroEL と高い類似性を示した。これをプローブとしてDNAライブラリーから *groEL* 遺伝子を含むクローンを単離し、その塩基配列を部分的に決定した。

これまでに決定されている塩基配列から推定したアミノ酸配列において、120 残基は *Synechococcus* PCC7942 の GroEL のアミノ末端側の配列と、50残基は GroES のカルボキシル末端側の配列と約90%の高い類似性を示した。この結果はラン藻においても *groESL* オペロンが保存されていることを示している。今後、遺伝子の構造およびその形質転換体における光合成の高温耐性の解析を進める予定である。

2aC10

好熱性藍藻 *Synechococcus vulcanus* の２種類のシャペロニン

古木正人、須江七丈、清水徳朗、檜山哲夫、井上頼直[1]（埼玉大・理・生化、[1]理研・太陽光科学）

シャペロニン(GroEL, cpn60)は細菌、葉緑体、ミトコンドリアに普遍的に存在するタンパクで、他のタンパクの折り畳みや集合に関わっている。我々は、好熱性藍藻 *Synechococcus vulcanus* のシャペロニン遺伝子を単離した。タンパクレベルでの研究から、単離した遺伝子に対応したタンパクともう一つ別のシャペロニンが発現している事がわかった。

Synechococcus vulcanus のゲノムライブラリーから他の藍藻や大腸菌のシャペロニン遺伝子と相同性の高い遺伝子を単離した。また、*Synechococcus vulcanus* に熱ショックをかけ、可溶性のタンパク画分をSDS-PAGEにかけたところ、63kDa の位置に熱ショックにより誘導されるタンパクのバンドが観察された。このバンドからタンパクを抽出し、タンパクシークエンサーにかけN末端のアミノ酸配列を決定したところ、このバンドには二種類のタンパクが含まれている事がわかった。このうち多量に含まれているタンパクは、*Synechococcus* sp. strain PCC7942のシャペロニンのN末端アミノ酸配列と、２７残基のアミノ酸のうち、２５残基が一致した。一方少量含まれるタンパクは、今回単離したシャペロニン遺伝子から予想されるアミノ酸配列と一致した。今後、多量に含まれるシャペロニンの遺伝子の単離を進めていく予定である。

2aC11

ハス芽生えスーパーオキシドジスムターゼ・アイソザイムの酸素と光に対する応答

丑丸敬史、辻英夫（京都大・理・植物）

暗所水中で発芽したイネ(*Oryza sativa* L. cv. Yamabiko)芽生えでは、superoxide dismutase (SOD)活性は暗所空気中で発芽した芽生えに比べ低かったが、芽生えを暗所のまま空気中へ移すと増加した(Ushimaru et al. Plant Cell Physiol. 33(8) in press)。しかし、このとき5つのアイソザイムはそれぞれ異なる応答を示した（投稿中）。今回は、嫌気耐性の高い双子葉植物としてハス (*Nulumbo nucifera*) を用いて同様の解析を行なった結果を報告する。

暗所空気中で発芽させたハス芽生えのシュート中には、native PAGE後の活性染色で検出される7つのSODアイソザイムが存在した。そのうち6つは暗所水中で発芽させた芽生えでは活性が低く、残りの1つは上記の2つのタイプの芽生えでほとんど差は見られなかった。ウエスタンブロットの結果、タンパク質の量も同様に変化することが明らかになった。興味深いことに、暗所で発芽させた芽生えを明所へ移すと、2つのアイソザイムは顕著な減少を示した。また、このアイソザイムは明所空気中で発芽させた芽生えにはほとんど検出されなかった。現在、これらのSODアイソザイムの細胞内局在性に関して調べている。これらの結果をイネの場合と比較して考察する。

2aC12

スーパーオキシドディスムターゼ遺伝子の発現とストレス耐性

坂本　敦，奥村剛一，野坂康人，横井裕美，田中國介（京府大・農・農化）

活性酸素の消去に携わるスーパーオキシドディスムターゼ（SOD）の活性上昇と植物のストレス抵抗性とは正の相関があり，SODが植物細胞の耐ストレス機構において重要な役割を果たしていることが示唆されている。私たちはイネのSOD遺伝子の発現調節機構の解明とSODを標的とした遺伝子操作によるストレス耐性植物の作出を目的に研究を進めている。これまでにcDNAをプローブとして２種類のサイトゾル型Cu/Zn-SOD遺伝子を単離・構造解析を終了しているが，今回新たにミトコンドリアに局在すると考えられるMn-SODをコードするcDNAおよび核遺伝子クローンを得た。これらのSODプロモーター領域に大腸菌β-グルクロニダーゼ（GUS）遺伝子を融合したキメラプラスミドを構築し，イネ・プロトプラストに導入した。一過性のGUS活性を指標にSODプロモーターの外因性の転写活性誘導因子の検索を試みたので報告する。一方，カリフラワーモザイクウィルス35Sプロモーターの発現制御下のCu/Zn-SOD cDNA をアグロバクテリウムを介してタバコに導入し，野性株の数倍のSOD活性を示す形質転換タバコを得たので，ストレスに対するこれらの形質転換タバコが示す特性についても報告したい。

2aC13

フタバネゼニゴケ細胞superoxide dismutaseのオルガネライソ酵素の発現パターン

田中克幸、滝尾　進、佐藤敏生　（広島大・理・植物）

superoxide dismutase (SOD)の色素体に局在するイソ酵素は緑化に伴い活性が増大する。この時の誘導因子は光合成反応により生成する活性酸素と考えられている。我々が分離したフタバネゼニゴケ細胞は暗所でも明所と同様の光合成酸素発生能を持つ葉緑体を形成するが、葉緑体内の酸素ストレスの点では明・暗により異なると考えられる。本研究は、この苔類細胞の各オルガネラSODイソ酵素の発現調節機構を明らかにするため、各種培養条件下での発現パターンを調べ以下の結果を得た。１）細胞質にはCu,Zn-SOD、葉緑体にはFe-SOD、ミトコンドリアにはMn-SOD が存在した。暗所では、Cu,Zn-SOD 活性は培養初期に著しく増大し、後期には消失した。一方、Fe-SODおよびMn-SODは培養期間を通じ同じ活性を示した。２）明所・有機栄養および光独立栄養条件下で生育した細胞でも、暗所細胞と同じ３種のSOD イソ酵素が検出され、各イソ酵素の活性の強さおよび培養期間に伴う活性の変動パターンは暗所細胞と同様であった。３）メチルビオローゲン（MV）添加による乾重量での 50%生長阻害濃度は３種培養条件下で違いが見られず、0.5 - 1.0 μMであった。しかし、乾重量あたりのクロロフィル量は明所細胞では、MV 0.5 μM 以上で著しく減少するのに対し、暗所では影響を受けなかった。また、MV を添加しても、明・暗にかかわらず、いずれのイソ酵素も活性に変化は見られなかった。

2aD01

ユーグレナ葉緑体の光化学系Ⅱ膜表在性 30 kDa タンパク質の cDNA クローニングとタンパク質輸送過程の解析

重森康司、稲垣純子、森　仁志[1]、西村幹夫[1]、山本　泰（岡山大・理・生物、[1]基生研・細胞機構）

高等植物葉緑体の光化学系Ⅱに存在する膜表在性 33 kDa タンパク質は核遺伝子によってコードされていて、N 末端側に pre 配列をもつ前駆体として細胞質で合成された後、葉緑体に輸送される。高等植物の 33 kDa タンパク質に相当するユーグレナの 30 kDa タンパク質の前駆体は、mRNA の in vitro 翻訳産物の免疫沈殿、SDS-PAGE の結果から分子量約 45 kDa で、高等植物に比べて比較的長い pre 配列をもつことが示唆された。このような長い pre 配列は、RuBisCO SSU や porphobilinogen deaminase の前駆体でも見られる。我々はこの 30 kDa タンパク質の、３重の包膜を持つ葉緑体への輸送に着目し、その前駆体の構造を調べるために cDNA クローニングを行った。更に in vitro processing や電顕による葉緑体包膜の構造の検討を行い、ユーグレナでの 30 kDa タンパク質の輸送経路の特徴を調べた。

2aD02

形質転換ラン藻*Synechocystis* PCC 6803の光化学系Ⅱ複合体のＩタンパク質の検出とその遺伝子（*psb*I）のクローニング

池内昌彦, [1]V.K. Shukla, [2]W.F.J. Vermaas, [1]H.B. Pakrasi, 井上頼直　（理研・太陽光科学, [1]Washington Univ. Dep. Biol., [2]Arizona State Univ., Dep. Botany）

光化学系Ⅱ複合体の構造解析のために，われわれは形質転換ラン藻*Synechocystis* PCC 6803の種々の部位変異体を用いて系統的に系Ⅱタンパク質成分の安定性を調べている［１］．その結果，ラン藻の系Ⅱ複合体では，特定の系Ⅱ成分の欠失は他の成分タンパク質の特定のサブセットの不安定化を引き起こすことがわかり，その系統的な解析から系Ⅱ複合体内部の相互作用を推定することができそうなことがわかってきた．一方，系Ⅱの反応中心複合体に強く結合しているＩタンパク質（４．８ｋＤａタンパク質）については従来*Synechocystis* PCC 6803ではそのタンパク質も遺伝子も確認されていなかった．本研究では，系Ⅱ複合体を単離して，５ｋＤａ領域のタンパク質を分析して，Ｉタンパク質のアミノ酸配列を部分決定した．さらにその配列を用いて，ゲノムＤＮＡから*psb*Iをクローニングをした．*psb*I遺伝子はアミノ酸３９個からなる疎水性タンパク質をコードしており，その配列はタンパク質の分析結果と一致した．現在その特異抗体の調製とその不活性化変異体の作成を行っている．

［１］Ikeuchi, M. et al. (1992) 第９回国際光合成会議発表

2aD03

クラミドモナス葉緑体遺伝子psbKの特異的挿入失活

高橋裕一郎[1]、松本秀樹[2]、J.-D. Rochaix[3]（岡山大・[1]自然科学研究科、[2]理・生物、[3]ジュネーブ大）

葉緑体遺伝子psbKは分子量約４ Kの小型でチラコイド膜を一回貫通すると考えられている疎水性のタンパクである。このタンパクは系２反応中心複合体にゆるく結合するが、系２の光化学反応には必須でなく、その機能は良く分かっていない。池内らはこの遺伝子を挿入失活させた形質転換株をラン色細菌で作成し、その系２活性は野生型と変わりないが、細胞の光合成的生育速度が遅くなっていると報告している。

我々は単細胞緑藻のクラミドモナス（Chlamydomonas reinhardtii）葉緑体での、psbK遺伝子産物の役割を調べるために、この遺伝子を葉緑体形質転換で失活させることを試みた。まず葉緑体DNAよりこの遺伝子を含む2.4kbのDNA断片をクローン化した。そしてそのpsbK領域に存在する制限酵素切断部位にスペクチノマイシン耐性を与える選択マーカーを挿入し、この遺伝子を失活させたベクターを作成した。このベクターから得られた形質転換株は、光独立栄養条件下で生き残ることはできるようだが、細胞はほとんど増殖しなかった。クラミドモナスではラン色細菌の場合と異なりこの遺伝子産物は光合成的生育に極めて重要な役割を果たしていることが考えられる。psbK遺伝子産物の生理的役割をさらに詳しく調べるために、この形質転換株の系２活性、反応中心複合体の存在量について現在調べている。

2aD04

クラミドモナス葉緑体遺伝子*psb* Aの部位特異的形質転換

内海恵一郎、高橋裕一郎、佐藤公行（岡山大学・理・生物）

光化学系ＩＩＤ１タンパクは、水分解のための高電位発生に関与し、光照射下で速い代謝回転を行い、また翻訳後Ｃ末端が特異的なプロセシングを受ける。これらの機能の解析のために部位特異的形質転換は有効な方法であると思われる。Ｄ１をコードする遺伝子*psb* Aの部位特異的形質転換は主にラン藻を用いて行われてきたが、得られた形質転換株は、生育が遅く生化学的解析も容易ではなかった。そこで、酢酸塩存在下で従属栄養的に生育する真核生物の緑藻クラミドモナス（*Chlamydomonas reinhardtii*）の葉緑体遺伝子*psb* Aの部位特異的形質転換を行うことにした。

まず形質転換ベクターを作成するため、クラミドモナス葉緑体DNAより*psb* A遺伝子を含むEcoRI-XhoI断片(約5kb)をクローン化し、そして、スペクチノマイシン耐性を与える選択マーカーを*psb* Aの下流に挿入した。このベクターで得られた形質転換株は、光合成的に生育可能であることを確かめた。さらにこのベクターを用い、Ｄ１タンパクに存在する電子供与体Zの存在部位のキャビティを構成すると予想されるアミノ酸の一つ、H190をPに、またC末のプロセシングの特異性を調べるためS345をCおよびGに変換する*in vitro* mutagenesisを行っている。

2aD05

光化学系Ⅱ反応中心Ｄ１蛋白質前駆体のＣ－末切断に関与する酵素の局在部位の解析

山本由弥子[1]，藤田修嗣[1]，稲垣言要[2]，佐藤公行[1,2]
（[1] 岡山大・理・生物 ，[2] 基生研）

光化学系Ⅱ反応中心Ｄ１サブユニットは、合成後直ちに、核支配と考えられる酵素の作用によりそのＣ末端延長部分の切除を受け、成熟型へと移行する。本研究では、この酵素の葉緑体内における局在部位を解明するため、その抽出条件の検討が行われた。本酵素は、比較的低濃度＜0.25% (w/v) ＞の Triton X-100 処理または 40 W 1分間の超音波処理により容易に抽出される。これらの処理における，この蛋白質とチラコイド膜内腔側に存在している 33kDa など他の蛋白質の挙動の比較から、本酵素はチラコイド内腔に可溶化状態で存在するものと結論された。このことは、チラコイド膜のトリプシン処理による解析の結果からも支持された。また、本研究ではさらに、この局在部位を検討するために、合成ペプチドあるいは in vitro で合成されたＤ１蛋白質前駆体を用いた in vitro でのプロセッシング反応の pH 依存性、 in organello での反応の pH 依存性が調べられた。

2aD06

D1蛋白質前駆体プロセッシング酵素の基質認識部位の合成ペプチドを用いる解析

田口富美子[1]、山本由弥子[1]、佐藤公行[1,2]
（[1]岡山大・理・生物、[2]基生研）

光化学系II反応中心のD1サブユニットは合成直後にC末端延長部分が切断されて成熟化する。このC末切断に関与する酵素は、最近の研究により高度に精製された。

本研究では、ホウレンソウpsbA遺伝子から推定されるD1蛋白質のC末端部に対応する数種のオリゴペプチドおよびそのアミノ酸置換体を使用することにより、(A)その基質としての有効性と、(B)in vitro合成した前駆体を基質とする反応に対する阻害効果から、この酵素の認識部位の解析が行われた。

この解析から得られた主な結論は、切断部位（Ala344とAla345の間）近傍のアスパラギン酸（Asp342）がこの酵素の基質認識の上で重要な役割を果たしており、切断除去されるC末端9残基は認識に無関係である可能性が強いということである。

2aD07

光化学系ＩＩＤ１タンパク質の強光分解に対するプロテアーゼ阻害剤の効果

徳富光恵　（農水省・生物資源研）

光化学系Ⅱ反応中心のＤ１タンパク質は強光照射下で損傷を受け分解される。単離した光化学系Ⅱ標品を用いた実験で、強光によるＤ１タンパク質の分解がセリンプロテアーゼ阻害剤で特異的に抑えられたことから、Ｄ１タンパク質の分解は光化学系Ⅱに存在するセリンプロテアーゼで触媒されると考えられている。本研究では、Ｄ１タンパク質分解に関与するプロテアーゼの性質を明らかにするため、阻害機構の異なる種々のセリンプロテアーゼ阻害剤の効果を詳細に検討した。

オクチルグルコシド処理で調製した光化学系Ⅱコア標品に強光(6 mE/m^{2}s)を照射するとＤ１タンパク質の32 kDバンドが減少し、23 kD，16 kDの分解産物を生成する。阻害剤存在下で強光を照射すると、すべての阻害剤で32 kDバンドの減少はわずかに抑えられたが、23 kD，16 kDフラグメントの生成量はかえって増大した。フラグメント量の経時変化を調べた実験で、プロテアーゼ阻害剤はフラグメントの消失を抑える効果をもつ可能性が示唆された。また、プロテアーゼ阻害活性をもたない低分子量タンパク質でもフラグメントの消失が抑えられることがわかり、Ｄ１タンパク質分解に対するプロテアーゼ阻害剤の効果は光化学系Ⅱのプロテアーゼ活性の阻害によるものでない可能性が示唆された。

2aD08

葉緑体Mn(II)結合性タンパク質の構造と光・組織特異的発現

西尾　浩一、田中　隆行、西條　由見子、杉浦　美羽、高橋正昭　(甲南大・理・生物)

光化学系IIタンパク質複合体をタンパク質分解酵素で消化して得られるペプチド断片の中から、Mn^{2+}に結合性を示すものを単離し、そのアミノ酸配列をもつタンパク質本体の性質を明らかにするために、キュウリ芽生えのcDNAライブラリーよりMn^{2+}結合性タンパク質cDNAを得、昨年の本学会で報告した。本報告は、予想されるその構造の特徴と、タンパク質発現に対する光と組織特異性について行う。

cDNAの全長は1,584bpで、最も長いORFはアミノ酸485残基から成るものであった。N末端から約70アミノ酸は、細胞質で合成されたプラストシアニンや酸素発生系膜表在性タンパク質の前駆体が、葉緑体ルーメンに移行するために必要なN末端のプレ配列に類似している。プレ配列部分を除くと、N末端に近い親水性部分と膜を貫通できる7ヘリックスで構成されていた。

吸水発芽後3日間暗所で育てたキュウリ子葉に光を照射し、その緑化成長過程の各段階でmRNAを調製し、cDNAをプローブとしてNorthern分析を行った。その結果、このタンパク質は暗中では発現せず、光照射6時間後から約2.3kbpのmRNAとして合成されることが判明した。葉、実にはmRNAが認められたが、花、茎には顕著ではなく、根にはまったくmRNAは認められなかった。

以上のような性質から、このタンパク質は光照射によってその合成が誘導され、また、光合成器官の存在する組織にのみ発現することが示された。

2aD09

Mn－クラスターを含む光化学系II標品の2次元結晶化

中里勝芳[1・2]，榎並勲[2]，沈建仁[1]，豊島近[3]，古野泰二[3]，雀部博之[3]，井上頼直[1]　([1]理研・太陽光科学，[2]東理大・理・教養，[3]理研・ＦＲＰ)

光合成細菌反応中心のＸ線結晶構造解析の成功以来，光化学系Ｉ，光化学系IIの結晶化が盛んに試みられる様になった．光化学系IIについては，３種の標品（ＰＳII反応中心粒子，ＰＳII反応中心コア粒子，Ｍｎ－クラスター（及び表在性蛋白）を含むＰＳIIホロ粒子）を材料として，２次元と３次元の２種類の結晶化が試みられており，それぞれ微妙に異なる狙いを持っている．

酸素発生４電子反応機構を研究する立場からはＰＳIIホロ粒子の３次元結晶化が望まれるが，この標品は１０個以上の膜蛋白と少なくとも１個の表在性蛋白を含む巨大な粒子なので結晶化が容易でなく，現在のところ解析可能な回折像を与える３次元結晶は得られていない．

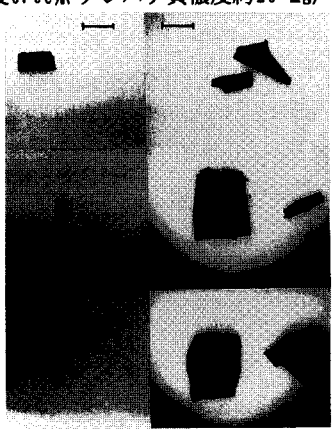
そこで，ＰＳIIホロ粒子のひとつ，ＨＴＧ－ＰＳII粒子の２次元結晶化を試みた．ホウレンソウＰＳII膜断片を n-heptyl-D-thioglucoside (HTG) で可溶化してＨＴＧ－ＰＳII粒子を調製し，卵黄レシチンと混合後透析してリポソーム膜中に取り込ませて電顕で観察したところ，一辺約２０ｎｍの菱形（内角は約７３度と１１７度）のモザイク模様で覆われたリポソームが観察され，２次元結晶が生成したものと判定された．この結晶は明瞭な回折パターンを与え，かつかなりの酸素発生能を保持している．

2aD10

光化学系II複合体結晶化の試み

沈建仁[1]・神山勉[2]・神谷信夫[3]・井上頼直[1]（理研・太陽光科学[1]・生物物理[2]・結晶学[3]）

酸素発生光化学系II粒子は１０種以上の膜タンパク質と３種の表在性タンパク質を含む分子量約２５万の複合体であり、その詳細な構造はまだわかっていない。我々は系II複合体の構造解析を目指して、その３次元結晶化を試みた。好熱性ラン藻*Synechococcus vulcanus*より酸素発生系II粒子を精製し、３種の表在性蛋白質を1M $CaCl_2$で除去した後、β－ドデシルマルトシド濃度0.05%、タンパク質濃度約20 mg/ml、pH 6.0、沈澱剤としてポリエチレングリコール6000を用い、透析法により結晶化したところ、図に示すような緑色の結晶が得られた。



図．光化学系II複合体の異なった形の結晶。左側のバーは0.1mm、右側のバーは0.5mmを表す。

2aD11

光合成系IIの反応中心における$^3P_{680}$のＦＴ-ＩＲスペクトル：クロロフィル二量体内での三重項状態平衡

野口　巧、井上頼直、佐藤公行[1]（理研・太陽光科学、[1]岡山大・理・生物）

系II反応中心において、P_{680}が二量体クロロフィル(Chl)なのかそれとも一量体Chlなのかは、系IIの光合成細菌型反応中心との相同性にも拘らず、未だ議論の的になっている。そこで、基底状態P_{680}と三重項励起状態P_{680}（$^3P_{680}$）とのフーリエ変換赤外（ＦＴ－ＩＲ）差スペクトルを測定し、P_{680}の構造とそのタンパク質との相互作用を調べた。

ホウレンソウより単離したD1-D2-cytb559複合体を連続光照射することにより$^3P_{680}$／P_{680}ＦＴ－ＩＲ差スペクトルを測定した。また、種々の有機溶媒中における精製Chlの三重項状態(T_1)/基底状態(S_0)差スペクトルを測定し、これらを用いてバンドの帰属、及び解析を行った。$^3P_{680}$／P_{680}差スペクトルに現れる二対のケトC=O伸縮振動のバンドより、P_{680}は非対称的な二量体Chlであり、その三重項状態は、80Kで約86%が一方のChl上に遍在することが明らかとなった。また、C=Oバンドの振動数より、主に三重項状態が存在するChlのケトC=Oとカルボメトキシ C=Oはいずれも水素結合しているのに対し、他方のChlのケトC=Oは無極性的な環境下にあることがわかった。さらに、ケトC=Oバンドの強度比の温度依存性を測定することにより、三重項状態は二つのChl間で平衡状態にあり、そのエネルギー差は7.5±1.1 meVであることが示された。細菌反応中心のX線結晶構造と、系IIのD1,D2サブユニットと細菌のL,Mとの相同性を考慮に入れ、P_{680}の構造とアミノ酸残基との相互作用のモデルを提唱する。

2aD12

ＰＳＩＩ第一キノン電子受容体QAの機能発現における小蛋白質及び脂質の役割

北村晃司、豊島喜則（京大大学院、人間・環境学）

再構成法により、QAへの電子移動に PSII 複合体に含まれる小蛋白質(H, L)及び脂質が関与していることを示した結果は既に報告した。これらの関与はQA　の生成（消滅）に起因する過渡的吸光度変化及び光励起に伴う FTIR スペクトルの変化から明かであった。　本研究では、これらの寄与が PQ-9 のQA部位への結合に関与しているのか或は結合した PQ-9 のQAとしての機能発現に関与しているのかを調べた。可溶化剤で処理することにより脂質と L, H を含む数種の蛋白質及び PQ-9 を除去した PSII 粒子 に PQ-9 は単独で再結合出来るが、得られた粒子はQA光還元活性を持たない。PQ-9 と同時に脂質と L, H を含む画分を再結合させると元の 50% 程度QA光還元活性が回復する。再結合処理を施した粒子を0.05% dodecylmaltoside 存在下で庶糖密度勾配遠心を行うことにより、これらの成分が再結合した粒子を他のものから分離することが出来た。こうして調製した再構成粒子には蛋白質の再結合の有無に関わらず反応中心当たり約１分子の PQ-9 が結合していた。しかしQAの光還元活性は PQ-9 と同時に L, H を結合している粒子でのみ認められた。これらの結果は、両蛋白質がPQ-9の結合にではなく、機能発現に関与していることを示すものである。また、再結合をした粒子を他のものから分離することにより、見かけのQA活性は高くなった。この再構成法を利用し明らかになったQA活性に対する小蛋白質及び脂質の役割について報告する。

2aD13

光合成酸素発生反応中間状態にあるＭｎ－クラスターのＸ線吸収端近傍スペクトル

小野高明、野口巧、井上頼直、[1]楠正美、[2]松下正、[3]大柳宏之
（理研・太陽光科学、[1]明大・理工・物理、[2]高エネ研、[3]電総研）

暗順応した光合成酸素発生系を閃光で照射すると、第３閃光目で初めて酸素の発生が観測され、以後酸素発生が閃光回数に応じて４周期振動する事より、酸素発生酵素は５つの準安定中間状態（S_0～S_4）を経由して水分子を酸化し分子状酸素を遊離するとする、いわゆるＳ状態モデルがＪｏｌｉｏｔとＫｏｋにより提出され、光合成酸素発生の基本的な反応機作を反映する仮説として広く受け入れられている。Ｓ状態は光化学系IIに存在するクラスターを形成しているＭｎ原子（Ｍｎクラスター）の様々に異なる酸化還元／構造状態がその実体であると一般に信じられているが、この仮説は実験的にはまだ直接証明されてはいない。

本研究では生理的条件下、閃光照射によって生じた$S_{0\sim4}$状態にあるＭｎクラスターのK吸収端近傍のＸ線吸収スペクトル（ＸＡＮＥＳ）を高感度で測定した。K吸収端エネルギーは閃光回数に応じて４周期振動を示し、S_0, S_1、S_2, S_3状態のＸＡＮＥＳスペクトルのK吸収端エネルギーは６６５０．７、６５５１．７、６５５２．５、６５５３．７ｅＶと推定された。この結果はＳ中間状態がＭｎクラスターの酸化／構造変化を直接反映したものである事を明確に示している。

2aD14

Ｌｏｗ－ｐＨ処理ＰＳⅡの酸素発生系のＥＰＲとＥＮＤＯＲ

三野広幸,栗林秀人,河盛阿佐子,小野高明[1],井上頼直[1]
（関学大・理,[1]理化学研究所・太陽光エネルギー）

Low-pH処理によりＰＳⅡからCa^{2+}を除去した水分解系は異常なＳ状態を示し,S_2'状態においては超微細構造の狭くなったマルチライン信号を観測することができる．またS_3'と呼ばれる状態ではｇ＝２を中心とする幅広い構造のない信号を観測することができる．　一般にpeak to peak１６０Ｇの分離を持つとされているS_3'　ＥＳＲ信号は今回の測定では２１０Ｇの分離幅を示し,更に内側に１００Ｇのpeak to peakをもつ別の成分が観測されている．この内側の成分は外側の成分より更に酸化された状態であることが確認できた．　またbufferを重水素置換したサンプルにおけるＥＮＤＯＲの測定からはこれらのラジカル近傍のプロトンは殆ど変化を示さないことがわかった．　従ってこのラジカルは膜表面近くに存在しないことがわかる．　一方S_2'状態における変形マルチライン信号のＥＮＤＯＲの測定では,未処理のサンプルに比べて１ＭＨｚの分離をもつ信号の強度が増加していることがわかる．　また配位した水素の信号はほぼそのまま保存されているが，最近接配位の水素の信号は分離幅がおよそ１０％大きくなっていることがわかった．　これらの情報からCa^{2+}を除いたサンプルにおけるマンガンクラスターの構造の変化を議論する．

2aE01

エンドウフィトクロム中間体の蛍光スペクトル

井上康則*、三堀忍、新井剛史、風間圭子[1]、真鍋勝司[1]、浜口宏夫[2]
（東理大・理工・応生、[1]横市大・文理・生物、[2]神奈川科技アカデミー、*新技・さきがけ２１）

フィトクロムのPrからPfrへの光変換過程は吸収スペクトルを基によく研究されている。フィトクロムの蛍光スペクトルに関しては報告が少なく、特に光変換中間体の蛍光スペクトルに関してはほとんど報告が無い。そこで中間体の蛍光スペクトルを、低温を用いて測定した。

エンドウ黄化芽生えより得たフィトクロムを75%グリセリン溶液に溶かし、criostatを用いて低温に保持しHe-Neﾚｻﾞｰにより励起した。放射された蛍光は小型分光器により分光し、多チャンネル光検知器により同時に測定した。80KにおいてPrは690nmに蛍光極大を示すが、赤色光を照射するとこのピークの高さは減少し新たに702nm付近に肩が生じた。この状態の試料に700nmの光を照射すると、肩は消失し690nmのピークの高さはPrの状態に回復した。190K,230K,250K,270KにおいてもPrに赤色光を照射すると、690nmのピークの高さは減少するが、スペクトルの形には大きな変化は見られなかった。この状態に再び700nmあるいは730nmの光を照射すると、230Kの場合を除いてスペクトルは基の状態に戻った。これらの結果から、meta-Ra以降の中間体はほとんど蛍光を発していないことが明かとなった。

2aE02

エンドウras関連遺伝子発現の光調節とフィトクロームの関与について

吉田和市（京大、農生）村井宣彦、永野幸生、松野隆一、佐々木幸子（京大、食工）

ras関連のGTP結合タンパク質は細胞の様々な反応の分子スイッチとして知られている。永野ら[(1)]は先にエンドウからpra1-8,9a,9b,9c,10の１２種類のras関連遺伝子を単離した。本研究では、これらの遺伝子の発現に対する光の効果を検討した。

暗所で成育させたエンドウ芽生えに白色光を照射しmRNA量の変動を調べたところ、５種類のpra遺伝子でmRNA量が減少した。このうち特に減少の著しかったpra2とpra3について、短時間の赤色光照射の効果を検討した。pra2,pra3ともmRNA量は２分間の赤色光照射後急激に減少した。pra2のmRNAの減少は同じ光処理によるフィトクロームのmRNAの減少に似た早い変化をしめした。赤色光によるpra2のmRNA量の減少は赤色光の直後に近赤外光を照射することによって抑えられ、pra2の発現の光調節にフィトクロームが光受容体として関与していることが示された。

(1)永野ら(1992)第15回日本分子生物学会年会講演要旨集 p.275

2aE03

フィトクロムの信号伝達機構の遺伝学的解析：　近赤外光下で伸長阻害反応を示さないシロイヌナズナ突然変異体の単離

倉田哲也、山本興太朗　（北海道大・理・植物）

フィトクロムが受容した光信号の信号伝達機構を明らかにするには、フィトクロム依存生理現象を示さない突然変異体の遺伝学的解析をおこなうことが有効であろう。HIRによるシロイヌナズナ胚軸伸長阻害反応では、フィトクロムと青色光吸収色素の二つの色素が光受容体として働いているが、近赤外光によるHIRはフィトクロムのみによることを私達は明らかにした（Goto et al., 1993）。本研究では、このフィトクロム特異的胚軸伸長阻害反応に着目し、本反応を示さない突然変異体を単離することを試みた。

EMS処理したシロイヌナズナM1種子約３,７００個の次世代のM2植物約２９,０００株を１日白色光照射した後、１日暗黒下に置き、連続近赤外光下で２日間育てたところ、１８株の伸長阻害反応を示さない突然変異体を単離することができた。また、高速中性子線処理した種子についても同様にしてM1種子約２５０個の次世代のM2植物体約２,０００株より１株の突然変異体を単離した。この内いくつかの系統は、連続近赤外光下で胚軸伸長阻害反応を示さない他に、子葉の展開やアントシアニンの蓄積に関しても野生型と異なる表現型を示した。また、これらの突然変異体は連続白色光下でHIRによる伸長阻害反応を示し野生型に復帰することから、既報の連続白色光下で伸長阻害反応を示さないhy突然変異体（Koornneef et al., 1980; Chory et al., 1989）とは異なるものであることが分かった。

2aE04

西洋わさび毛状根からの光誘導不定芽分化におけるフィトクロムの関与

斎藤力、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）にA.rhizogenesを感染させて得られる毛状根は、暗所下では根の形態を維持しながら活発に伸長成長を行うが、明所下においては植物ホルモン無添加培地上で不定芽形成を行う。この光誘導不定芽形成は、赤色光、青色光、近紫外光により誘導され、直後に照射した近赤外光によりその誘導効果が打ち消されることから、光受容体としてフィトクロムの関与が示唆された。

そこで、毛状根中でのフィトクロムの検出を試みたところ，I型フィトクロムが検出された。次に、フィトクロムの毛状根中での分布を調べたところ、基部側の末端に局在しており、毛状根での不定芽形成頻度が高い部位と一致していた。また、毛状根の基部側末端におけるフィトクロム活性の暗所下での培養時の経時変化を調べたところ、培養時間が長くなるにつれてフィトクロム活性は上昇した。この場合、毛状根の基部側末端における不定芽形成頻度も培養時間が長くなるにつれて上昇していた。

これらのことより、光誘導不定芽形成は、フィトクロム活性の上昇と強い相関を示すことが示唆された。そこで、アラビドプシスのフィトクロム遺伝子を過剰に発現する西洋わさび毛状根を得、光誘導不定芽形成を調べたところ、不定芽形成頻度の上昇が見られた。

2aE05

葉緑体の弱光定位運動の解析

董夏静、高木慎吾、永井玲子　（大阪大・教養・生物）

淡水産の単子葉植物であるオオセキショウモの表皮細胞の葉緑体は、弱光条件下で、葉の表面に沿った細胞上面に数時間かかって集合する。我々は、この弱光定位運動の光受容に、フィトクロムと光合成系色素とが機能していることを見出した。各光受容体の役割を明らかにするために、細胞上面中の葉緑体の運動をタイムラプスビデオシステムによって記録し、画像をパソコンに取り込んだ後、個々の葉緑体の運動を定量的に解析した。ＣＲＴ上で、各葉緑体が一定時間内に動いた総面積を算出し、それを葉緑体１個の面積で割った値を運動量の指標とした。波長800 nmの光のもとで、葉緑体は無方向性の微小な運動をしている。この時の指標値を基準とした。①指標値は、赤色光照射によって１－２分間内に２－３倍に増加する。②赤色光を照射し続けると、その値は次第に減少する。③赤色光照射の後、近赤外光を照射すると、指標値は速やかに赤色光照射前の値に戻る。④DCMU存在下に赤色光を照射すると、指標値の増加は起こるが、減少は見られなくなる。以上の結果は、①赤色光は葉緑体の運動を促進する、②連続赤色光下では葉緑体が細胞上面に捕捉される、③近赤外光は弱光定位運動を抑制する、④DCMU存在下では、一旦促進された葉緑体の運動が継続し、葉緑体の捕捉は起こらない、等の観察とよく一致する。フィトクロムは細胞質の運動に、光合成系色素は葉緑体の捕捉に関与していると考えられる。

2aE06

ホウライシダ原糸体細胞のフィトクロム依存葉緑体光定位運動は短時間の光照射でも誘導される

加川貴俊・門田明雄・和田正三（都立大・理・生物）

光により誘導される葉緑体定位運動はいろいろな植物細胞で知られているが、短時間の光照射で誘導される運動は藻類のヒザオリおよび近縁の*Mesotaenium*でしか知られていない(Haupt and Scheuerlein 1990)。ホウライシダ *Adiantum capillus-veneris*の原糸体細胞では、赤および青色光の連続照射で葉緑体定位運動が起きることが報告されている(Yatsuhashi *et al*.1985)が、やはり短時間の光による定位運動は認められていなかった。

最近、全葉緑体数に対する定位した葉緑体の割合を指標とすることで、シダ原糸体細胞においても短時間の赤色光照射で葉緑体の定位運動が誘導されていることが明らかとなった。今回はこの短時間照射により誘導される実験系とこれを利用して得られた葉緑体定位運動を制御するフィトクロムに関する知見を報告する。

短時間の赤色偏光照射により定位運動を誘導すると、葉緑体は光照射後の暗期中に定位運動し、定位した後、やがて分散した。しかし青色偏光の短時間照射では定位運動を誘導することはできなかった。この赤色光により誘導される定位運動は典型的な赤・近赤外光可逆性を示し、フィトクロムにより介在されることがわかった。またPfrはその濃度勾配により葉緑体の定位部位を決定しているだけでなく、その定位部位に葉緑体を保持する役割も持つことが示唆された。さらに少なくとも一部のPfrが光照射後1時間程度はPrに変換せずにPfrとして機能していること等が示唆された。

2aE07

A POSSIBLE INVOLVEMENT OF GIBBERELLINS IN THE ACTION OF PHYTOCHROME-B: A STUDY USING THE CUCUMBER *lh* MUTANT.

Enrique López-Juez, Masatomo Kobayashi[1], Yuji Kamiya, Richard E. Kendrick, Frontier Res. Prog. & [1]Plant Growth Reg., RIKEN, Wako, Saitama 351-01

Phytochromes are a family of closely related photoreceptor proteins, with partly distinct functions. In particular we have ascribed the far-red light (FR) triggered, shade-avoidance reaction to a light-stable, type B-like phytochrome, deficient in the cucumber *lh* mutant. We are investigating the involvement of gibberellins in the action of this phytochrome type. The *lh* mutant is phenotypically similar to a gibberellin-treated tall wild type, and shows increased responsiveness to applied GA_4, the active GA in cucumber. The increase in responsiveness is also brought about in the wild type by supplementing the white light with FR. Experiments involving application of the precursor GA_9, of an inhibitor of the GA inactivation step (2-β-hydroxylation), and of GA_3, which can not be 2-β-hydroxylated, all suggest that both activation and inactivation steps of GA metabolism are light independent, only GA responsiveness being light controlled.

We are currently measuring endogenous GA levels of the *lh* mutant and wild-type plants.

2aE08

DIFFERENTIAL EFFECT OF EXTRACELLULAR NO_3^- AND Ca^{2+} ON LIGHT- AND HORMONE-INDUCED GERMINATION OF *ANEMIA PHYLLITIDIS* SPORES

Christian J. HAAS, Hisakazu YAMANE[1], Yuji KAMIJA, Akira NAGATANI, Frontier Research Program, RIKEN Institute, Wako, Saitama 351-01, [1]Dept. Agric. Chem., Tokyo Univ., Bunkyo-ku, Tokyo 113

Spore germination of the fern *Anemia phyllitidis* can be induced either by red light *via* the phytochrome system, or in the dark by the application of gibberellins or antheridic acid, the major antheridiogen of *Anemia phyllitidis* (1). Using induction of chlorophyll-synthesis as evaluation parameter, the effect of the inorganic ions NO_3^- and Ca^{2+} on both light and dark germination is analyzed. - Even though there is no absolute requirement of NO_3^- for *Anemia* spore germination, the germination response to a red irradiation of several hours is significantly enhanced by the addition of $NaNO_3$ to the culture medium. This NO_3^--effect is specific for the phytochrome-mediated germination as no stimulatory effect of NO_3^- can be found for gibberellin-induced germination. - In contrast, the presence of Ca^{2+}-ions in the medium is necessary for both gibberellin-induced dark germination and phytochrome-mediated germination under continuous red light. - The kinetics of the NO_3^--effect as well as those of the Ca^{2+}-requirement are elucidated and compared to the kinetics of phytochrome- and gibberellin-action during induction of germination.

Lit: (1) Yamauchi *et al.* (1991): Phytochem. 30, 3247-3250.

2aE09

Pfrとは異なる赤色光信号の蓄積 －ホウキモロコシのアントシアニン形成の場合－

七條　千津子、橋本　徹　（神戸大・理・生物）

暗黒中で育てたホウキモロコシ(Sorghum bicolor Moench)芽生え第一節間では、赤色光(R)パルス照射によってアントシアニンが誘導される。この系を用いてRと遠赤光(FR)の組合わせ照射の実験を行ったところ次のような事実を見出した。Rパルスによるアントシアニン形成は、1)FRによって完全に打ち消されるにもかかわらず、それらの繰り返し照射の最後のRの効果は繰り返しの回数を重ねるにつれて増大した、2)Pfr飽和以上の光量でも光量に比例して増大した、3)種々の強い光量のRパルスの照射を行いFRでこれを打ち消した後、弱い光量のRパルスを与えるとFR照射前のR光量に依存した。これらのことはR信号がPfr以外の形で、光量に依存して蓄積されることを示している。この蓄積信号の性質を調べたところ、それは、1)Rパルスによって短時間(10秒以下)に生産され、2)単独ではアントシアニンを誘導できないがPfrの存在下Pfr量に依存して誘導し、3)その半減期は3時間であり6時間でほぼ消滅した。この信号蓄積現象は、Pfr飽和以上の光量をもフィトクロムが測定可能であることを示唆しており、光形態形成反応の光量依存性を説明するものとも考えられる。

2aE10

黄化アラスカエンドウにおけるin vivo及びin vitro光信号伝達の分子機構

蓮沼　仰嗣、浜田　徹、伊藤　喜誠（横浜市大、木原生研）

黄化アラスカエンドウ第3節間より赤外線下で原形質膜を精製した。[α－^{32}P]ATP,[α-^{32}P]GTP,[α-^{32}P]CTP,[α-^{32}P]UTPを原形質膜上の蛋白質に0℃5分で結合させ、UV照射によりクロスリンクさせた。[α-^{32}P]NTPを強く結合する10種の蛋白質が同定された。第3節間を赤色光で40秒、0、60、120、250 μmoles/m²/secで照射し、原形質膜を精製し、[α-^{32}P]NTPを結合させた。92 kDa 蛋白質が10^{-5}M NAD 及び百日咳毒素存在下に[α-^{32}P]ATPの結合を上昇させた。さらに近赤外光を照射すると[α-^{32}P]ATPの結合は減少した。このことは92kDa 蛋白質がフィトクロムからの光信号を受けることを意味する。以上のように調製した原形質膜に0℃5秒の[α-^{32}P]ATPからのリン酸化を行なわせると、15kDa 蛋白質のリン酸化が赤色光で促進され、近赤外光で抑制された。さらにミクロソーム分画を用いてin vitroの光信号伝達系を立てた。10^{-5}M NAD, 百日咳毒素存在下に100秒青色光照射を行い、92kDa 蛋白質の[α-^{32}P]ATP結合、52kDa 及び120－125kDa 蛋白質の[α-^{32}P]ATP及び[α-^{32}P]GTP結合が0℃5分で促進された。ミクロソーム分画を0℃10秒青色光照射し、[γ-^{32}P]ATPからのリン酸化を見ると、15kDa 蛋白質のリン酸化の促進が、ジフテリア毒素の存在下または10^{-7} Mリボフラビンの存在下でみられた。

2aE11

アカパンカビにおける青色光信号伝達の分子機構の解析

小田　和司、蓮沼　仰嗣（横浜市大、木原生研）

我々はアカパンカビのバンド（bd）株 菌糸の膜分画を用いて0℃、1－100秒の青色光照射で明確な（γ－^{32}P）ATPからのリン酸化の光効果を15KD 蛋白質に既に見い出している。今回は突然変異株を用いた解析と各種ATPase阻害剤を用いた解析の結果を報告する。実験方法（1）リン酸化反応に（γ－^{32}P)ATPを用いた。（2）保温を氷水中で光照射実験を1秒から数分行ったのち、リン酸化反応及びADP－リボシル化反応の場合はLaemmliのローディングバッファーで停止させた。結果；15KD蛋白質のリン酸化反応が増大した。15 KD蛋白質の反応は再現性よく現れた。種々の光反応をしないwc-1, -2変異株を用いてin vitro 相補性テストを行うとwc-1/wc-2の比が1/2のときbd 株と同様に15KD蛋白質へのリン酸化が増大した。議論；in vitro 相補性テストに成功したことから、15 KD 蛋白質 のリン酸化に見られる光反応がwc-1産物とwc-2産物によって制御されていることがわかる。このことは、15KD蛋白質の光反応はアーテイファクトではなく生物学的に意味があることが遺伝学的に裏付けられたことを示している。

2aE12

青色光照射による気孔孔辺細胞プロトプラスト蛋白質のリン酸化

木下俊則、島崎研一郎[1]、西村光雄　（九州大・理・生物、[1]九州大・教養・生物）

ソラマメ（*Vicia faba* L.）葉孔辺細胞プロトプラストを用いて、青色光に依存した気孔開孔に関与する情報伝達系について調べた。これまでの研究から、青色光に依存した気孔開孔及び孔辺細胞プロトプラストからのプロトン放出は、カルモジュリン依存性のミオシン軽鎖キナーゼ(MLCK)の阻害剤により阻害されることが明らかとなり(1)、蛋白質リン酸化反応の関与が示唆された。そこで、プロトプラスト懸濁液に ^{32}Pi を加え、青色光に依存したプロトン放出が起きる条件で光照射を行ない、リン酸化蛋白質の検出を試みた。孔辺細胞プロトプラスト全蛋白質を一度に用いる検出法では青色光に依存したリン酸化される蛋白質は見出せなかったが、反応後ただちに孔辺細胞プロトプラストを破砕し、遠心分離により3つの画分に濃縮して検出を行なうと、10,000x*g* で沈殿してくる画分において分子量約 100, 65, 40, 17 kD の蛋白質が、100,000x*g* の沈殿において 50, 35, 20 kD の蛋白質のリン酸化レベルが、青色光照射により上昇した。これら蛋白質の細胞内局在、リン酸化反応に対するMLCK阻害剤等の影響についても報告する予定である。

(1) Shimazaki, K. et al. (1992) Plant Physiol. 99, 1416-1421

2aE13

青色光に依存する孔辺細胞プロトプラストからのH^+放出の各種薬物による阻害とフシコクシン添加による回復。

島崎研一郎・木下俊則[1]・西村光雄[1]（九州大・教養・生物、[1]九州大・理・生物）

気孔は、青色光照射により開孔するが、この時、青色光は光情報として孔辺細胞原形質膜のプロトンポンプを活性化するとされている。しかし、その活性化の機構は不明の点が多い。我々は、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に対する阻害剤の作用を調べ、気孔の青色光効果にカルモジュリンやミオシン軽鎖キナーゼ（MLCK）が関与する事を、昨年度の本大会で報告した。今回、これらの阻害剤がプロトンポンプそのものは阻害せず光情報の伝達を遮断するという結果を得たので報告する。ソラマメ孔辺細胞プロトプラストにMLCKの阻害剤ML－7（100μM）を添加すると、青色光依存のプロトン放出は強く阻害される。そこへ、カビ毒フシコクシン（10μM）を加えるとプロトン放出が起こり、その速度はML－7を加えない場合とほぼ同じであった。カルモジュリン拮抗剤W－7を添加した場合も、ほぼ同様の結果が得られた。さらに、カルシウムチャネルブロッカー、ヴェラパミル（1mM）添加により、青色光依存のプロトン放出はほぼ完全に阻害されたが、フシコクシン添加により回復した。これらの結果は、カルモジュリン拮抗剤、MLCK阻害剤、ヴェラパミルがプロトンポンプそのものを阻害することなく、ポンプ活性化の経路を阻害することを示している。

2aF01

新しいニンジン不定胚形成系

大橋伸一、得字圭彦、増田宏志（帯広畜産大・生物資源化学）

従来のニンジン不定胚形成過程は、胚軸からオーキシン処理によりカルスおよび細胞塊を誘導しそれらをオーキシン無添加培地に移植することにより不定胚を誘導するというものであった。しかし、我々は、ニンジンの胚軸を短時間2,4-Dで処理すると、その後2,4-Dを含まない培地でカルスおよび細胞塊が形成され、次いで不定胚が発生する系を見いだしたので報告する。

ニンジン胚軸切片を2,4-Dを含むＭＳ固体培地で３０分から４８時間の各時間処理し、次いで2,4-Dを含まない培地に移植し培養した。その結果、2,4-Dで６時間以上処理した胚軸では５～６日経つと組織から細胞が離脱し、カルスを形成する。そして最終的に不定胚を形成し、植物体を再生する。同様にニンジン胚軸切片を2,4-Dを含むＭＳ液体培地で短時間（１時間）処理し、次いで2,4-Dを含まない培地で培養すると組織から単細胞が培地中に遊離してくる。この場合2,4-Dで連続的に培養したときよりも早く、またより多くの単細胞が放出される。遊離した単細胞は分裂して細胞塊を形成し、やがて不定胚を形成する。この遊離細胞をさらに2,4-Dを含まない培地に移して培養すると、高頻度で不定胚が形成される。この遊離した単細胞の中には、細長く伸びた細胞が多く存在する。これらの細胞は、従来の不定胚形成過程では不定胚を形成しないが、この新しい系では不定胚を形成する。

2aF02

ニンジン不定胚形成の諸条件について

得字圭彦、大橋伸一、増田宏志（帯広畜大・生物資源化学）

私たちはニンジン胚軸切片を2,4-Dで短時間処理し、これを2,4-Dを含まない培地に移して培養すると、組織から多量の単細胞が遊離し、それが分裂し細胞塊を経て不定胚が形成される系を見いだした。ここでは液体培地において組織からの単細胞の遊離と不定胚形成の諸条件を検討したので報告する。単細胞の遊離に対するオーキシン類の影響を調べた。2,4-Dの短時間処理は効果的であったが、IAAとNAAでは不定根が形成され、単細胞はほとんど遊離しない。2,4-Dでの濃度の影響では0.1-1mg/lで効果的であった。また2,4-Dで１時間処理した胚軸においても単細胞の遊離と不定胚形成が観察された。不定胚形成は胚軸を培養してから約２週間後に起こる。しかし、単細胞の数が増加すると分裂と不定胚形成は抑制される。そこで、胚軸切片量を変えて培養すると単細胞の多い場合は細胞は分裂せず、不定胚も形成されない。しかしこの遊離細胞の一部を新しい2,4-Dを含まない培地に移して培養すると分裂し、不定胚が形成された。この系を利用して、胚軸の他に根と使用の培養も行った。根では胚軸よりも早く単細胞が遊離され、不定胚が形成された。使用では不定芽が出てほとんど単細胞が遊離されなかった。

2aF03

トレニア茎切片からの不定芽分化における傷害の関与

下村尚生、谷本静史（佐賀大・農）

高等植物の分化全能性の制御機構を解明することを目的として、トレニア(*torenia fournieri*)の茎切片からの不定芽分化をモデル系として研究を行っている。

器官切片を材料植物から採取するためには切断が不可欠であるので、切断傷害が分化になんらかの役割を担っていることが推測される。そこでまずその点について検討したところ以下のことが明らかとなった。すなわち、比較的長い茎切片(2 cm)をサイトカイニン存在下で培養すると、不定芽は切片両端の切断部周辺から誘導され切片の中央部からはほとんど分化しなかった。中央部に傷害を与えると多数の不定芽が誘導されることから、傷害によりなんらかの物質が生成し、その物質により不定芽分化が促進されるものと考えられた。そこで茎を細断したものと細断しないものを液体培地で一定期間培養後その培地中に滲出してくる物質を比較したところ、細断した茎を培養した培地には数種のフェノール系化合物が多量に含まれていた。それらの化合物中でもアセトシリンゴンと思われる物質が比較的多量に含まれていたので、アセトシリンゴンを添加した培地で長い(2 cm)茎切片を培養した。その結果切片の中央部(無傷)からも多数の不定芽が誘導された。従ってアセトシリンゴンは不定芽分化を促進する物質であり、傷害によって生成する傷害ホルモンの一種であると推定された。アセトシリンゴン以外のフェノール系化合物について不定芽分化に対する影響を検討しているのでその結果についても報告する。

2aF04

ゼニゴケプロトプラスト由来単細胞からの高頻度再分化

加藤真司、菅原康剛　（埼玉大・理・生体制御）

前報で、ゼニゴケ（Marchantia polymorpha L.）の懸濁培養細胞を180μmのステンレスメッシュでこして得られた細胞塊が原糸体と仮根を高い頻度で再分化することを報告した。今回は、ゼニゴケ単細胞から原糸体と仮根を再分化させることを試みた。ゼニゴケの単細胞は、プロトプラストを寒天培地にのせたロ紙上で暗培養した。プロトプラストは、上記の培養細胞株から2%ドリセラーゼを用いて単離した。プロトプラストの培養中に、プロトプラストをより希釈した培地に移すことによって、培地中の浸透圧調整剤の濃度と培地の浸透圧を徐々に下げた。最後に、得られた単細胞をVoth（1941）あるいは10倍に希釈したMurashige-Skoog（1962）の寒天培地に移し、照明下で培養した。その結果、80%以上の細胞が一週間以内に原糸体を再分化した。

2aF05

ストレスによるニンジン不定胚誘導系におけるストレス誘導タンパク質の解析

立川佳伸、鎌田博、原田宏　(筑波大・生物科学)

ニンジン不定胚誘導系は、オーキシンの一種である2,4-Dの有無で簡単に不定胚の形成を制御出来ることから通常の種子中における胚発生のモデル系として様々な生化学的、分子生物学的研究が行われてきた。しかし、2,4-Dは植物ホルモンであるため不定胚形成能獲得以外の様々な生理反応に影響を与えていると考えられ、このことが不定胚形成の初期過程に必須な因子のみを検出する際の妨げとなってきた。そこで我々は植物ホルモンを用いないストレスによる不定胚誘導系を開発し、ストレスにより誘導されるタンパク質パターンの変化を二次元電気泳動で比較することによって不定胚誘導の初期過程に必須な因子の検出を試みた。約63KDa,65KDa, 45KDaの分子量を持つタンパク質が全てのストレス処理で共通に誘導されること、及び、これらのタンパク質は2,4-Dで誘導される不定胚形成能を持つEmbryogenic cellsでは検出されるが、不定胚形成能を失ったNon-embryogenic cellsでは検出されないことが明らかとなった。そこで、これらのタンパク質が不定胚形成能獲得の初期過程に重要な関わりを持っているのではないかと考え、遺伝子クローニングの前段階としてそのアミノ酸配列を部分的に決定した。

63KDa, 65KDaのタンパク質をV8 Proteaseにより分解し、それら断片のアミノ酸配列を決定したところ、両者ともに不定胚・種子胚での発現が報告されているDC8と極めて高い相同性を持つことが明らかとなった。45KDaのタンパク質についても同様に解析したが、これまでに報告のあるタンパク質との相同性は特に認められなかった。

2aF06

シロイヌナズナ晩生突然変異の花芽形成におけるバーナリゼーションおよび近赤外光照射の効果

後藤伸治、唐沢佳子　(宮城教育大. 生物)

シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）の野生型（Landsberg erecta, Sf-2）および晩生突然変異系統（*fca fy*）についてバーナリゼーションおよび近赤外光（FR）照射の花芽形成反応に対する効果を調べ、系統間差異を比較検討した。

播種後の種子を３週間低温処理した場合、L.e. 野生型を除くすべての系統で花芽形成までの期間が短縮し、ロゼット葉数が減少した。その効果は特にSf-2, *fca* 系統で顕著であった。幼植物に低温処理した場合も同様の結果が得られた。白色光にFRを混ぜた光を連続照射した場合、すべての系統で花成時期、ロゼット葉数の両方の指標について花芽形成の促進が見られた。この際、晩生突然変異は３系統とも低温処理の効果が打ち消された。Sf-2系統は低温処理とFRの効果が相加的に現れた。

短日条件下（８時間日長）の明期の直前（BDFR）及び直後（EDFR）にFRを１時間照射した場合、野生型を含む全系統でEDFRがBDFRよりも早い花芽形成を引き起こした。

2aF07

花成誘導物質の検定法としてのアサガオ茎頂培養

石丸明恵、関口　道、石田明子、竹能清俊（東北大・農）

花成誘導物質の探索における最大の障害は、その生物検定法が確立されていないことである。Ishiokaら(1990)はアサガオの茎頂培養を生物検定法として、光周的に花成誘導したアサガオ子葉の篩管液中に花成誘導活性を見いだしたと報告した。本研究は、この検定法の再現性を検討した。

アサガオ、‘ムラサキ’を材料とした。花成誘導した芽生えから子葉を切り取り、葉柄切口をEDTAで処理して、篩管液を蒸留水中に浸出させた。この篩管液を酢酸エチル抽出、C_{18} Sep-Pakカートリッジ、ODSによるカラムクロマトグラフィーで分画し、検定試料とした。非誘導条件下で無菌的に育てた芽生えから幼芽を切り出し、篩管液試料を加えたMurashigeとSkoogの培地に移植し、25℃、非誘導光周条件下で３週間育てた。

篩管液試料は子葉1～2枚分／10 mlで有意に花芽数を増加させた。活性は主に中性酢酸エチル可溶性画分に分配され、C_{18} Sep-Pakに強く保持され、ODSカラムでは20%メタノールによる保持容量200～250 mlの画分に比較的強い活性が検出された。しかし、これらの結果は常には再現しなかった。精製試料を用いた検定では、常に活性が検出され、定性的には矛盾の無い結果が再現されたものの、篩管液試料を加えない対照区にも花芽が形成されることがあり、誘導または促進とみられた場合でも花成率は低く、形成花芽数は少なかった。これらの問題点について若干の改善を試みた。

2aF08

アサガオ子葉中の花芽形成促進物質の同定

中西　史、楠見　武徳[1]、藤伊　正　(筑波大・生物、徳島大・薬学[1])

アサガオ（*Pharbitis nil*）の茎頂培養をアッセイ系とし、花芽誘導暗期処理直後のアサガオの子葉から花芽形成促進物質の単離精製を行なった。子葉の 90 % EtOH 抽出物をヘキサン、ジクロロメタンを用いて溶媒分画した後の水層に花芽形成促進活性が見られた。この活性は TOYOPEARL HW-40 column で２つの画分に分離された。今回はその一画分を、HPLC を用いて単一の物質にまで精製した。この活性物は精製中にも時間経過につれ分解するが、その分解物は ^{1}H-, ^{13}C-NMR 解析、質量分析等の結果、フラボノイドの１種、ジヒドロケンフェロール（アロマデンドリン）のグルコシドであることが示された。この物質は花芽形成促進活をもたず、また、活性物を HCl-MeOH 中で加熱するとペラルゴニジンが生成することから活性物はロイコペラルゴニジンであると推定された。活性物は、誘導暗期中に光中断したもの、暗処理を行なわなかったものの子葉にも存在し、直接花芽誘導に関わるものとは考え難い。しかし、花色に関わる物質が花芽形成に関与することは興味深く、今後構造との相関についても調査したい。

2aF09

植物葉の傷害時に生成する性質の異なる二種類の低分子性花成誘導物質

伴隆之、木戸毅[1]、木崎暁子[2]、田中修[3]、竹葉剛（京府大・生科、[1]近畿大・農化、[2]京大・農生、[3]甲南大・理）

アオウキクサ（*Lemna paucicostata*）を 1/10E 培地で培養し、そこに植物葉の水抽出液を極く少量加えると花芽を形成するが、この花成誘導効果をもつ成分の分子量は、数百から数万以上にまで分布しており、高分子側の成分はタンパク質であることが明かとなっている（**Plant Physiol. 94: 1677-81; 95:1288-1290**）。低分子側の成分には、カルボキシペプチダーゼ処理によって活性の消失する、分子量数百のペプチド性花成誘導物質が含まれること、が明かとなっている（昨年度本学会）。

ところが、植物葉抽出液を高温（４０℃）で２－３時間インキュベートすると、ホモジェネート直後には存在しない、上記ペプチド性物質とは明らかに性質の異なる、花成誘導物質が新たに生成することが判明した。このインキュベート中に生成する花成誘導物質は、エーテル可溶性で、かつ、不安定（１－２日で活性が消失）である。

これら、性質の異なる二種類の花成誘導物質について、相互の関係、物質としての諸性質、植物界における分布等について報告する。

2aF10

Lysineの花芽分化誘導活性

中山善雄、田中修[1]、竹葉剛[2]、杉野守　（近畿大・農・植生、[1]甲南大・理・生物、[2]京府大・生科・応生）

アオウキクサ151系統の花芽分化は、72時間以上の一回の無窒素処理で誘導される。この花芽分化は、内生の遊離 lysine の増加により促される可能性が示唆されている。lysine の花芽分化誘導活性は、培養液に添加された場合には、窒素欠乏状態や無窒素処理を受けた植物で顕著に認められる。しかし、アオウキクサ6746系統の花芽分化に対するアミノ酸の効果を調べた既報では、lysine の花芽分化誘導効果は認められていない。そこで、6746系統の花芽分化が一回の無窒素処理により誘導され得る条件、および、その条件下におけるlysineの花芽分化誘導活性について検討した。その結果、6746系統の花芽分化は、48時間以上の無窒素処理を一回受ければ誘導され、lysineはこの花芽分化を促進することが示された。また、Protease inhibitor の elastatinal は、この花芽分化を抑制するが、その効果はlysineにより打ち消された。これらの結果から、アオウキクサ6746系統の窒素欠乏による花芽分化に、内生のlysineが関与している可能性が考えられる。なお、151系統の花芽分化に lysine よりも強い効果を示した lysine hydroxamate も6746系統の花芽分化に促進効果を持っていた。

2aF11

花成誘導タンパク質の短日処理アサガオ子葉中での変動

木戸毅、木崎暁子[1]、伴隆之[2]、田中修[3]、竹葉剛[2]（近畿大・農化、[1]京大・農生、[2]京府大・生科、[3]甲南大・理）

アオウキクサ（*Lemna paucicostata* １５１）の花成を極く低濃度で誘導するタンパク質を精製し、そのアミノ酸配列の情報をもとに、花成誘導タンパク質をコードする cDNA を単離した。その cDNA の塩基配列から推定されるタンパク質は、アミノ酸２６３個からなり、マウス赤血球の分化過程で発現する MER5 タンパク質と約５０％の相同性を示した。その cDNA を組み込んだバクテリアの inclusion body 中に蓄積するタンパク質およびそのトリプシン分解物は、アオウキクサ１５１に対して、100 pM のオーダーで花成を誘導した。

バクテリアのつくる花成誘導タンパク質をウサギに注射し、抗体を作製した。その抗体を用いて Western Blot を行うことにより、アオウキクサ、アサガオとも、約２８（ｘ４＝１１２）ｋＤの分子量で、主に葉に存在すること、が明かとなった。また、アサガオを短日処理した子葉での花成誘導タンパク質量は、短日処理開始後１６ｈでやや減少すること、が明かとなった。この花成誘導タンパク質が、自然条件下の花成において果たす役割について、さらに検討中である。

2aF12

アサガオの長日開花と糖含量

篠崎真輝（京大・農・応植）

短日植物であるアサガオが連続光下でも貧栄養、強光、低温などで花成誘導され、これらの花成はクロロゲン酸、ピノレジノールグルコサイド、フェルロイルキナ酸などのフェニールプロパノイド含量と密接に関連していることはこれまでに報告した通りである。今回はアサガオの長日開花を誘導する諸条件下での糖含量と花成との関連について報告する。実験材料としては貧栄養、強光、低温により花成誘導されるVioletと貧栄養、強光では花芽を形成しないKidachiを用いた。種子は常法通り酸処理し、発根した種子を滅菌した砂に植え、２０℃の連続光のもとで発芽させた。発芽したseedlingを中山氏の培地あるいは水道水（貧栄養）に移植し、実験に供した。処理条件は貧栄養（２０℃、５０００lux）、強光（２５℃、２５０００lux)、低温（１３℃、５０００lux)である。それぞれの条件で育てた植物から経時的にsamplingし、２％の酢酸で１０分間加熱抽出し、HPLCで糖類、クロロゲン酸、ピノレジノール、フェルロイルキナ酸を定量した。糖類の分析にはAminex 87C, TSK amide 80, TSK NH_2 60を用い、検出は示差屈折計で行なった。その結果、花芽を誘導する全ての条件下で、花成誘導成立時にグルコース、フルクトースの含量がきわめて高く、例えば、貧栄養で２０間育てた植物の子葉中の糖含量は培地で育てたものの約７０倍にも達した。本大会では糖含量と花成の関係について論ずる。

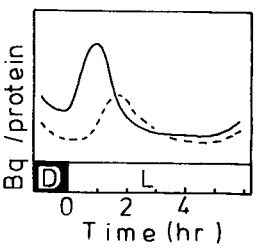
2aF13

アサガオ頂芽のS－アデノシルメチオニンデカルボキシラーゼ活性の光誘導

島田敦子、平澤栄次（大阪市大、理、生物）

本酵素はポリアミン合成系に関与し、S－アデノシルメチオニン（SAM）を脱炭酸してデカルボキシSAMとなる。デカルボキシSAMはそのアミノプロピル基がプトレシンやスペルミジンに転移され、それぞれスペルミジン・スペルミンが合成されるための基質となる。最近、花芽形成においてポリアミンが関与していることが報告されており、本研究ではアサガオ頂芽の本酵素活性を測定した。

長日条件下（8時間暗期－16時間明期）で育てた播種後7日目のアサガオ（Pharbitis nil cv. Violet）の頂芽を用いて［S-carboxy-^{14}C］－SAMを基質として、生成される$^{14}CO_2$を測定した。長日条件下で育てたもの（——）と、測定の前日に短日処理（16時間暗期－8時間明期）を行なったもの(－－－)を図に示した。本酵素活性は光により誘導され、長日条件下で育てたものは、1時間後に1.5～2倍になる。短日処理を行ったものでは、ピーク時の活性は低く、光照射後の活性上昇も遅れてみられる。



また、SAMデカルボキシラーゼの酵素化学的性質についても検討した。

2aG01

双子葉植物細胞壁中でのフェノール酸と多糖類の結合様式

石井　忠、枝重　有祐、掛川　弘一、飛田　哲也[1]（農水省・森林総研、[1]日本タバコ株）

双子葉植物細胞壁中のフェノール酸と多糖類の結合様式は単子葉植物のそれに比べて不明な点が多い。ホウレンソウとシュガービートの細胞壁を酵素加水分解して5つのフェノール酸を含むオリゴ糖をHPLCにより単離・精製し、それらの構造を解析した。それらは O-(2-O-trans-feruroyl- α -L-Ara$_f$)-(1 → 5)-L-Ara$_f$ (1)、 O-(6-O-trans-feruloyl- β -D-Gal$p$)-(1 → 4)-D-Gal (2)、 O- α - L-Ara$_f$-(1 → 3)-O-(2-O-trans-feruloyl- α -L-Ara$_f$)-(1 → 5)-L-Ara$_f$(3)、 O-(4-O-trans-feruroyl- α -D-Xyl$p$)-(1 → 6)-D-Glc(4)、と O-[5-O-(trans- feruloyl)- α -L-Ara$_f$]-(1 → 3)-O- β -D-Xyl$p$-(1 → 4)-D-Xyl(5)であった。化合物（1）は以前にO-(3- O-feruloyl- α -L-Ara$p$)-(1 → 3)-L-Araと誤って同定された。化合物（4）と（5）はこれまでにタケノコからも単離・同定された。双子葉植物ではフェノール酸はアラビナン、ガラクタンばかりでなくアラビノキシランやキシログルカンにも結合していることが明らかになり、これらの多糖類の間でフェノール酸を介した架橋構造が形成される可能性が示唆される。

2aG02

水ストレス条件下でのコムギ幼葉鞘細胞壁のゆるみの維持と細胞壁結合フェルラ酸量の変化

若林和幸、保尊隆享、神阪盛一郎　（大阪市大・理・生物）

水不足の条件下では茎の成長は著しく抑制されるが、茎の細胞壁は逆にゆるんだ状態に維持されていることが、双子葉植物のカボチャ下胚軸で報告されている（桜井ら、植物生理学会1985年）。今回、双子葉植物とは細胞壁成分の種類が異なる単子葉（主にイネ科）植物においても、同様な現象が見られるのか、更にゆるみが細胞壁のどのような成分によるのかについて検討した。暗所で生育させたコムギ芽生えに、60mMのポリエチレングリコール(PEG4000)で水ストレスを与えた。PEGにより幼葉鞘の成長は著しく抑えられたが、応力緩和法による細胞壁の力学的性質の測定の結果、細胞壁はゆるんだ状態に維持されていることがわかった。次に、細胞壁の各画分の糖量及び糖組成を調べたが、いずれも力学的性質とは有意な相関は見られなかった。ヘミセルロース性多糖類の分子量分布では、対照に比べ水ストレス処理の方で平均分子量が大きくなっていた。一方、フェルラ酸(FA)とジフェルラ酸(DFA)量は成長とともに増加したが、水ストレス処理では増加が抑制されており、細胞壁の力学的性質との間で非常に高い相関が認められた。以上の結果より、水ストレス条件下でのコムギ幼葉鞘細胞壁のゆるみの維持は、FA、DFA量の増加が抑制されることによっているものと考えられた。

2aG03

アスコルビン酸による細胞壁木化の調節：細胞壁の可溶性ペルオキシダーゼと結合性ペルオキシダーゼによるコニフェリルアルコール酸化のアスコルビン酸による調節

高浜有明夫（九州歯大・生物）

アズキ上胚軸のアポプラストには細胞壁結合性と可溶性ペルオキシダーゼが存在している。これらのペルオキシダーゼによるコニフェリルアルコール（CA）の酸化速度は大きかったが、アスコルビン酸のそれは非常に小さかった。この二種類のペルオキシダーゼによるCA酸化反応において、その酸化産物や酸化のキネティクスには大きな差は認められなかった。アスコルビン酸は可溶性ペルオキシダーゼによるはCAの酸化を低濃度（数μM）で完全に抑制した。その抑制はCAの初期酸化産物（多分そのラジカル）の還元によるものであった。他方、細胞壁結合性ペルオキシダーゼによるCAの酸化はアスコルビン酸で競争的に阻害された。アスコルビン酸は上胚軸のアポプラストに存在していた。そこでは加齢に伴ってリグニンが合成されている。これらの結果に基づくと、結合性ペルオキシダーゼは細胞壁木化に関与し、アスコルビン酸はその木化を調節していると考えられる。また、可溶性ペルオキシダーゼはアスコルビン酸と共同して木化反応に使用されなかった過酸化水素除去に関与していると考えられる。

2aG04

シンナミルアルコールデヒドロゲナーゼの精製および組織的発現の解析

日尾野 隆、柴田 大輔、梅沢 俊明[1]、高部圭司[2]、樋口 隆昌[3]
(三井植物バイオ研、[1]京大・木研、[2]京大・農、[3]日大・林学)

リグニンはフェニルアラニンを出発材料として生合成される２次代謝産物の一つであり、植物組織の構成成分として重要であると共に外界からの防御機構にも関与している。この２次代謝産物合成経路の上流に属するフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL)、4-クマロイル-ＣｏＡリガーゼ (4-CL)の解析は遺伝子レベルで詳細におこなわれている。

本研究では将来的なリグニン有効利用にむけての知見を得るために、リグニン合成系酵素の解析をおこなった。リグニンの生合成経路については樋口らにより既に明らかにされている。リグニン単量体であるモノリグノール合成の最終酵素であるシンナミルアルコールデヒドロゲナーゼ (CAD)をウドから精製しその酵素学的解析をおこなった。 精製は疎水性クロマトグラム、イオン交換クロマトグラム、アフィニティークロマトグラム法によった。さらに精製したＣＡＤを用いてマウス抗体を作成し、これを用いてＣＡＤの組織学的な発現を調べた。 ＣＡＤはゲルろ過法により分子量約72,000と推定された。ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより２つのサブユニットから成る２量体であることが示された。さらに、そのサブユニットは分子量の異なる２タイプで構成されていることが明らかとなった。また、ＣＡＤ抗体を用いた組織学的方法による解析から、ＣＡＤはリグニン合成の盛んな組織でのみ特異的に発現していることが示された。

2aG05

ウド（Ａｒａｌｉａ ｃｏｒｄａｔａ）シンナミルアルコールデヒドロゲナーゼｃＤＮＡの単離

日尾野 隆、 柴田 大輔、 樋口 隆昌[1]
（三井植物バイオ研、 [1]日大・林学）

リグニン合成経路を遺伝子レベルで解析するためにシンナミルアルコールデヒドロゲナーゼ (CAD)に着目し、この酵素のｃＤＮＡクローニングを行なった。

材料としてウドを用いた。精製したウドＣＡＤを臭化シアンを用いて化学的に分解した。分解したペプチドをHPLCで分画しそれらの一部についてアミノ酸配列を決定した。このアミノ酸配列を参考に作成した合成ＤＮＡを[γ-^{32}P] ATPを用いて末端ラベルし、スクリーニングの際のプローブとして用いた。ＧＩＴ法（改変）、オリゴｄＴセルロースクロマトグラム法により得たpoly(A)$^+$RNAを用いてｃＤＮＡライブラリーを作成した。約５０万の組換体をスクリーニングし、最終的に全長を有するウドＣＡＤ・ｃＤＮＡを単離した。得られたｃＤＮＡは３６０個のアミノ酸をコードしており、このアミノ酸配列中には先に決定したペプチドの部分アミノ酸配列と同一の配列が確認できた。また、得られたＣＡＤ・ｃＤＮＡを用いてゲノムサザン分析、ノーザン分析をおこなった。サザン分析の結果、ウドゲノム中に、２ないし３コピーのＣＡＤ遺伝子の存在が明らかとなった。ノーザン分析は根、茎、葉のＲＮＡに対しておこなったが、ＣＡＤは茎で最も強く発現していることが示された。

また、ほぼ同時期に報告されたマツ、タバコ、ポプラのＣＡＤとのアミノ酸配列を比較したところ、高い相同性が見られた。

2aG06

エンド型キシログルカン転移酵素のｃDNAのクローニング

岡澤一秀、冨田英津子[1]、佐藤美子、浅田起代蔵、加藤郁之進、西谷和彦[1]（宝酒造バイオ研、[1]鹿児島大教養）

キシログルカンは植物細胞壁マトリックスの主要成分の一つで、セルロース微繊維間に架橋を形成し、細胞壁のネットワーク構造の構築において中心的な役割を担っている多糖である。細胞成長や細胞分化の際には細胞壁ネットワークの再編成が不可欠の過程である。その再編成過程にはキシログルカン架橋の切断と再結合が関与していると以前から想像されていた。しかし、その分子過程は不明であった。最近、演者らはキシログルカン架橋の繋ぎ変え反応（**molecular-grafting**）を触媒する新規酵素をアズキ上胚軸の細胞壁から単離精製し、エンド型キシログルカン転移酵素（**EXT**)と命名した (Nishitani et al. (1992) J. Biol. Chem. 256: 21058) 。この精製した**EXT**のタンパク質のN末端側のアミノ酸配列を基にして、ＰＣＲ法により、アズキの上胚軸組織のｃDNAライブラリーからエンド型キシログルカン転移酵素のｃ-DNA を得た。

2aG07

エンド型キシログルカン転移酵素の生理機能

冨田英津子、船津安世、前田香織、近藤昭弘[1]、加藤郁之進[1]、西谷和彦 （鹿児島大 教養、[1]宝酒造バイオ研）

私達は最近、アズキ上胚軸の細胞壁より、新しいタイプの転移酵素であるエンド型キシログルカン転移酵素を単離精製しその反応特異性を解析した。その結果、この酵素はキシログルカン鎖中の**(1-4)β**-グルコシル結合をエンド型の様式で切断し、生じた還元末端を他のキシログルカン分子のグルコース残基の**C4**の位置に転移することがあきらかとなった。また、この酵素は高分子のキシログルカンに対してのみ高いドナー基質親和性を示し、また、加水分解活性を全く示さないなど、極めて新規な反応特性を示す(Nishitani et al. 1992, J. Biol. Chem. 267: 21058)。これらの結果から、この酵素は細胞壁のネットワーク構造の構築や再編成の制御を通じて、細胞成長や細胞分化の調節に於て重要な働きを担っていると考えられる。この点を明らかにするために、様々な成長段階にある植物内でのエンド型キシログルカン転移酵素の発現と細胞壁中での実際のネットワーク再編成の分子機構を解析した。

2aG08

アズキ上胚軸切片のオーキシン誘導成長並びにキシログルカン分解に対するコンカナバリンAの阻害作用

保尊隆享、若林和幸、増田芳雄[1]（大阪市大・理・生物、[1]帝塚山短大・食品）

ある種のレクチンは、細胞壁多糖と結合し、その代謝を妨げることによって細胞壁のゆるみを抑え、オーキシン誘導成長を阻害する。コンカナバリンA（Con A）は、双子葉植物並びに単子葉イネ科植物のオーキシン誘導成長を阻害する。しかし、このレクチンはα-マンノース及びα-グルコース残基を認識するので、細胞壁多糖に直接作用するとは考えられない。むしろ、糖タンパク質である酵素と結合し、その働きを抑える可能性がある。本研究では、特に、双子葉植物のキシログルカン分解酵素の作用に対するCon Aの影響について検討した。

アズキ上胚軸細胞壁より高濃度の塩で遊離されるタンパク質画分には、キシログルカン分解活性が含まれる。この画分にCon Aを加えたところ、キシログルカン分解活性が低下した。また、同活性のほとんどは、Con A－Sepharoseカラムに吸着した。これらの結果と、キシログルカンの in vivo での分解並びに細胞壁の力学的な性質に対するCon Aの影響より、Con Aはキシログルカン分解酵素と結合し、その作用を妨げるためにオーキシンによる細胞壁のゆるみが起こらなくなり、成長が阻害されると考えられる。

2aG09

キシログルカンとセルロースのアニーリング

○林　隆久、小川宏蔵[1]（京大・木研、[1]大阪府大・研）

成長している植物の細胞壁・一次壁の基本構造は、セルロースミクロフィブリルの薄いネットをヘミセルロース・キシログルカンが架橋して複合体を形成することで、その形状と堅さが保たれていると考えられる。この複合体におけるキシログルカンの含量は４０%以上で、解離させるためには、強アルカリ（２４%ＫＯＨ）による処理が必要である。これに対して、in vitro で再構成させた複合体は、キシログルカンの含量およびセルロースとの結合力が著しく低いことが認められている。本研究では、植物細胞における一次壁の機能を糖鎖複合構造から明らかにすることを目的とした。手法として、キシログルカンとセルロースの両β1,4-グルカンをアニーリングすることにより、強固な複合体の形成を試みた。

キシログルカンと再生セルロースの混合水溶液（１：１）を温度を変えて(80, 120, 160, 200℃）アニーリングを試みた。X線回折の測定により、高温になるほどセルロースの結晶性が増加したが、キシログルカンの存在によって結晶化が阻害された。さらに、セルロースに対するキシログルカンの結合力は、高温になるほど強くなることが認められた。

2aG10

自己の細胞壁溶解酵素によるクロレラのプロトプラスト生成

高野美佳、武田宏[1]（新潟大・理・生物、[1]新潟大・教養・生物）

プロトプラストは植物において有用な実験材料であり、市販の消化酵素処理でつくられる。しかしクロレラは非常に堅い細胞壁を持つためそのプロトプラスト化は難しく、二三の株において成功しているに過ぎない。演者らはクロレラの細胞壁が自身のもつ酵素により特異的に分解されることを示した。最近Hatanoらは*Chlorella ellipsoidea* C-27株において自己の細胞ホモジェネートに市販のキトサナーゼKIを加えて働かせることによりプロトプラストを高率につくることに成功した。

今回 *Chlorella ellipsoidea* C-87 と *C. vulgaris* 211-1e株のプロトプラスト化を自己の酵素、つまりホモジェネート上清、活性細胞壁からのLiCl抽出液および培養濃縮液で処理することにより試みた。

C-87株ではLiCl抽出液によりプロトプラストがつくられた。その度合はセルラーゼオノズカ R-10を添加することにより促進された。しかしホモジェネートでは出来なかった。培地酵素は単離細胞壁をよく分解するがこれだけではプロトプラストはつくれず、セルレースオノズカ R-10を添加することにより可能となった。

一方、211-1e株のプロトプラスト化は培地酵素では出来ず、代わりにホモジェネート上清酵素によって可能となった。また、LiCl抽出液によっても出来た。ホモジェネートによるプロトプラスト化はキトサナーゼKIの添加により促進され、HatanoらのC-27株での結果と一致した。

2aG11

ニホンナシ果実細胞壁からのβ－ガラクトシダーゼの精製と性質

北川泰弘、金山喜則、山木昭平（名古屋大・農・園芸）

果実成熟時におこる果肉の軟化には、細胞壁構造の変化が伴い、これには数種の細胞壁分解酵素が関与していることが示唆されている。本研究ではこれらの酵素のうち、成熟時の細胞壁成分からのガラクトースの遊離に関与していると考えられるβ－ガラクトシダーゼに注目して、これを成熟果実細胞壁から精製しその特性を明らかにすることを目的とした。

材料としてニホンナシ（豊水）果実を選び、本酵素を細胞壁から3M LiClで可溶化し、Butyl-toyopearl 650C, Sephadex G-150, Mono S, TSK-G3000SWの各クロマトグラフィーにより精製した。その結果、５種類のイソ酵素の存在が明らかになり、このうち２種類についてはＳＤＳ－ＰＡＧＥで約８０kDaのメインバンドとして、１種類については約４０kDaと２５kDaのメインバンドとして検出された。

精製酵素はいずれも、p-ニトロフェニル（ＰＮＰ）-α-ガラクトピラノシド、ＰＮＰ-α,β-グルコピラノシド、ＰＮＰ-α,β-マンノピラノシドとは反応しなかった。一方、ガラクタン（Gum arabic）あるいはアラビノガラクタン（Larch wood）を分解するイソ酵素を確認することができた。

以上より、ニホンナシ成熟果実細胞壁には５種類のβ－ガラクトシダーゼが結合していることが明らかになり、各イソ酵素がどのように果実軟化へ関与しているかに興味が持たれる。

2aG12

ダイコン一次根のアラビノガラクタンープロテイン生合成に関わるα-L-フコシルトランスフェラーゼ

三沢宏之、牛山 明、円谷陽一、橋本洋一 （埼玉大・理・生化）

高等植物の細胞間マトリックスや形質膜に存在するアラビノガラクタンープロテイン(AGP)は器官の分化・成長に伴い、その糖鎖構造が変化する[1)]。ダイコンの根のAGPは、主構成糖であるL-AraとD-Galの他に、成長の特定段階でL-Fucが結合するのが特徴である。AGPの生合成に関わるα-L-フコシルトランスフェラーゼの諸性質、及びL-Fuc転移生成物について解析した。

ダイコン発芽６日目の一次根からミクロソーム画分を調製し酵素標品とした。酵素反応の受容体はL-Ara*f*α(1→3)D-Gal*p*β(1→6)D-Gal*p*をピリジルアミノ(PA)化法で蛍光標識したオリゴ糖を用いた。反応液は酵素、GDP-Fuc（またはGDP-[^{14}C]-Fuc)、PA化糖鎖を含み、Fuc転移生成物は逆相系HPLC(または液体シンチレーションカウンター)で同定・定量した。

ミクロソーム画分にPA化糖鎖にL-Fucを転移するをフコシルトランスフェラーゼ活性が検出された。その反応の最適条件は、pH 6.8、25°Cであり、5 mM Mn^{2+}、0.1% 界面活性化剤の添加が必要であった。GDP-Fuc及びPA化糖鎖に対するKm値は各々0.08、3.7 mMであった。Fucは受容体非還元末端のAra*f*にα1→2結合で転移され、Native AGPの糖鎖構造と同一であった。本酵素がL-Fucを含むAGP糖鎖の生合成に関与していると考えられる。

1) Hata et al., Plant Physiol., 100 (1992) 388.

一般講演

第２日　３月３０日（火）　午後の部

Ａ 会場　　分子生物学（５）
Ｂ 会場　　分子生物学（６）
Ｃ 会場　　ストレス（４）
Ｄ 会場　　光合成（４）
Ｅ 会場　　光生物学（２）
Ｆ 会場　　細胞骨格
Ｇ 会場　　細胞壁（２）

2pA01

イネ単離胚芽核ゲノムの吸水によるメチル化状態の変化

秦野彰二，山口淳二[1]，平井篤志（東京大・農・放射線遺伝，[1]名古屋大・農・生化学制御）

イネ単離乾燥胚芽，それを 30℃ で 20 時間吸水させたもの，及び，発芽後 2 週間目の子葉より，それぞれ単離核を調製し，アガロースブロック中で巨大 DNA を抽出した．これらを，メチル化に対して感受性をもつ rare cutter を用いて切断し，パルスフィールド電気泳動法によって分画して，エチジウムブロミドで染色し，UVイルミネータを用いて観察した．これによると，他の二者に比して，吸水胚芽では，染色のパターンに著しい違いが見られた．

次に，通常の調製法によって，それぞれの材料より DNA を調製して，*Hpa*II を用いて切断し比較した．その結果，乾燥胚芽及び子葉においては 500 bp 以上にエチジウム染色のピークが見られるのに対して，吸水胚芽では 100 − 200 bp 付近にピークが観察された．また，メチル化に感受性をもつ *Hpa*II 以外の 4 − 5 塩基認識の制限酵素を用いても同様な結果を得ることができたが，メチル化に非感受性の制限酵素では，著しい違いは見出されなかった．

以上の知見を総合すると，イネの単離胚芽が吸水する際には，核ゲノム上の多くのメチルシトシン残基において 20 時間以内に脱メチル化が起きることが示唆される．

2pA02

介在配列を含むイネ亜硝酸レダクターゼcDNA

井田正二，寺田善信[1]，青木秀之　（京都大・食研，[1]江崎グリコ生化研）

イネの栄養生長期においては窒素源としてNH_4^+− Nは有効であるが、生殖生長期においてはNO_3^-− Nの方がより有効に利用される。しかしイネのNO_3^-代謝系の酵素や遺伝子的知見は少ない。我々はイネのNO_3^-代謝系関連酵素の酵素的特性や遺伝子的側面について研究している。ここでは２種類の全長亜硝酸レダクターゼ（ NiR）cDNAの塩基配列について報告する。

KNO_3の添加によって誘導したイネ緑化幼植物の葉と根から、λ gt11 cDNAライブラリーを作成した。NiR cDNA断片をプローブとしてクローニングし、全長NiR cDNAの塩基配列を決定した。イネ葉と根の両cDNAライブラリーには、制限酵素地図の異なる２種類のNiR cDNAクローンが見出された。１つは 596個のアミノ酸を、他のクローンは 627個の読み枠を持つものであった。　想定されるtransit peptide 領域を除いた前者のアミノ酸組成は精製 NiRタンパク質のそれとよく一致した。このクローンの塩基配列（アミノ酸配列）はトウモロコシとホウレンソウの NiRクローンのそれと81%（84%）と61%（70%）の相同性があり、コドンの３番目のG／Cは95.6%である。読み枠の長い NiRクローンは短いクローンに93塩基（nt）が挿入されており、その部位はホウレンソウ NiR遺伝子の３番目の93ntイントロンに対応している。この挿入配列はイネ核ゲノムにも見出された。

2pA03

イネ原形質膜H^+-ATPaseのcDNAクローン（OSA1,OSA2）の解析

大倉哲也、和田雅人[1]、金賢貞、榊原祥清、丸田一成[2]、河村幸雄、笠毛邦弘　（農水省食総研、[1]筑波大生物、[2]農水省生物研）

（目的）高等植物の原形質膜に存在するH^+-ATPaseは、細胞内外のプロトン勾配の維持に重要な役割を果たしている。演者らは前大会においてイネ培養細胞（日本晴、K-1細胞）から２つの原形質膜H^+-ATPase（OSA1,OSA2)をクローニングし、OSA1の塩基配列について報告した。今回は、OSA2を解析しOSA1との比較を行った。

（方法と結果）イネ培養細胞からGTC/LiCl法でRNAを抽出、oligo(dT)カラムでmRNAを精製、cDNAを合成しλgt10 ライブラリーを作製した。真核生物の保存配列をもとにPCRプライマーを合成、cDNAを鋳型にPCRを行い、増幅された断片（0.8kb）をプローブにしてλgt10 ライブラリーをスクリーニングしてOSA1とOSA2のクローンを得た。OSA2のインサートサイズはOSA1と同じ３kbであったが、OSA2の３'非翻訳領域は２５０bpとOSA１に比べて長く、この非翻訳領域は、他の種の原形質膜プロトンATPaseの同領域との間に相同性が認められなかった。また、OSA2にはOSA1に認められた７３１ー７５６残基の特異的な配列は存在せず、むしろタバコ、トマト、アラビドプシスの配列に高い相同性を示した。しかし、現在得られているOSA2は原形質膜H^+-ATPaseの全長より約２４０bp欠損しており、genomic DNAからN末端近傍の解析を行っている。サザン、ノーザン解析の結果についても併せて報告する。

2pA04

トランスジェニック植物におけるイネ*wx*座遺伝子の組織特異的発現

平野博之[1]，松村健[2]，田林紀子[2]，谷田昌稔[2]，米田好文[3]，佐野芳雄[1]（[1]国立遺伝研，[2]北海道グリーンバイオ研，[3]東大・遺伝子）

イネの*wx*遺伝子座は種子胚乳中のアミロースの合成を支配している。私たちはクローン化したDNAおよびその遺伝子産物（Wxタンパク質）に対する抗体を用いて,*wx*座遺伝子が胚乳および花粉で組織特異的に発現することを示してきた。機能や発生上の起源、核相の全く異なる二つの組織において、*wx*座が機能するための分子機構を解明することは非常に興味深い。

その解明を目的として、*wx*座の発現調節領域をGUS遺伝子に連結した融合遺伝子をイネおよびペチュニアに導入しその形質転換植物を作製した。その結果、*wx*座の上流約4kbのDNAは、イネの胚乳と花粉での組織特異的発現にとって充分であることが判明した。しかしながら、全く同様の融合遺伝子をペチュニアに導入した場合には、花粉でのみ発現が見られ、胚乳や他の組織では発現しなかった。イネの胚乳で特異的に発現を制御するシス因子は、胚乳の未発達な双子葉植物のペチュニアでは機能しないと考えられる。

2pA05

イネショ糖リン酸合成（SPS）遺伝子の１次構造

坂本正弘、里澤智美、藤村達人
（三井東圧化学ライフサイエンス研）

ショ糖リン酸合成酵素（SPS）はフルクトース-6-リン酸とUDPーグルコースからショ糖リン酸を合成する酵素であり、炭酸同化産物の分配に関与していると考えられている。近年の研究により、その活性はタンパク質のリン酸化によって制御されており、また代謝中間物や光によっても影響を受けることが明かとなっている。

われわれは、SPSの遺伝子レベルでの解析をおこなうために、イネのSPS遺伝子のクローニングをおこないその全塩基配列を決定したので報告する。

トウモロコシSPScDNAの塩基配列をもとにPCR用のプライマーを合成し、イネ全DNAを鋳型としてPCRをおこなった。その結果、イネSPS遺伝子由来と考えられるDNA断片を増幅できた。この断片をプローブとしてイネ・ゲノミックライブラリーをスクリーニングしたところ1個のポジティブ・クローンλ6192が得られた。このクローンはほぼSPS遺伝子の全領域をコードすると考えられたので、全塩基配列を決定した。その結果、イネSPS遺伝子は12個のイントロンによって分断されていた。また、トウモロコシSPScDNAに対応するコーディング領域での相同性は82%あり、またアミノ酸での相同性は84%であった。現在、SPS遺伝子の発現について検討中である。

2pA06

イネカタラーゼ遺伝子の転写調節機構：イネプロトプラストにおけるトランジェント発現による発現制御領域の解析

肥後健一、肥後ひろみ（農水省・生資研）

カタラーゼは動植物・微生物界に広く存在し、過酸化水素を水と酸素に分解して無毒化する。私たちは既にイネの登熟期に種子で発現しているカタラーゼcDNAとそれに対応すると思われる遺伝子を単離し、構造決定した。今回は、このカタラーゼ遺伝子の発現制御に関わるシス領域について検討した。単離した遺伝子の5'上流側がプロモーターとして必要な配列をすべて含んでいるかどうかをまず調べるために、翻訳開始点のすぐ前で切り出した約1.5kbp断片をレポーター遺伝子（GUS）とNOSターミネーターに融合してプラスミドを構築した。これをタバコ葉肉細胞あるいはイネ培養細胞（Oc）プロトプラストにエレクトロポレーションで導入し、GUSのトランジエント発現活性を測定した。タバコプロトプラスト中ではカタラーゼプロモーター活性は、エレクトロポレーション後の培養２日目には１日目の約２倍に上昇したが、それでも対照（CaMV35Sプロモーター・GUS融合プラスミド）の1/5程度であった。イネプロトプラスト中では培養１日目ではCaMV35Sプロモーターもカタラーゼプロモーターも同じ程度に低かった。培養２日目にはCaMV35Sプロモーターは３倍程度に上昇したが、カタラーゼプロモーターは1.5倍程度しか上昇しなかった。現在このプロモーターの発現効率を高める条件を検討するとともに、デレーション断片を作成して解析を進めている。

2pA07

イネ　アデニレートキナーゼ遺伝子の発現解析

川合真紀、梅田正明、内宮博文　（東大・応微研）

アデニレートキナーゼ（EC 2.7.4.3　以後AKと省略）はATP、ADP、AMPの相互変換を触媒し、アデニンヌクレオチドのホメオスタシスをつかさどる酵素である。我々はこれまでに、２種類のAK遺伝子をイネcDNAライブラリーより単離し、その構造解析を行なってきた。今回、cDNAのコーディング領域をプローブとして用い、環境ストレス下でのAK遺伝子の発現応答について解析を行なった。

その結果、AK遺伝子の発現が種々の外的ストレスにより転写レベルで誘導されることが、ノーザン解析により明らかとなった。イネ培養細胞を用いてシュークロースによる発現誘導についてさらに解析を進めた。その結果、培地中のシュークロース濃度が１０%のとき最も高い発現が見られた。また、その他の糖（グルコース、ソルビトール、マンノース）ではシュークロースほど強い発現誘導は起こらなかった。

さらにタンパク質レベルの解析を行なうため、大腸菌内でAKタンパク質を大量発現させ、抗体を作成した。この抗体を用いたティッシュプリント解析により、AKタンパク質の維管束系での局在が明らかとなった。

2pA08

植物 Nucleoside Diphosphate Kinase cDNA の構造解析

矢野　明、梅田正明、内宮博文　（東大、応微研）

Nucleoside Diphosphate Kinase (NDPK:EC 2.7.4.6) はヌクレオシド二リン酸と三リン酸の間で、γ-位のリン酸を交換する酵素である。この酵素をコードする遺伝子はヒトでは *nm23* ショウジョウバエでは *awd* として知られており、癌転移や細胞分化のプロセスにおいて、その働きが注目されている。

我々は、NDPKの高等植物における役割を明かにするため、イネ cDNA の大量解析によってその cDNA を得た。本 cDNA クローンをプローブとして、イネカルス由来のライブラリーからNDPKをコードするいくつかのcDNAを単離し塩基配列を決定した。その結果、イネとヒト、ショウジョウバエ、ラット、マウス等のNDPK遺伝子の塩基配列とを比較すると、核酸、アミノ酸レベルともに約60%のホモロジーを示した。アミノ酸配列については、他の生物のNDPK遺伝子間で保存されている領域がイネにおいても同様に認められた。ATP結合領域やリン酸化されるヒスチジン残基の存在からNDPK遺伝子が生物種を越えて高度に保存された構造を持つことが明らかになった。

2pA09

イネ　ホスホグルコースイソメラーゼ遺伝子の構造と発現解析

野末文雄、梅田正明、内宮博文　　（東大･応微研）

ホスホグルコースイソメラーゼ（EC 5.3.1.9; 以後PGIと略す）は、解糖系においてグルコース−6−リン酸とフルクトース−6−リン酸との間の相互変換を触媒する酵素であり、原核、真核を問わず、あらゆる生物において、生理学的に重要な役割を果たしているものと思われる。また、PGI遺伝子と、神経の成長促進因子ニューロロイキンの遺伝子とは、3' 側で高いホモロジーを有することも知られている。

イネでは、3種類のアイソザイムが知られ、そのうちの2種類は細胞質に、残りの1種類は葉緑体に存在するが、それらの遺伝子は未だ単離されていない。今回、我々は、イネのカルス由来のcDNAライブラリーから細胞質に存在する2種類のアイソザイムのうちの1つをコードする遺伝子を単離することに成功し、その塩基配列を決定した。そこから予想されるPGIのアミノ酸配列を用いて分子系統樹を作成したところ、マラリア原虫の一種と近縁であることが判明した。

また、ノーザン法を用いて各種のストレスを与えたイネにおけるmRNAの蓄積量を調べることにより、PGI遺伝子の発現様式を解析したところ、いずれの場合も発現の抑制は見られなかった。

2pB01

バレイショKunitz型プロテアーゼインヒビター遺伝子のクローニング

山岸和敏、永谷 工、深瀬孝子、三森クリスチーナ、藤野介延、幸田泰則、喜久田嘉郎（北大・農・植物）

我々は、貯蔵器官形成機構の解明をめざし、バレイショ塊茎をモデルとして研究を進めている。そこで、ディファレンシャルハイブリダイゼーション法により、Kunitz型プロテアーゼインヒビター（PKPI）のcDNAを単離した（Plant Mol Biol, 17: 287-288, 1991）。PKPIは、パタチン、プロテアーゼインヒビターI、IIとともに塊茎の主要タンパク質を構成しており、その蓄積は、タンパク質、mRNAレベルともに塊茎特異的であった。また、貯蔵塊茎組織切片中のPKPI mRNAは、エイジングにともない消失するが、ジャスモン酸添加により、発現が誘導されることも確認された（Plant Mol Biol, in press）。

さらに、転写レベルでの発現制御機構を解明するため、PKPI遺伝子のクローニングを行った。ゲノムサザンブロット分析の結果は、PKPI遺伝子が、少数多重遺伝子族に属することを示した。また、Inverse PCR法、Nested PCR法により遺伝子クローニングを行い、塩基配列を決定した。この遺伝子の5'上流域（約1kb）とGUSレポーター遺伝子との融合遺伝子を作成し、バレイショプロトプラストでのトランジェントアッセイにより、発現の解析を進めている。

2pB02

馬鈴薯のクロン　したクニッツ型トリプシンインヒビターの発現特性

三森クリスチーナ、山岸和敏、喜久田嘉郎（北海道大・農・作物生理・札幌　060）

馬鈴薯塊茎の貯蔵蛋白質に多数のプロテアーゼ・インヒビターが含まれるが、クニッツ型トリプシン・インヒビター(PTI）に関する研究は比較的最近の事である。このタンパク質の一族の分子量は約22Kダルトンで、アミノ酸配列、及び塩基配列の相同性の著しく高いことが知られている。

私達は、これらの一つを大腸菌発現ベクターにクロン化し、大腸菌で発現されたタンパク質を精製し、抗体を作成した。組織培養の馬鈴薯植物を塊茎形成誘導開始したのち抗体との反応は10日目から見られ、22日には発現が最大であった。

畑で作られた塊茎のタンパク質とこの抗体の反応は塊茎形成の初期にみられたが成熟した塊茎との反応はなかった。

アフィニティーカラムに抗体を用いて、上述のタンパク質を純化し、インヒビター活性を測り、大腸菌で作られたタンパク質のインヒビター活性と比較した。

このトリプシンインヒビターの機能はまだ明らかではないが、少なくとも塊茎形成のマーカーとして利用できることがこの研究で明らかになった。

2pB03

ジャガイモα−グルカンホスホリラーゼ・アイソザイム遺伝子の5'−上流域の解析

峯 利喜、森 博幸、中野憲一、谷澤克行、福井俊郎（阪大･産研）
石毛光雄（農水省・生資研）

ジャガイモには、基質に対する親和性が大きく異なる2種類のα−グルカンホスホリラーゼ･アイソザイム（L型及びH型）が存在し、緑葉細胞内では両者がほぼ同量発現しているのに対し、塊茎細胞内ではL型のみが著しく高発現している。われわれは、既にこの塊茎特異的なL型アイソザイムの高発現が、そのmRNAへの転写量の調節によるものであることを明らかにしており、本アイソザイムのゲノム遺伝子の5'−上流域には、転写を促進するシス配列が存在すると考えられた。本研究では、両ホスホリラーゼ・アイソザイムの器官特異的な発現機構を解明するため、両酵素のゲノム遺伝子中の5'−上流域塩基配列を解析するとともに、このシス配列を同定することを目的としている。まず、緑葉のゲノムDNAライブラリーより、両アイソザイムに特異的なcDNA断片をプローブとして用いることにより、それぞれの遺伝子の5'−上流域をクローニングした。塩基配列を解析した結果、L型アイソザイムの遺伝子上流域には、ジャガイモ塊茎の主要貯蔵タンパク質の一種、パタチン（クラスII）の遺伝子上流域の繰り返し配列に高い相同性を示す配列が認められたが、H型酵素の遺伝子上流域にはそのような配列は認められなかった。次に、両遺伝子断片をGUSリポーター遺伝子の上流に接続し、Tiプラスミドを利用してジャガイモに導入した。得られたトランスジェニック体の各組織におけるGUS活性を測定した結果、L型酵素の遺伝子上流域断片をもつクローンを感染させた植物体の各組織にのみ高発現がみられ、特に塊茎の粗抽出液中において、パタチン（クラスI）の発現量に匹敵するほどの高いGUS活性が検出された。

2pB04

トウモロコシ・グルタミン合成酵素遺伝子群の構造解析および大腸菌発現系の構築

榊原　均、清水仁志、杉山達夫（名古屋大・農・農化）

グルタミン合成酵素(GS)は多重遺伝子族を形成していることが多くの高等植物種で報告されており、特にcytosol型GS(GS1)は複数のGS1遺伝子産物から構成されるヘテロ８量体として存在すると考えられている。これまでに我々はトウモロコシにおいて器官の違いや光、窒素等の外環境の変化に応じてGS1のサブユニット組成が変化し得る可能性を示唆してきた。この現象に対する理解を深めるため、(1)個々のGS分子種をコードする遺伝子の構造解析、及び(2)各GS分子種の酵素学的特徴の解析を目的とし以下の実験を行なった。(1)２種のinbredとそれらのF1 hybridの核DNAを用いたサザン解析から、６種のGS遺伝子は互いに異なる遺伝子座位にそれぞれ１コピーずつ存在することが明らかとなった。またF2 hybridを用いたRFLP解析からは、これら遺伝子同志の有意な連関はなく、各GS1遺伝子は異なる染色体か、同じ染色体でも連鎖を示さないほど離れた位置に存在すると予想された。(2)各々のGS cDNAを大腸菌発現ベクターへ組込み、形質転換株をIPTGで誘導したところ可溶性で活性を持つトウモロコシGS蛋白質の発現が確認された。これにより植物体からの抽出では得ることが困難なGS1各分子種のホモ８量体を得ることが可能になり、これらの酵素学的特徴を調べることにより、GSサブユニット組成変化がGS酵素活性にどの様な影響を与えるのかを明らかにすることができるものと期待できる。現在、大量発現及び精製方法について検討中である。

2pB05

チャ Camellia sinensis のＣＨＳ遺伝子の発現解析

竹内敦子、松元　哲、早津雅仁（農水省・野菜茶試）

チャの新芽におけるカテキン量は乾燥重量あたり10％以上を占める。フラボノイド化合物のひとつ、カテキンの蓄積は、チャ特有の現象と考えられる。我々は、カテキン合成系および合成系の制御機構の解明を目的とし、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（ＰＡＬ）およびカルコンシンターゼ（ＣＨＳ）の分子生物学的なアプローチを試みている。

チャ Camellia sinensis の葉のｃＤＮＡライブラリーより３種類のＣＨＳｃＤＮＡを単離した。全翻訳領域を含む各クローンの塩基配列を決定し、比較した。他のＣＨＳ塩基配列の報告と同じく、翻訳領域の相同性は、塩基レベルで80％以上と非常に高かった。また、ゲノミックサザン解析の結果より、単離した３種類の他にもＣＨＳ遺伝子の存在が示唆された。C. sinensis のＣＨＳ遺伝子は、ペチュニア、インゲンマメのように、複数の遺伝子から構成されていることがわかった。器官における発現を解析すると、若い葉・茎に多く、成熟した葉・茎および、つぼみ・花には少なかった。ＣＨＳがカテキン合成系の初期段階に関与しているので、若い葉・茎にＣＨＳ発現量が多かったことは、カテキン量が多いことに合致している。そこで、カテキン合成系の制御機構を解明する上で、ＣＨＳをモデル酵素と考え、若い葉におけるＣＨＳ遺伝子の発現を解析することにした。

2pB06

スコポラミン生合成遺伝子の発現解析

梶矢弘美、鐘ヶ江健、橋本隆、山田康之　（京大・農・農化）

Hyoscyamine 6β-hydroxylase(H6H;EC1.14.11.11)は、スコポラミンを主アルカロイドとして蓄積する植物の培養根及び植物体のひげ根の内鞘細胞で特異的に発現している(1)。今回、Ｈ６Ｈ遺伝子プロモーターによる遺伝子発現制御機構の解析を行った。

まず、数種のナス科の植物における発現様式の比較を行った。ヒヨス(Hyoscyamus niger)Ｈ６Ｈ遺伝子プロモーターとＧＵＳ遺伝子を融合し、バイナリーベクター法によって植物に導入した。得られた形質転換植物体又は培養根のＧＵＳ組織化学染色を行った。スコポラミンを主アルカロイドとして蓄積するヒヨス属の培養根では内鞘細胞と根端でのみＧＵＳ活性が認められたが、ヒヨスチアミンを主アルカロイドとして蓄積するベラドンナの培養根とニコチンを生合成するタバコ植物体では根端でのみ発現が認められた。次に、内鞘細胞特異的発現を制御するシス領域の解析を行った。５’欠失変異プロモーターとＧＵＳ遺伝子との融合遺伝子を用いて解析した結果、ヒヨスにおける内鞘細胞特異的発現を制御するシス配列は、非常にＡＴ含量の高い領域を含む転写開始点上流423bp以内に存在することが示唆された。

1)Hashimoto,T.et al.,J.Biol.Chem.,266,4648-4653(1991)

2pB07

クラミドモナス；カーボニックアンヒドラーゼの２つの遺伝子の発現調節

立木光[1]、Maribel L. Dionisio-Sese[2]、藤原祥子[3]、福澤秀哉[4]、都筑幹夫[5]、宮地重遠[2]　([1]新日本製鐵㈱・先端技術研究所、[2]海洋バイオ研、[3]微工研、[4]京大・農、[5]東大・応微研)

単細胞緑藻クラミドモナス（Chlamydomonas reinhardtii）の細胞表層に存在するカーボニックアンヒドラーゼ（ＣＡ）をコードする遺伝子は２つあり（ＣＡＨ１とＣＡＨ２）、低いＣＯ$_2$濃度条件で発現するＣＡはＣＡＨ１に由来すること（ＣＡ１）を既に報告した。一方、ＣＡＨ２は高いＣＯ$_2$濃度条件でも転写されることが明らかになったので、そのタンパク質が実際に合成されているかどうかを調べた。５％ＣＯ$_2$条件で生育した細胞（高ＣＯ$_2$細胞）からＣＡを単離し、その部分アミノ酸配列を決定したところ、ＣＡＨ２に由来するものであった（ＣＡ２）。このことから、高ＣＯ$_2$細胞でわずかに認められていたＣＡ活性は、ＣＡ１の残存タンパク質ではなく、高ＣＯ$_2$条件で新たに合成されたものであることが明らかになった。そこで、２つの遺伝子の転写とＣＯ$_2$濃度の関係を調べたところ、ＣＡＨ１は０.０３％から０.３％とＣＯ$_2$濃度が高まるにつれて、その転写量が減少するのに対し、ＣＡＨ２は逆に増加した。こうした結果から、ＣＡ２は、ＣＡ１の発現が抑えられた時に相補的に発現することが明らかになった。このことは、細胞が高いＣＯ$_2$濃度条件下でも細胞表層にＣＡを必要としている可能性を示唆している。

2pB08

酵母S. cerevisiaeの第３番染色体DNA長の延長と細胞増殖に及ぼす影響

原田賢一、谷本峰規、渡辺智治、久富泰資、壺井基夫
（福山大・工・生物工学）

一般に報告されているS. cerevisiaeの第３番染色体DNA長は約350kbpである。しかし、私達の研究室保存のホモタリック株MT98a-3Dでは同染色体DNA長が450kbpであった。また、この株は減数分裂の過程で同染色体DNA長が変動を起こし、その胞子クローンでは同DNA長が約100kbp単位の多型を示す。本研究では、交雑及び四分子分離により第３番染色体DNA長の延長を行い、染色体DNA長と細胞増殖の関係を調べた。

先ず、交雑・四分子分離によりMT98a-3D株の持つ450 kbpの第３番染色体をヘテロタリックなａ型及びα型１倍体株に導入した。それらの株の交雑・四分子分離を繰り返すことにより、第３番染色体DNA長が380、474、566、663、748、837、940kbpの株を調製することができた。この結果から、同染色体DNAの変動の単位は96kbpであることが明らかとなった。

次いで、これらの株を完全培地(YEPD)で培養し、その生育を調べた結果、長い第３番染色体DNAを持つ株では細胞周期が長くなり、定常期の細胞数も減少することが観察された。

2pC01

水欠乏、マグネシウム欠乏時の生葉中の過酸化水素生成

田中　浄、神崎明美[1]（国立環境研究所、[1]東邦大学・理）

植物が水欠乏、マグネシウム欠乏下におかれると光合成炭酸固定系が阻害されて光化学系の還元力が酸素還元に使われ活性酸素が生成すると考えられている。ここではこれらのストレス時の植物の生葉レベルの過酸化水素の生成について検討した。

鉢植えホウレンソウの水供給を中断することにより、または葉の切片を放置することにより水欠乏のストレスを与えた。マグネシウム欠乏はインゲンの水耕液中のマグネシウムを抜くことにより行った。一定時間ごとに葉を採取し、液体窒素中で過塩素酸で過酸化水素を抽出した。中和後、アニオン交換樹脂で過塩素酸除去後、チタンーレソルシノール溶液によって発色させた。

生葉において非ストレス状態でも過酸化水素が一定量認められたが、水欠乏やマグネシウム欠乏で数倍増加した。この時、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ等の抗酸化酵素活性が数倍増加した。また、カタラーゼの顕著な阻害が認められた。

2pC02

モノデヒドロアスコルビン酸ラジカルのチラコイド膜でのフェレドキシン依存光還元

三宅親弘　浅田浩二　（京都大・食研）

チラコイド膜で光によって生成したH_2O_2はチラコイド膜結合アスコルビン酸(AsA)ペルオキシダーゼ(tAPX)によって消去され、このときAsAは1電子酸化され、モノデヒドロアスコルビン酸(MDA)ラジカルが生成する。ここでは、MDAレダクターゼの関与なしにMDAラジカルがチラコイド膜により光還元されること、この還元が光化学系Iでフェレドキシン（Fd)に依存して進行することを証明したので報告する。MDAラジカルをAsAオキシダーゼで生成させ、EPRでこの濃度を連続的に測定した。チラコイド膜によるMDAラジカルの光還元はDCMU,DBMIBで阻害されたが、これにAsA/DCIPを加えると回復した。またAsA/DCIPを加えたときのみMDAラジカルは赤外光照射により光還元された。MDAラジカルの光還元はフェレドキシン（Fd)に依存し、MDAラジカルに対するKm値もFdによって低くなった。これらの結果から、MDAラジカルは、チラコイド膜光化学系IでFdにより速い速度で光還元されることが明らかとなった。

2pC03

キュウリモノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼのｃＤＮＡクローニング

佐野智、浅田浩二　　（京都大・食研）

葉緑体での光化学反応にともない生成したH_2O_2をアスコルビン酸ペルオキシダーゼが消去する際、AsAは１電子酸化されモノデヒドロアスコルビン酸(MDA)ラジカルとなる。MDAラジカルはNAD(P)Hを電子供与体とするMDAレダクターゼによってアスコルビン酸に再生される。この酵素の分子的性質を明らかにするためcDNAクローニングを行った。

キュウリ果実から精製したMDAレダクターゼの抗体を作成すると共に、すでに決定した部分アミノ酸配列[1990年度年会]をもとに2種のオリゴヌクレオチドプローブを合成した。発現ベクターλgt22Aを使ったキュウリ子葉cDNAライブラリーを抗体スクリーニングして得られたクローンの内、合成プローブとハイブリダイズした3種について塩基配列を決定したところ、1,299 bpのORFを見い出した。

このORFから推定される翻訳産物の分子サイズは47 kDaであり、精製酵素のものと一致したが、アミノ酸組成は両者で異なっていた。また、タンパク質から決定した部分アミノ酸配列は、すべてORFからのアミノ酸配列に並置できたが、いくつかの残基に置換がみられた。キュウリ精製酵素のN末端は修飾されており、そのアミノ酸配列は未決定であるが、ORFから予想されるN末端アミノ酸配列はダイズ根粒の酵素のN末端と非常に高い相同性があった。また、フラビンを持つ酸化還元酵素に共通なFAD結合部位およびNAD(P)H結合部位のモチーフが、ORFから予想される一次構造に見い出された。これらのことから、このクローンはMDAレダクターゼのアイソザイムをコードしていると考えられる。

2pC04

オゾンと接触したシロイヌナズナの葉におけるサイトゾル型アスコルビン酸ペルオキシダーゼの増加

佐治　光、久保明弘、田中　浄、近藤矩朗
（国立環境研究所）

オゾンと接触した植物の葉中で活性酸素解毒系酵素の一つであるアスコルビン酸ペルオキシダーゼ（ＡＰ）の活性が増加することがわかっており、植物の防御反応の一つと考えられている。一方植物には異なる構造を持ったＡＰアイソザイムが細胞内の異なる場所に存在することがわかっている。私たちは以前これらのアイソザイムについての研究を行うためホウレンソウのＡＰに対する単クローン性抗体を作製した。

本研究では、まず植物の細胞分画を行い、得られた各画分についてイムノブロッティングを行うことにより、これらの抗体が、サイトゾルに存在するＡＰアイソザイムと特異的に結合することを明らかにした。さらにその抗体を用いて測定を行った結果、オゾン（0.1ppm）との接触によりシロイヌナズナの葉中でサイトゾル型ＡＰアイソザイムの量が増加することがわかった。

2pC05

チャ葉細胞質型アスコルビン酸ペルオキシダーゼの精製と性質

尼子克己　浅田浩二　（京都大・食研）

植物の過酸化水素消去に機能しているアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)は細胞質、葉緑体ストロマおよびチラコイド膜に局在するアイソザイム(cAPX, sAPX, tAPX)がある。今回、チャ葉より cAPX を精製し、その分子的性質を調べたので報告する。

精製は、硫安分画および疎水クロマトグラフィー、ゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィーにより行った。cAPX は、sAPX に対しゲルろ過でより高分子側（分子量58,000）、イオン交換クロマトグラフィーでより低イオン強度側で溶出し、最終比活性は 793 μmol AsA oxidation min^{-1} mg $protein^{-1}$ であった。SDS-PAGE で分子量 29,000 の単一バンドを示すことから、cAPXはホモダイマーである。cAPX は 酸化型で 402 nm, 502 nm, 639 nm、還元型で 422 nm, 556 nm にピークを持ち pCMB, DTNB, KCN および NaN_3 により失活した。基質特異性はグアヤコールペルオキシダーゼより高く、sAPX, tAPX より低かった。またアスコルビン酸除去によって失活するが、その速度は sAPX, tAPX に比べて遅く、この性質は他の植物の根の APX に共通する。さらに cAPX のＮ末端アミノ酸配列はエンドウ、シロイヌナズナ cAPX と相同性が高く、sAPX およびホウレンソウ tAPX との相同性は低かった。

2pC06

ヤエナリ芽生え胚軸組織の^{1}Ｈ－ＮＭＲ緩和時間(T_1)に及ぼす酸素ストレスの影響

井上眞理、山崎秀雄[1]、吉村和久[2]
(九州大・教養・生物、[1]琉球大・理・生物、[2]九州大・教養・化学)

ヤエナリ(Vigna radiata)黄化芽生え下胚軸の^{1}Ｈ-ＮＭＲ縦緩和時間(T_1:生体内の水の動的な存在状態を表すパラメーター)は、高酸素分圧ストレスの直後に激減するが、３０分以内に徐々に回復し初期値に戻った。この現象は熱変性した組織では認められなかった。生組織の不溶性画分において、予めＳＯＤ、アスコルビン酸、チロンなどを与えるとT_1値は酸素曝露後も減少しないのに対し、可溶性画分では効果がなかった。これは、これらのラジカルスカベンジャーの投与によって酸素曝露後に膜系で生じたO_2^-が直ちに消去されていることにT_1の変化が関連していることを示唆する。以上の結果から、酸素曝露によるインタクトな組織のT_1値の減少･回復は生体内におけるO_2^-生成･消去系の一連の過程を反映していることを示唆し、T_1測定はO_2^-のもつ常磁性を利用して、O_2^-レベルのモニターに有効であると思われる。

2pC07

低酸素下におけるイネ・ムギ根の酸素吸収

池田順一、中村俊樹　（農水省・東北農試）

耐湿性の違いは、低酸素下における酸素利用効率の違いに起因すると仮説をたて、これを調べるため、イネとムギの根の低酸素下における酸素吸収を比較した。イネとムギの根を細かく切り、酸素電極によって酸素吸収曲線を記録し、それより、根の酸素に対するＫｍ値を求めた。イネのＫｍ値は0.328ppmで、ムギの0.574ppmよりも低く、酸素に対する親和性が高いことが示された。このことがイネが低酸素下でも生長できる要因と考えられた。酸素親和性が異なる原因を調べるため、根から粗ミトコンドリア画分を分離し、チトクロームｃ存在下の酸素消費を測定することにより、チトクロームｃオキシダーゼのＫｍ値を比較した。イネは0.072ppm、ムギは0.061ppmであり、これについては、差はみられなかった。これより、酸素親和性の違いは、組織あるいは細胞壁の酸素拡散抵抗の違いによることが示された。

2pC08

アルギン酸リアーゼ分解物による植物の低酸素ストレスに及ぼす効果

梅村賢司、友田善久、平山匡男、足立堯、日高秀昌
（明治製菓、生物科学研）

〈目的〉アルギン酸にアルギン酸リアーゼを作用させて得られた分解物（アルギンオリゴ®）は植物に対して種々の生理作用を示す。[1)]本研究では環境ストレス、特に低酸素ストレスにおけるアルギンオリゴ®の作用を明らかにすることを目的とした。

〈方法〉水耕栽培における大麦幼根の伸長阻害を低酸素ストレスのモデル系とし、アルギンオリゴ®を施用して栽培した時の幼根伸長活性を無添加区と比較することによりストレス軽減作用の指標とした。またアルギンオリゴ®が低酸素ストレス耐性のキーエンザイムであるＡＤＨ(alcohol dehydrogenase)に及ぼす影響を調べるため、大麦幼根中の可溶性タンパク質画分を用いて酵素活性の測定とドットブロットハイブリダイゼーション法によるＡＤＨ ｍＲＮＡの定量を行った。

〈結果〉発芽処理した大麦種子を低酸素ストレス条件下で栽培したところ、アルギンオリゴ®の施用（３００ｐｐｍ）により幼根伸長率の向上による低酸素ストレス軽減作用が認められた。また、アルギンオリゴ®施用区の大麦幼根中のＡＤＨ酵素活性は無添加区と比較して栽培３日目以降に２倍以上の活性を示した。さらに、ＡＤＨ ｍＲＮＡの定量結果より、アルギンオリゴ®によるＡＤＨ酵素活性の誘導は転写レベルでの作用であると考えられた。

１）友田善久、安村利雄、平山匡男、足立堯、日高秀昌
日本農芸化学会１９９２年大会　講演要旨集　ｐ５７

2pC09

低酸素ストレスによる植物培養細胞の液胞ｐＨの変化

矢崎芳明、坂野勝啓　（農水省・生物研）

ニチニチソウ(Catharanthus roseus)、タバコ(Nicotiana tabacum var. BY-2)およびイネ(Oryza sativa var. musasikogane)の各培養細胞は低酸素ストレス（酸素通気停止・二酸化炭素通気）下で、いずれも細胞質が酸性化するが、イネの細胞だけは細胞質の酸性化の度合が小さい（1992年度植物生理学会年会）。今回は^{31}Ｐ-ＮＭＲを用いてこれらの培養細胞に低酸素ストレス（酸素通気停止・窒素通気・窒素通気停止）を与えた場合の液胞ｐＨの変化に着目して測定し、比較した。

窒素通気では、どの培養細胞でも細胞質ｐＨの酸性化が見られたがｐＨ７以下に下がることはなく、液胞ｐＨにも大きな変化は見られなかった。窒素通気を停止すると細胞質ｐＨはさらに酸性化する。この時の液胞ｐＨの変化は、細胞によって違いがあった。すなわち、ニチニチソウやタバコでは液胞はアルカリ化するのに対して、イネでは変化しないか、わずかに酸性化した。この液胞ｐＨの変化は酸素通気を停止した場合にも同様であった。

従って、イネ培養細胞の液胞膜のH^+輸送系は低酸素かつ二酸化炭素が蓄積する環境下でもあまり影響を受けず、液胞膜内外のH^+濃度勾配を維持できるものと考えられる。そして、液胞ｐＨをアルカリ化させない（細胞質にH^+を漏出させない）ことが低酸素ストレスに対する耐性と関係があるものと示唆される。

2pD01

変形S2-及び変形S3-状態に於けるCa^{2+}-除去光化学系IIの示す２つのEPRシグナルの起源について。

楠　正美　(明大理工物理)

水分解酵素系の補因子の１つ，Ca^{2+}イオン，を除去した光化学系IIは、活性な酸素発生系のS2-状態に対応する変形S2-状態に於いて、g=2.0を中心に55-65Gの平均間隔で分布した26本以上の超微細構造、即ち、”変形マルチライン”と呼ばれるEPRシグナルを示す。このシグナルは、S2-状態と同じ価数状態にあるMn(III,IV,IV,IV)-テトラマーがCa^{2+}-除去によって歪み、Mnスピン間の超交換相互作用が適当に変化して、２つの可能なスピン配置ベクトル、$\phi1(S_{ab}=1/2,S_{cd}=0)$と$\phi2(S_{ab}=1/2,S_{cd}=1)$、で展開されたスピン波動関数、$\Phi(S_{abcd}=1/2)=\cos\theta\ \phi1+\sin\theta\ \phi2$, に対する混成角θが約38.3°(S2-状態)から約46°(変形S2-状態)に変化したものとして説明出来る。更に、この変形マルチラインシグナルは、0°Cでも暗所で数時間は安定であるが、0°C近くで光照射すると消失し、新たにg=2.004を中心に130-164G幅の二重項構造を持つシグナルが出現する。このシグナルは、Mnクラスターからかなり離れた$His^+\bullet$ (Boussac et al., 1990)あるいは$Y_Z^+\bullet$ (Hallahan et al., 1992)等のアミノ酸ラジカルに由来するものと一般には信じられているが、これはMn(III,IV,IV,IV)-テトラマー中の強い反強磁性ダイマーMn(III,IV)に架橋した(HOHOH)$\bullet$か(HOOH)$\bullet$等のラジカルが出すシグナルである可能性が高いことを本講演で示す。換言すれば、S3-状態及び変形S3-状態に於いて最初の水の酸化反応が起こったものと考えられるが、変形S3-状態に於いてのみ130-164G幅のシグナルが観測されるための条件の１つは上記θがCa^{2+}-除去によって約60°となることである。Mnクラスターの立体構造を規定するもう１つの条件については講演で述べる。

2pD02

光化学系IIコア複合体での水分解系の光活性化

田村典明、香月良江、蒲地浩之[1]、奥達雄[1]、岡山繁樹[2]
（福岡女子大・生物、[1]九大・農・林学、[2]九大・教養・生物）

水分解系の機能単位は、現在のところ光化学系II膜内在性タンパク質（４７ｋＤａ／４３ｋＤａ／Ｄ１／Ｄ２／チトクロムｂ５５９）とクロロフィル・マンガン・キノン・鉄といった補欠分子族から構成されていると考えられている。しかし、水分解系で触媒として働くマンガン原子が光化学系II反応中心であるＤ１／Ｄ２のカルボキシル基やヒスチジン残基に配位していることが示唆されてきているので、酸素発生能をもつより小さい機能単位が考えられる。そこで、マンガンを欠いた光化学系IIコア複合体に再びマンガンを再結合させ、水分解系を再構築することを試みた。

酸素発生能を持つ光化学系II標品（0.5 mgChl/ml）を１％スクロースモノラウレート（ＳＭＬ）で暗所下１時間インキュベートした。その後、遠心して得られた上清を陰イオン交換クロマトカラム（DEAE-トヨパール６５０Ｍ）に吸着させ、５０－３００ｍＭのＮａＣｌ濃度勾配をかけた。この時、１５０ｍＭＮａＣｌ近傍で溶出してきたピークが、LHCPや４３ｋＤａクロロフィルタンパク質を欠いた４７ｋＤａ／Ｄ１／Ｄ２／チトクロムｂ５５９の主な４種のポリペプチドから構成されているコア標品であることが分かった。この標品を、ｐＨ５．３ DCIP存在下で光活性化処理を施したところ、２０－５０ μmoles O2/mgChl·h 程度の活性を示す酸素発生能の回復がみられた。

2pD03

ヒドロキシ尿素の光化学系IIでの光酸化と電子伝達の阻害

川本邦男、陳功祥、真野純一、浅田浩二　（京都大・食研）

タンパク質中のチロシンラジカルを消去できる、ヒドロキシ尿素（HU）を用い、光化学系（PS）II、D1タンパク質のチロシン残基（Yz）の環境について調べた結果を報告する。

HUは、PS II膜によってアミノキシラジカル（HU·）に光酸化されることを、室温でのESRの測定により証明した。この光酸化は、2,6-dimethylbenzoquine (DMBQ) によって促進され、Tris処理によっては部分的に、carbonyl cyanide *m*-chlorophenylhydrazoneでYz→P680の電子伝達を阻害すると、ほぼ100%阻害された。また、PS II膜のHUに対するaffinityは、Tris処理膜に比べて低くなった。以上から、HUは、PS II膜ではおもに水酸化部位で、Tris処理膜ではYzで酸化されたと考えられる。

PS II膜は、HU存在下、暗所でMn^{2+}が遊離して、酸素発生が失活し、さらに、光照射によって失活が促進されたが、DMBQを添加すると、さらに失活をうけた。Tris処理膜は、HUとDMBQ存在下で、暗所では失活しなかったが、光照射すると、DPC→DCIPの電子伝達活性が50%まで失活した。このとき、Tris処理膜のDPC存在下でのPS IIの蛍光は、HUよって、F_0は変化しなかったが、$(Fm-F_0)/F_0$が減少した。これらの結果から、HU·によってYzが修飾され、電子伝達が50%低下したと考えられる。

2pD04

Ｍｎと表在性ペプチドを欠く光化学系Ⅱ粒子のチトクロムｂ-559酸化還元特性とその酸素発生系光再活性化反応の解析

水澤　直樹、長友　武彦、山下　巍　（筑波大・生物）

我々は、前学会でトリス処理により低電位型になった葉緑体のチトクロムｂ-559が、光再活性化処理により高電位型に回復する事を報告した。　本研究では、このチトクロムｂ-559の低電位型から高電位型への回復が、Ｍｎと33、23、18－ｋＤａペプチドを欠いた系Ⅱ粒子酸素発生系の光再活性化の際にもみられるかどうか調べた。　酸素発生系の回復の指標として、酸素発生能以外にクロロフィル蛍光強度の時間変化も用いた。

18、23－ｋＤａペプチドを欠いたＮａＣｌ処理系Ⅱ粒子からＭｎをNH_2OHで除去し、更に$CaCl_2$，又は尿素処理で33－ｋＤａペプチドを除いた標品と、やはり同様の成分を欠いたトリス処理（pH 9.1、２時間）系Ⅱ粒子標品を調製した。　無処理系Ⅱ粒子では、2/3 以上のチトクロムｂ-559が高電位型であったが、ＮａＣｌ処理系Ⅱ粒子では、約1/2 が高電位型で残った。この残った高電位型は安定で、続くNH_2OH、尿素処理でＭｎや33－ｋＤａペプチドを除いてもほとんど影響を受けなかった。又、トリス処理系Ⅱ粒子についても葉緑体の場合とは異なり、約1/2 のチトクロムｂ-559が高電位型で残った。　これらの系Ⅱ粒子の光再活性化は、約１０分で完了しトリス処理葉緑体の光再活性化完了に要する時間（２０分）に比べ、反応速度が大きい事がわかった。　この反応速度の違いは、光再活性化前に約1/2 のチトクロムｂ-559が高電位型として残っている系Ⅱ粒子と光再活性化の際に低電位型から高電位型への変換が必要な葉緑体の差に起因するのかもしれない。

2pD05

チトクロム *b*559に与える強光ストレスの影響

岩崎郁子[1]、市丸都、梶原英子、篠崎恵美子、田村典明、岡山繁樹[2]　[1]九大・理・生物、福岡女子大・生物、[2]九大・教養・生物

光化学系Ⅱ(PS Ⅱ)は強光により障害を受けやすいことが知られている。私たちはホウレンソウのPS Ⅱ膜標品を用いて、チトクロム *b*559の酸化還元電位とPS Ⅱ反応中心複合体の光障害との関係について調べた。

（１）NH_2OH処理を行なって水分解能を失わせると、チトクロム *b*559のHigh potential (HP) formの約 10 %が Low potential (LP) formに変った。

（２）NH_2OH処理を行なったPS Ⅱ標品に、強光照射（約 7000 $\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$、20 min）をすると、60 %の HP formが LP formに変わり、反応中心の活性は4.5%に低下した。

（３）NH_2OH処理を行なったPS Ⅱ標品に、電子供与体であるアスコルビン酸とハイドロキノンを加え、強光照射を行なうと、HP form及び電子伝達活性の低下は押えられた。

（４）DCMUを加えて強光照射を行なった場合も（３）と同じような傾向がみられた。

2pD06

アルカリpH条件下での光照射による光化学系Ⅱ複合体のタンパク質分解

森宏樹、山本泰（岡山大・理・生物）

最近、光化学系Ⅱ反応中心D1タンパク質の光により誘導される分解についてin vitroの系でその分解産物の検出、そして分解誘導機構の研究が行われている。我々は、アルカリpH条件下で光化学系Ⅱ膜標品に光照射すると、D1タンパク質の光誘導分解以外にも、アンテナクロロフィルa結合CP43タンパク質が分解されることを見出し、昨年の年会において報告した。しかし、その分解機構の情報を与えると思われるタンパク質の分解産物の検出までには至らなかった。今回、集光性クロロフィルタンパク質を大部分除去した光化学系Ⅱ複合体を用いて、その光誘導分解による分解産物の同定とその分解機構の解析を試みた。

光化学系Ⅱ複合体は、光化学系Ⅱ膜標品からオクチルグルコシドを用いたGhanotakisの方法に従って得た。ドデシルマルトシドを含む緩衝液中(pH 9.0)に懸濁した光化学系Ⅱ複合体に20$\mu E/m^2/s$の光を25℃で照射した。その結果、CP43については光化学系Ⅱ膜標品と同様に分解が確認された。さらに光化学系Ⅱ膜標品を用いた場合とは異なり、膜表在性33kDaタンパク質についても分解が認められた。アフィニティー精製した抗体を用いてウエスタンブロット法を行うと、それらタンパク質の分解産物に相当するバンドも検出された。現在、検出された分解産物の切断部位や分解機構について検討中である。

2pD07

熱処理による表在性蛋白の遊離と酸素発生の失活

榎並　勲、北村真美、加藤　栄[1]
（東京理科大・理・生物、[1]東大・理・生物）

酸素発生系は光合成の反応の中で最も熱不安定な反応の１つである。これまで熱処理による失活とＭｎの遊離との間にはよい相関が報告されてきているが、表在性蛋白の遊離と失活との関係についてははっきりとした結論は得られていない。

我々は最近、酸素発生活性をほぼ保持したままで、３種の表在性蛋白を架橋固定化するのに成功した。そしてこの固定化により酸素発生活性は極めて熱安定になることを見いだした。このことは、熱処理中に表在性蛋白が遊離したことが酸素発生の熱失活の大きな原因の１つであることを示している。これまでの検討の結果は、熱失活が表在性３３ kDa 蛋白の溶出によりはじまることを強く示唆する。

2pD08

ラン藻のチラコイド膜における光合成の高温適応

西山佳孝[1,2]、林秀則[1]、渡辺正[2]、村田紀夫[1]　([1]基生研, [2]東大・生産研)

高温に適応した植物の光合成器官は高温に対しより強い耐性を示すが、この光合成の高温適応の分子機構は十分には解明されていない。ラン藻*Synechococcus* PCC7002では、高温に適応した細胞から単離したチラコイド膜は光化学系２活性の高温耐性を保持していた（西山ら、92年度本大会）。高温適応に関わる因子がこの高温耐性を示すチラコイド膜中に存在すると推測されるので、これを同定する目的でチラコイド膜における光合成の高温耐性を解析した。高温（40℃）で培養した細胞から単離したチラコイド膜を0.1%のTriton X-100 で処理すると、光化学系２活性の熱安定性が著しく低下した。しかしこのTriton処理は低温（25℃）で培養した細胞から単離したチラコイド膜の熱安定性にはほとんど影響しなかった。一方、１.０ＭのNaClで洗浄しても、高温で培養した細胞から単離したチラコイド膜の高温耐性は影響を受けなかった。これらの結果から高温耐性化因子がTriton処理によりチラコイド膜から遊離されるが、NaClでは遊離しないことが推測される。現在、遊離されてくる成分のタンパク質の分析ならびに遊離成分の添加による高温耐性の再活性化を解析している。

2pE01

クロレラ白色変異体へのIndo-1導入の検討

神谷明男　（帝京大・薬・化学）

演者はグルコースの取り込みが青色光・赤色光により阻害されること（Kamiya 1985, Kamiya & Kowallik 1987a, 1987b）、この阻害はカルシウムが存在すると起こりにくくなること（カルシウムによる保護作用）（Kamiya 1991）、さらに複数のアミノ酸（プロリン・アルギニン系）の取り込みが青色光・赤色光により制御されることを見いだしている（Kamiya & Kowallik 1991）。昨年度クロレラ白色変異体で、カリウムイオンの放出が赤色光により促進され、膜が過分極することを報告した。このように、膜透過は光制御される。光（赤色光・青色光）照射に続いて起こる情報伝達系の解析を目的として、カルシウム蛍光色素Indo-1の細胞内導入をクロロフィル・カロチノイドを欠くクロレラ白色変異体を用いて検討した。

励起光 350nm、ニコンモノクロメーターで、蛍光測定を行った。Indo-1の細胞内への負荷は低pH（pH 4.0-4.5）条件で起こり、pH 6.0以上では認められない。また、負荷条件である低pH条件は同じ細胞での赤色光によるカリウムイオン放出、青色光による呼吸促進・グルコース取り込み阻害効果に影響を与えない。予備実験で認められた、赤色光による蛍光変化についても報告する予定である。

2pE02

エンドウ茎成長の光による抑制：内部－表皮組織相互作用に対する影響

宮本健助、上田純一、保尊隆享[1]、神阪盛一郎[1]、増田芳雄[2]
（大阪府立大・総科・生命、[1]大阪市大・理・生物、[2]帝塚山短大・食品）

エンドウ芽生えの茎成長は、光（白色蛍光灯：５ W／m^2）によって著しく抑制される。その抑制機構を明らかにする目的で、５日齢の黄化エンドウ芽生えを用い、茎成長の原動力である組織張力（tissue tension）に対する光照射の影響を調べた。茎伸長部域から表皮組織をはぎ取りその縮みの度合を測定したところ、光照射した芽生えからはぎ取った表皮組織の縮みは、暗所で生育させた芽生えのそれに比べ小さかった。また、表皮組織をはぎ取った内部組織の切片を水に浮かべ、その吸水成長を測定したところ、内部組織の吸水力は光によって低下していた。

一方、光照射すると表皮をはぎ取るのに必要な力が変化することが認められた。そこで、Jollyのバネ秤を用いて、両組織間の物理的接着力を測定したところ、表皮をはぎ取るのに必要な力が光照射によって増大することがわかった。この事実は、光が表皮組織と内部組織間の物理的接着力に影響することを示しており、この物理的接着力の増大は、内部組織による表皮組織の伸展を妨げるものと推察される。

以上の結果から、光は内部組織に影響してその吸水力を低下させると共に、表皮－内部組織間の物理的接着に影響し、著しい組織張力の低下をもたらし、その結果、茎成長の抑制を引き起こすものと考えられる。

2pE03

イネ幼葉鞘の光屈性： 光量と反応の関係

植松千代美，樽井裕，飯野盛利 （大阪市大・理・植物園）

Rice seedlings were raised on 0.7% agar under red light. When coleoptiles reached 4-6 mm, they were submerged in water; this resulted in a 5-times increase of the growth rate, the high steady-state rate (0.5 mm h^{-1}) being established during the first 4 h. Coleoptiles were exposed, at 6 h of water incubation, to a pulse (10-100 s) of unilateral blue light, and curvature was determined after 90 min. The plot of the response vs. the log fluence showed a bell-shaped curve. When the fluence was enhanced by extending exposure at a fixed fluence rate, the response increased with fluence beyond that induced by pulses. When the fluence rate was sufficiently high, this response occurred at high fluences, separated clearly from the pulse-induced response. These results evidence the appearance of two response types, first and second positive curvatures. The optimal fluence for the first positive curvature of rice, however, was 10-100 times higher than that found in other materials grown similarly in red light. The maximal first positive curvature was small, about 3^0. This could not be enhanced by using plants incubated longer in water or adapted to darkness.

2pE04

ニンジン培養細胞における PAL, CHS 遺伝子発現の作用スペクトル

竹田淳子 吉田和市 （京大 農化、農生）

分化誘導培地 (2,4-D)におけるにんじん (Daucus carota cv Kurodagosun) 培養細胞に於けるアントシアン合成の作用スペクトルは、280 nm にピークをもち UV-B Photo-receptor が関与している(1)。今回はアントシアン合成の鍵酵素 PAL及び CHS に着目し、遺伝子発現レベルで作用スペクトルを求め、アントシアン合成で得られた結果と比較検討する。

材料培養方法は、竹田 (2)により 光照射は基生研の大型スペクトログラフを用いた。mRNA の定量は光照射後 6 h の細胞を用いスロットブロット法で行った。

作用スペクトルは、いずれも 280-290 nm にピークを持ち UV-B Photoreceptor の関与を確認した。CHS の場合には、アントシアン合成では認められなかった330-360 nm付近にも broad なピークが観察され、もう一つの Photoreceptor の存在が示唆されたが、この領域の光による阻害効果も大きかった。両遺伝子発現は光量-反応曲線の形や、reciprocity の成否等に差がありtransduction chain が異なるものと思われる。

(1) Takeda & Abe Photochem.Photobiol.56:69-74(1992)
(2) Takeda J. Exp. Bot. 41:749-755 (1990)

2pE05

紫外線によるキュウリ第一葉の成長阻害とその作用スペクトル

近藤矩朗、清水英幸、[1]渡辺正勝、[1]久保田守 （国立環境研、[1]基生研）

成層圏オゾンの破壊により増大する紫外線の植物への影響について検討した。人工光環境調節室でキュウリの芽生えを日長12時間で育成しながら明期にUV-Bを照射したところ、子葉、第一葉の成長が阻害された。そこで、第一葉のUV-Bによる成長阻害の作用スペクトルを得るために、基礎生物学研究所の大型スペクトルを用いてキュウリ第一葉にUV-B領域の単色光を照射して成長阻害について検討した。日長12時間（蛍光灯）、温度20℃で育成しながら、明期中央の4時間のあいだ280、290、300、310、320nmの単色光を照射し、葉面積成長を調べた。280～310nmの単色光により成長が阻害され、特に280、290nmによる阻害が著しかった。

紫外線の影響は可視光により緩和されるといわれているので、キセノンランプを用いて360nm以上の波長の光を可視光として照射しながら単色光を照射する実験を試みた。単色光は290、300、310nmを選び4時間照射した。290nmの照射では可視光を同時に照射しても阻害の軽減は見られなかった。一方、310nmの照射は、単独でもほとんど成長阻害を示さず、可視光を同時に照射することによりむしろ成長を促進した。

これらの結果は、UV-B領域の紫外線には成長阻害と成長促進の相反する作用があること、オゾン層破壊の結果290～300nmの波長域の紫外線が増加すれば、植物の成長が顕著に阻害される可能性があることを示している。

2pE06

紫外光により誘導されるミドリムシの光運動反応

松永 茂、菅井道三、高橋哲郎[1]、近藤孝男[2]、渡辺正勝[2]

（富山大・理・生物、[1]（財）サントリー生有研、[2]基生研）

シダ胞子の近紫外光～青色光による発芽抑制効果の作用スペクトルと、きわめて類似する作用スペクトルが得られている単細胞藻ミドリムシ（Euglena gracilis)の光運動反応,特に増光刺激及び減光刺激に対する光驚動反応について、従来知見の無かった短波長紫外光にも信号作用する光が存在することを見出し、２９０nmにピークをもつ作用スペクトルを得た。

また組成の異なる培地に順応させたミドリムシ間で減光刺激に対する光驚動反応の感受性を比較すると、４４０nmの青色光感受性を数倍増加させる培地が、２９０nmの紫外光感受性は変化させないかむしろわずかに減少させることが判った。

本報告はミドリムシが短波長の紫外光（２９０nm付近）を信号として受容することを示し、なおかつ青色～近紫外光受容システムと２９０nm付近の紫外光受容システムが異なった挙動を示す具体例を提示したことになる。

2pE07

紅色酵母のK^+排出に対する紫外光作用スペクトル

秦 恵、辰己隆司[1]、多田幹郎[1]、橘本徹 （神戸大・理・生物、[1]岡山大・農・細胞）

B-領域紫外光(UV-B)は、多くの高等植物や菌類に様々な傷害を与える他、光形態形成を引き起こすことが知られている。また、速やかな反応として細胞膜に対しても損傷を引き起こし、その結果細胞膜の透過性が変化することが知られている。しかし、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。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において、UV-BによってK^+が特異的に排出される現象を見つけた（日本植物学会，1991･1992）ので、その作用スペクトルを調べた。

暗所で培養した菌体を蒸留水に懸濁し、シャーレに移し、ラップフィルムで被った後、基生研大型スペクトログラフを用いて、上方から250-400 nmの単色光を色々なエネルギー量で照射した。照射後、速やかに菌体を除き、細胞外液のK^+濃度を原子吸光を用いて定量した。照射した個々の単色光については照射光強度を測定し、被照射試料の透過率から算出した補正係数と照射時間から平均入射光量を求めた。370 nmより長波長側では、K^+の排出は起こらなかった。250-360 nmの波長域の適当な光量範囲においては、互いにほぼ平行な入射光量－反応曲線を得ることができた。この結果から得られた作用スペクトルは、270 nmにピークをもつ曲線を示した。この菌のカロチノイド合成に対する作用スペクトルはすでに報告しているが[1]、これと比較しながら考察する。

1) Tada et al. Plant Cell Physiol. 31, 241-246 (1990)

2pE08

光照射培養による R. denitrificans のシトクロム cd_1 含量増加の作用スペクトル

高宮建一郎，佐藤和敬，奥山徳二，塩井祐三，土井道生[1]（東工大・生命理工，[1]宮崎医大・生物）

好気性光合成細菌 Roseobacter denitrificans は，好気条件で脱窒活性を示し，亜硝酸還元酵素としてシトクロム cd_1を有する点で特徴的である。さらに，好気明条件生育菌は脱窒活性およびシトクロム含量が暗所生育菌に比べ数倍高い。今回我々はシトクロム cd_1 含量の光照射による増加効果の作用スペクトルなどを調べたので報告する。単色光照射下で菌を培養し，シトクロム cd_1 を分光的および免疫化学的に定量した。最も有効な光は 560 nm の緑橙色光で，400-450 nm の青色光も若干有効であったが，650-900 nm の光は殆ど無効であった。脱窒活性およびシトクロム cd_1 含量の光照射培養による増加の生理的意義は明らかではないが，バクテリオクロロフィルが吸収する光は無効であることから光合成エネルギー代謝とは直接の関連は無いと考えられる。また，我々の見出したクロロフィル蓄積阻害に関する青色光効果とも異なっている。緑橙光吸収色素に関して議論する予定である。

2pF01

タマネギ根端分裂組織細胞の分裂準備帯及び紡錘体形成に対するシクロヘキシミドの影響

野上暁子，山下正兼[1]，長濱嘉孝[1]，峰雪芳宣（広島大・理・植物，[1]基生研・生殖）

微小管は細胞周期の進行に伴って間期表層微小管，分裂準備帯，紡錘体，隔膜形成体へと変化し，細胞レベルの形態形成に重要な働きをしていると考えられている。最近，我々はシクロヘキシミドが分裂間期の微小管分布を変化させることを見つけた。そこで，細胞周期の他の時期の微小管の構築にもシクロヘキシミドが影響を与えるかどうかを調べるため，播種後４日目のタマネギ根端 1.5mmを使用し，分裂準備帯及び前期紡錘体形成に対する影響について検討した。その結果，蛋白質合成を十分押さえる条件下（35.5μM,2時間）では，分裂前期の核を持つ細胞数が対照に比べやや減少するが，間期で分裂準備帯を持つ細胞が増えるため，全体としては分裂準備帯を持つ細胞数は対照と比べ差がないこと，前期細胞で分裂準備帯を持たない細胞が約１割見られることがわかった。また，分裂準備帯を持つ前期細胞では，微小管帯の幅が対照に比べ広くなっていた。分裂準備帯にはcdc2キナーゼホモログが存在するが，cdc2帯も微小管帯と同様，幅が広くなっていた。また，この条件下では十分発達した紡錘体を持つ細胞が著しく減少することがわかった。このことは，前期細胞における微小管の構築においても新しい蛋白合成が必要なことを示唆する。

本研究の一部は基礎生物学研究所個別共同研究，内藤記念科学奨励金及び科研費によって行われた。

2pF02

細胞分裂後期／終期移行時における核および細胞質分裂進行に対するシクロヘキシミドの影響

峰雪芳宣，野上暁子，長濱嘉孝[1]（広島大・理・植物，[1]基生研・生殖）

蛋白質合成阻害剤のシクロヘキシミドは，植物の細胞周期の様々な段階（間期，前期，前中期，中期，終期）でその進行を阻害することが報告されている(例えはR.J. Rose 1970参照)。我々は，そのうち分裂間期と前期で，シクロヘキシミドが微小管の形成に影響を与えることを報告した（峰雪ら，昨年度植物学会年会，野上ら，本年度植物生理学会年会）。分裂後期ではシクロヘキシミドによって異常な細胞板が形成された報告があり，この際の分裂後期／終期移行時の核分裂と細胞質分裂の進行がどのようになっているか興味があるが，その詳細な過程については分かっていなかった。そこでこの時期の細胞の核と微小管の様子を共焦点レーザー走査顕微鏡を使ったタマネギ根端分裂組織細胞の蛍光観察及びムラサキツユクサおしべの毛の分裂細胞の生体観察を行い，シクロヘキシミドの影響について比較研究した。その結果，シクロヘキシミド存在下でも後期の染色体の運動は正常に進行するが，続いて起こる染色体長の短縮過程がシクロヘキシミドの影響を受けることが分かった。この時の染色体（娘核）と隔膜形成体の形成に関連する微小管との細胞内の位置関係が，シクロヘキシミドによる細胞板異常の原因となっている可能性が考えられた。

本研究の一部は基礎生物学研究所個別共同研究，内藤記念科学奨励金及び科研費によって行われた。

2pF03

タバコ培養細胞BY-2における染色体分離開始のタンパク質合成依存性

横井崇秀、柿本辰男、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

分裂中期に赤道面に並んだ染色体は分裂後期に微小管により構成されている紡錘体により両極に移動する。この染色体の分離は極めて同調化された運動であるが、その調節系についてはほとんど知られていない。

タバコ培養細胞BY-2はDNA合成阻害剤であるアフィディコリンと微小管重合阻害剤であるプロピザマイドをくみあわせて用いることにより高度に同調化することが可能である。プロピザマイドによる拘束を受けている細胞では核膜が崩壊し、染色体が凝縮しているが、染色体の赤道面上への配列は見られない。われわれはこの同調化した細胞においてプロピザマイドを培地から除いた直後にタンパク質合成阻害剤であるシクロヘキシミドを培地中に加えると、細胞は紡錘体を形成し染色体が赤道面上に配列するものの染色体の分離は起こらないことを見いだした。このことから分裂後期の開始に、プロピザマイドを除いた時点から染色体の分離開始までの間にタンパク質合成が必要であると考えられる。また、同様の時点でmRNA合成阻害剤であるアクチノマイシン-Dを加えた培地においては染色体は両極に分離したことよりこのタンパク質は翻訳レベルの調節を受けているものと考えられる。

2pF04

タバコ培養細胞BY-2の細胞質分裂に対するbrefeldin A(BFA)の影響

安原裕紀、園部誠司、柴岡弘郎　（阪大、理、生物）

植物細胞の細胞質分裂はフラグモプラストの赤道面に集められたゴルジ体由来の小胞が融合し細胞板が形成されることによって行われる。BFAは近年、動物細胞において分泌をその経路の早い段階で阻害する物質として報告されている。細胞板形成はフラグモプラストの赤道面での細胞板成分の分泌と見なすこともできるので、BFAの細胞板形成への影響をアフィディコリンとプロピザマイドによって細胞周期を同調化したタバコ培養細胞BY-2を用いて調べた。アフィディコリン処理終了後およそ4時間の細胞にプロピザマイドと 20 uM BFAを与え6時間培養した後、プロピザマイドを除去した。プロピザマイド除去後、4時間培養するとBFA非処理細胞はほぼ全ての細胞が細胞質分裂を完了したがBFA処理細胞は二核になった。プロピザマイド除去後、80-160分間培養した細胞を固定しアニリンブルーで染色したところ非処理細胞では細胞板が染色されたが処理細胞では、この染色は見られなかった。間接蛍光抗体法による微小管の染色とDAPIによる核の染色からBFA処理細胞で核の分裂とフラグモプラストの形成は起こっていることがわかった。BFA非処理細胞では抗チューブリン抗体はフラグモプラストの赤道面を染色しなかったがBFA処理細胞では染色した。BFA処理細胞を通常の方法で固定包埋して切片の電顕観察を行ったところ、フラグモプラストの赤道面に小胞の集積が観察されなかった。また、この細胞では、正常なスタック構造を持ったゴルジ体が観察されず、BFA非処理細胞でゴルジ体が観察される部位に特異な膜構造が観察された。以上の結果からBFAは、ゴルジ体の構造を損なわせることにより、フラグモプラストへの小胞の供給を阻止し、細胞板形成を阻害したものと考えられる。

2pF05

2重前期前微小管束を持つ細胞における細胞板の形成機構

馳澤盛一郎、長田敏行　（東京大・理・植物）

植物細胞では細胞核分裂の開始以前に前期前微小管束(PPB)と呼ばれるリング状の微小管の束が出現する。タバコ BY-2 細胞においては PPBは G_2 期後期に出現し、紡錘体が形成されると共に消失するが、新しく形成される細胞板は細胞分裂時にPPBの存在した場所で細胞壁と癒合するので、PPB は細胞板によって分割される位置を予告すると言える。我々は、アフィディコリン処理により高度に同調化した G_2 期の BY-2 細胞において2重の PPBを持つものを多数見出したが、それらが細胞周期の進行により G_1 期に入った細胞では G_2 期の2重 PPBを持つ細胞の割合に相当する比率で斜めの細胞板形成が観察された。さらに、このような G_2 期の細胞をガラスシャーレに移して倒立微分干渉顕微鏡で G_1 期まで継続観察したところ、当初ははっきりと観察された PPBが紡錘体の形成と共に見えなくなり、続いて隔膜形成体の形成が見られる。ところが、この隔膜形成体は細胞の長軸に対して斜めに傾いており、この傾きは細胞板形成時にも是正されず、その結果細胞は長軸に対して斜めに傾いだ分裂面を持つことになった。また、細胞板は2つの PPBの存在した位置を斜めに繋ぐように形成された。これらの観察より PPBと細胞分裂面形成位置の相関関係について考察する。

2pF06

タバコ培養細胞における表層微小管の起源についての解析

江藤亜紀子、馳澤盛一郎、長田敏行（東京大・理・植物）

植物細胞は、周囲を細胞壁で囲まれ、その固有の形態を維持している。一次細胞壁で考える限り、その主成分はセルロース微繊維であり、この配向は表層微小管により決定されると考えられている。従って、植物細胞の形態を規定するのは表層微小管ということになるが、この表層微小管の形成の問題は、ほとんど解決されていない。そこで、我々は、表層微小管の形成機構を明らかにするため、タバコ培養細胞BY-2株を高度に同調させ、細胞周期のM/G1期における微小管の形態を間接蛍光抗体法により追跡し、この問題に迫ることにした。その結果、分裂後の娘細胞の核膜の表面から細胞の長軸に沿った微小管の伸長がみられ、その後、赤道面の方から、間期に通常みられる表層微小管が形成されることが明らかになった（日本植物学会,1992）。

本報告では、さらに研究を進めた結果を２点報告する。第１に、微小管の立体構築の解析が不可欠なことが判明したので、共焦点ﾚｰｻﾞｰ顕微鏡を用いて微小管が三次元的にどの様に構築されるかを追求した。第２に、微小管の形成中心に関して、ウニ卵の中心体の構成タンパク質である51KDタンパク質に対する抗体で認識されるタンパク質がタバコ培養細胞にもあり、表層微小管の形成に関与している可能性が示唆された。

2pF07

ジベレリンによるアズキ茎切片の伸長と微小管・チューブリンの変化

水野孝一　（大阪大・理・生物）

アズキ芽生えの茎切片はオーキシン処理により伸長し、ジベレリン添加によりこの伸長はさらに著しく促進される。このとき表皮細胞の表層微小管は二時間以内に細胞の軸と直角に配向し、チューブリンの isoform の一つがリン酸化と思われる修飾を受ける。タンパク質リン酸化酵素Cの阻害剤を添加することによりジベレリンの効果が消失し微小管は軸と平行となりチューブリンの isoform パターンも回復することからジベレリンの作用にはチューブリンをはじめタンパク質のリン酸化が関与していると考えられる。一方、ジベレリン処理した切片から調製した細胞膜は in vitro における微小管との結合が促進されるが、このとき細胞膜に特異的に存在する膜α－チューブリンもリン酸化と思われる修飾を受けていることがわかった。表皮細胞の表層微小管がジベレリンにより細胞軸と直角に配向し細胞が伸長生長することと細胞膜に存在する膜チューブリンがリン酸化により変化することの間には密接な関係があるのではないかと考えられる。また、タンパク質リン酸化酵素の阻害剤処理により細胞軸と平行となる表層微小管の配向はアクチン阻害剤とされる cytochalasin B の添加により回復し細胞軸と直角に配向するようになることから、微小管が軸に平行に配向するためにはアクチン繊維の関与が必要なのかもしれないと考えられる。

2pF08

核内に存在するようにみえる微小管とその重合中心

水野孝一　（大阪大・理・生物）

植物芽生えの分裂組織の細胞を蛍光抗体法で観察していると核内と思われる場所に重合中心様部位から放射状の短い微小管が形成されているのを目にすることがしばしばある。しかしながら、このような方法では偶然にしか観察することができないのでこの形態の現れる時期やその変化を調べることは困難である。そのため、cell cycle を同調化できるタバコ BY-2 細胞を用いて同様の形態について観察を行った。aphidicolin で２４時間処理後これを除き３時間培養後 propyzamide を添加しさらに５時間培養する。propyzamide を除いた後、時間を追って細胞を固定しチューブリン抗体を用いて間接蛍光抗体法で観察した。phragmoplast 微小管に結合している核には全くその様な微小管の存在は認められなかった。しかし、phragmoplast微小管が消失する頃になると核小体様構造の周囲から短い微小管が形成されている核を持つ細胞数が次第に増加し、その後は核の表面から細胞質へ伸びる微小管を持つ細胞数が増加するにつれ観察されなくなった。核内に微小管が存在する時間はおそらくかなり短時間であり aphidicolin のみで同調化した場合には１時間の時間差で全く観察されなくなる場合もあった。短時間の低温処理や protoplast 化により観察しやすくなった。しかし、このような微小管の機能については現在のところ不明である。

2pF09

ユリ花粉管から単離した170-kDa重鎖から構成される花粉管ミオシンの性質

横田悦雄、新免輝男（姫路工大・理・生命）

我々は原形質流動の機構を分子レベルで解明する目的で、モーター分子であるミオシンをユリ花粉管から単離することを試みてきた。昨年の本大会で、花粉管ミオシンの最終精製画分には170-kDa、145-kDa、120-kDaの３成分が検出され、３成分の抗原性あるいは一次元ペプチドマップによる比較から、145-kDaと120-kDaの成分は170-kDa成分の分解産物であることを報告した。精製方法を少し変えることにより、分解産物を含まない170-kDa成分から成る花粉管ミオシンを得ることが出来た。この花粉管ミオシンのATPアーゼ活性は、既知のミオシンと同様にニワトリ胸筋から単離したF-アクチンにより活性化された。この活性化はF-アクチン濃度に依存しており、活性化の程度は６０倍以上と非常に高い値であった。またローダミン-ファロイジンでラベルしたF-アクチンが、ガラス表面上にコートされた花粉管ミオシンにより滑走する速度は平均7.7 um/secであった。この速度は、花粉管内で観察される原形質流動の速度とほぼ同じであった。

これらの結果から、170-kDa重鎖から成る花粉管ミオシンが原形質流動を担っているモーター分子であると思われる。

2pF10

オジギソウ運動細胞におけるマイクロフィラメントの３次元構造

吉村　政典、作田　智洋、田宮　徹、土屋　隆英
（上智大・理工・化学）

オジギソウの素早い屈曲は、主葉枕運動細胞の膨圧変化によって引き起こされると言われている。我々は、アクチン－ミオシン系に注目し、これらと運動との関連について研究をおこなってきた。cytochalasin Dを作用させると、屈曲の阻害・マイクロフィラメントの断片化が起こることから、本研究では、運動とマイクロフィラメントの関連を考察することを目的として、共焦点レーザー顕微鏡を用いて、マイクロフィラメントの３次元構造を調べた。

ＭＢＳで固定後切片にした主葉枕をローダミン－ファロイジンで染色し観察した。３次元的な像は各断層写真を再構成し得た。

運動後の細胞の断層写真像から、マイクロフィラメントは、細胞膜・細胞質・液胞膜に存在するが、液胞内には存在しないことがわかった。再構成像から運動細胞内における３次元的な構造を解析したところ、マイクロフィラメントは液胞膜表面と細胞膜内側に局在し、液胞膜表面のフィラメントの先端は、細胞膜に向かって伸び、細胞膜内側にまで到達しているようであった。

今後、運動前の細胞についても同様に観察し、運動前後のマイクロフィラメントの局在から、アクチンと運動との関わりについて解析していく予定である。

2pG01

モモ果実細胞壁より見出されたエチレン生成抑制オリゴ糖

森口卓哉、吉岡博人、真田哲朗、田中敬一（農水省・果樹試）

果実の肉質は成熟・老化にともなってダイナミックに変化する。特に、モモは収穫直後から急激に軟化しはじめる。一方、細胞壁分解酵素により出現する糖鎖断片が老化現象に関与している可能性が示唆されている。Tong & Gross(1990)は、トマト果実において、細胞壁由来の多糖類断片が、老化過程の特徴であるエチレンの発生を促進したことから、これが内在性の引金であると提唱している。今回、モモ果実細胞壁由来のオリゴ糖にエチレン発生を抑制する効果が認められたので報告する。

［材料及び方法］　モモ果実を80%エタノールで抽出し、アルコール不溶性画分(粗細胞壁画分）を得た。この画分をペクトリアーゼで処理し、ＴＬＣ、ＨＰＬＣを用いて分離精製し、オリゴ糖画分を得た。エチレン生成抑制効果はＡＶＧ及びＡＣＣを添加したリンゴ果実切片を用いて経時的に測定した。

［結果及び考察］　粗細胞壁画分を細胞壁分解酵素で処理した後の水抽出画分は、ＡＣＣからのエチレンの発生を顕著に抑制した。さらに、この水抽出画分を80%エタノールで再抽出したところ上澄みにおいてのみエチレン生成の抑制効果が認められた。そこで、この画分をＴＬＣ，ＨＰＬＣで精製したところエチレン生成抑制物質はウロン酸を含むオリゴ糖であると考えられた。エチレン生成抑制物質は果実自身のもつ細胞壁分解酵素によっても発現してくることから、このオリゴ糖構造は、細胞壁に内在し、果実の成熟・老化に関与する可能性が示唆された。

Tong B.S. & Gross K.C. (1990) Physiol. Plant. 80:500-506.

2pG02

カボチャ下胚軸におけるブラシノライドの成長促進作用

富永るみ、櫻井直樹、倉石晉（広島大・総科・自然）

ブラシノライドは、植物の成長や生理機能の促進に強い影響を及ぼす。エンドウ、アズキ、トウモロコシ、キウリなどでは低濃度でオーキシンと類似の作用を示すことが報告されている。しかし、ブラシノライドは既知の植物ホルモンには認められない生理作用も示し、ホルモンとしての作用様式はまだ充分理解されていない。そこで我々は、ブラシノライドの伸長促進作用に着目し、黄化させたカボチャ下胚軸切片を用い、その作用をオーキシンと比較した。

オーキシン（10^{-5}M）は表皮のついた切片の伸長は18.8%促進したが、表皮を取り除いた切片の伸長は促進しなかった。ところがブラシノライド（2×10^{-7}M）は前者の伸長を39.2%、後者を29.6%促進した。応力緩和法により細胞の力学的性質を測定したところ、ブラシノライドを処理すると表皮が伸長の原因となるゆるみ（最小緩和時間が25%、緩和速度が41%の減少）を、内部組織がヤング率の低下（29%）を示した。以上の結果はブラシノライドが表皮と内部組織の両者に働きかけて伸長を促進していることを示す。

2pG03

カボチャの根の成長と細胞壁の変化に対するアルミニウムの影響

Le Van HOA、倉石晉、桜井直樹（広島大・総科・自然環境）

暗所25.5℃で１日水耕したカボチャ（*Cucurbita maxima* Duch.）芽生えの水耕液に1 mM $AlCl_3$溶液（pH4.5）を処理し、根の成長を調べた。根の阻害作用はAl処理後１時間で成長帯（根端から1-5mm）で顕著にあらわれ、根の成長の阻害は細胞伸長速度の減少による可能性を示した。細胞壁成分の分析の結果、Al処理によりペクチン、ヘミセルロース、セルロースの画分が増加することを示した。特に根の先端部（0-7mm）ではペクチン量が増加し、それに続く部位（7-16mm）ではセルロース量が増加した。また、Al処理により根のいずれの部分でも一様にヘミセルロース量が増加した。さらに細胞壁の糖組成を調べたところペクチン量の増加は、ウロン酸、ガラクトース、アラビノースの増加よるものであった。ヘミセルロースの増加はグルコース、ガラクトースの増加によるものであった。これらの結果は、根の成長中の細胞壁代謝がAl処理によって短時間のうちに著しく影響され、その結果成長が阻害される可能性を示している。

2pG04

矮性エンドウの根の細胞壁多糖の分子量分布と糖組成に対するジベレリンの効果

谷本 英一、Ｄ．Ｊ．ヒューバー[1]（名古屋市大・教養・生物、[1]フロリダ大・農・園芸）

根の生長はジベレリン（ＧＡ）とアンシミドール（ＡＮＣ）で制御できる。ＡＮＣは伸長生長を抑制し根を肥大させる。ＧＡが共存すると肥大は起こらず、伸長生長が持続する。エンドウでは、このとき、細胞壁の伸展性や糖組成に大きな変化が起こっていることが判明してきた。本報告では、矮性エンドウ（cv.Little Marvel）の根の細胞壁構成多糖が、ＧＡとＡＮＣによってどのように変化するかについて報告する。

根の先端部から基部に向かって１ｍｍ間隔の細胞壁の糖組成を調べた。アラビノースは伸長帯では少なく、根端部と成熟帯で増加した。ガラクトースは逆に、伸長帯で最も多く根端部と成熟帯では低下した。ＧＡは伸長帯でガラクトースを増加させＡｒａを減少させた。この効果は、ペクチンとヘミセルロースⅡ分画で認められたが、ヘミセルロースⅠ分画では認められなかった。次に、ペクチンとヘミセルロース分画の分子量分布を比較した。ペクチンは、ＣＤＴＡ（２３℃）で抽出した。ＧＡは、根の先端部と伸長帯において酸性多糖の分子量の大きい成分を増加させたが、成熟帯（根端から１０～１４ｍｍ）では、この効果は認められなかった。熱蓚酸アンモニウム処理は、酸性多糖を低分子化した。ヘミセルロース分画の分子量分布の比較結果も合わせて報告する。

2pG05

ニンジン培養細胞における細胞壁多糖の糖分析

菊池 彰、佐藤 忍、中村 紀雄[1]、藤伊 正
（筑波大・生物、[1]横浜市大・文理・生物）

ニンジン培養細胞のうち不定胚形成能力や細胞の接着性に差のあるNon-embryogenic callus(NC)やEmbryogenic callus(EC)、及びオーキシンを含まない培地にECを移植して得たSomatic embryo (SE)の3材料を用いて培地多糖、細胞壁多糖の解析を行い、細胞の分化や接着性と細胞壁多糖との関係を考察した。

凍結乾燥後、boiling EtOHで処理した細胞から細胞壁画分を得、含まれる多糖をペクチン、ヘミセルロースA、ヘミセルロースB、及びセルロースの4画分に分画した。これらの画分中の全糖量、酸性糖量を細胞乾重量当たりで評価したところ、ECのペクチン画分において全糖量が特に多いことが示されたが、その他の画分や培地多糖、及び酸性多糖の量に大きな違いは認められなかった。次に酢酸セルロース膜電気泳動（トルイジンブルー染色）により酸性多糖のパターンを比較したが顕著な違いは認められなかった。またペクチンメチルエステラーゼ処理により、脱メチル化したサンプルにおいてもNCとEC間で酸性多糖のパターンに差はみられなかった。一方電気泳動後、PAS染色により中性多糖のパターン比較を行ったところ、ECのペクチン画分では”標準ペクチン”と同じ位置に強いスポットが認められた。そこで電気泳後、この位置の多糖を回収し、そこに含まれる中性多糖の単糖組成を調べたところ主にアラビノースとガラクトースが検出された。アラビノースとガラクトースの比率は、細胞壁多糖のペクチン、ヘミセルロースBの両画分においてNC<EC<SEという傾向が示された。

これらの結果は、ペクチン画分中の中性糖量や糖組成特にアラビノースとガラクトースの比率が細胞の分化や接着性に何らかの関わりを持つことが考えられる。

2pG06

矮性オオムギ突然変異でIAAによって発現するタンパク質

桜井直樹・鶴崎健一・横田幹朗・倉石晉
（広島大・総科・自然）

IAA生産量の少ない矮性オオムギ突然変異(*uzu*)では、IAAが少ないために細胞壁中の1,3:1,4-β-グルカンが分解されず蓄積される。外からIAAを投与すると、正常系統と同様の伸長促進を示す。本研究ではIAAによって誘導されると思われるβ-グルカン分解酵素の発現について調べた。正常、矮性系統からそれぞれmRNAを抽出精製し、コムギ胚芽系で^{35}S-メチオニンを用い翻訳実験を行った。生成物は二次元電気泳動で展開した。フロオログラムを調べたところ、正常では発現し、*uzu*では弱くしか発現しないスポットが5個見つかった。内2個は、IAAを投与しても変化がなくIAAの生合成に関与するタンパク質である可能性がある。残りの3個はIAAによって正常、*uzu*で共にスポットが強調され、IAAの投与に対応していた。その内1個のスポットの相対分子量は60kDAでトウモロコシ細胞壁中のexo-β-グルカナーゼの分子量と一致した。

2pG07

傾斜刺激下における樹幹木部の形成
－特異的タンパク質の誘導－

馬場啓一、浅田隆之[1]、林 隆久、伊東隆夫
（京大・木研、[1]王子製紙・林木育種研）

樹幹は傾斜されると本来の位置に戻ろうとして特殊な木部(材)を分化させる。そうして形成された木部をアテ材という。広葉樹(双子葉類)では一般に傾斜上側にアテ材が形成される。その部分では、リグニンを含まない二次壁の層が厚く堆積し、セルロースミクロフィブリルが細胞長軸とほぼ平行に配列するようになる。またヘミセルロースの種類も変化する。今回、われわれは傾斜固定したユーカリの樹幹から分化中の木部を採取し、そのタンパク質を通常の木部分化帯のものと比較することにより、傾斜刺激を受けた分化帯に特異的なタンパク質を見出した。磨砕試料を3000 gで遠心したペレットの1 M NaCl抽出画分において36kDのバンドに違いが見られた。このことから、傾斜刺激によって誘導された36kDタンパク質は細胞壁に結合していることが示唆された。

2pG08

ダイコンホウ素含有多糖の精製と性質

石垣賢一、間藤徹、関谷次郎、東順一[1]
（京都大・農・農化、[1]京都大・農・林工）

ホウ素は高等植物の必須元素であるがその生理作用は未だに解明されていない。ホウ素の生理作用を検討するにはホウ素の存在部位をつきとめる必要がある。我々は昨年の本大会でタバコ培養細胞のホウ素の大部分が特定の多糖に結合した形で細胞壁に存在していることを報告した。今回、比較的ホウ素含量の高いダイコン根細胞壁からホウ素含有多糖の精製を試みた。

ダイコン根から粗細胞壁を調製し、これを0.1%ドリセラーゼで48時間処理すると細胞壁ホウ素の90%以上が酸性多糖に結合した形で可溶化された。更にホウ素をマーカーにしてカラムクロマトグラフィーを行い、重量平均分子量約7500のホウ素含有多糖を得た。分析の結果から、このホウ素含有多糖はウロン酸52%、中性糖32%、カルシウム1%、アミノ酸1%、ホウ素0.2%(各重量%)からなるラムノガラクツロナンであった。

^{11}B-NMRスペクトル解析から、ホウ素は4配位子をもつホウ酸の形で、エステル結合により糖と結合していた。また、このホウ素は1N HCl 30℃ 15minの処理で完全に除去されたが脱ホウ素処理による分子量の変化は認められなかった。

一般講演

第３日　３月３１日（水）

一般講演

第３日　３月３１日（水）　午前の部

Ｂ 会場　　分子生物学（７）
Ｃ 会場　　成長制御（２）・リズム
Ｄ 会場　　光合成（５）
Ｅ 会場　　蛋白質・酵素（１）
Ｆ 会場　　脂質・生体膜
Ｇ 会場　　イオン輸送・電気生理

3aB01

イネの葯特異的遺伝子の構造と発現様式

土屋享、中村久子、鳥山欽哉、江尻慎一郎（岩手大・農・細胞育種実験施設）

イネ(*Oryza sativa* L.)の葯における遺伝子の発現調節機構を解明し、その成果を作物育種に応用することを目的として、ディファレンシャルスクリーニングによってイネの小胞子期の葯で発現している遺伝子をcDNAとして初めて単離した。

単離した２種類のcDNA(Osc4,Osc6)の塩基配列をもとにホモロジー検索を行ったが、有意に相同性のある遺伝子およびタンパク質は報告されていなかった。

ノーザン分析の結果、Osc4は１核期の葯でのみ発現がみられ、Osc6は１核期の葯で強く発現しているが、葯の発達に従って順次発現量は減少していた。

また、*in situ* ハイブリダイゼーション法により発現組織に関する詳細な検討を行った結果、いずれの遺伝子とも葯のタペート組織で発現していることが認められた。

さらにこれらのcDNAをプローブとしてイネのゲノミックライブラリーをスクリーニングし、各々に対応するゲノミッククローンを単離し、その構造解析を行った。単離した遺伝子のプロモーター領域上には既知の植物のプロモーターと相同性の高い領域が認められた。これらの遺伝子のプロモーター領域にGUS遺伝子を連結した発現ベクターをタバコに導入した結果、タペート組織で強い発現が認められた。

3aB02

ペチュニアにおける花芽特異的遺伝子群の単離とその発現様式

山下　博史、河野　重行、黒岩　常祥　（東京大学・理・植物）

花は高度に分化した器官の集合体であり、それぞれの器官の形態形成の過程には多くの遺伝子が関与している。それらの遺伝子が一定の順序に従って適切な時期に適切な部位で発現することによって正常な花芽が形成される。このような花芽形成過程の遺伝子発現の時間的・空間的な制御機構を明らかにするためには、まず花芽形成に関与する遺伝子を単離し、その発現制御の様式を解析する必要がある。花芽形成の初期に発現する遺伝子をクローニングするために、ペチュニアを材料として、1cm 程度の花芽から得たmRNAからcDNAライブラリーを作成した。花芽および葉から得たmRNAをもとに作成したcDNAプローブを用いて、このライブラリーをディファレンシャルスクリーニングし、花芽に特異的と思われるクローンを選択した。２次スクリーニングの結果、約２０の候補を得た。これらのクローンからPCR法でcDNAを増幅しcDNAプローブを作成し、花芽および葉から抽出した RNAに対して、ノーザンハイブリダイゼーションし、花芽でのみ特異的に発現している８のcDNAクローンを選択した。これらの花芽に特異的な遺伝子の発現パターンの時間的な差異を調べるために、1cm 程度の花芽と完全に開花した花からRNAを抽出し、ノーザンハイブリダイゼーションによる解析を行った。その結果、得られたcDNAクローンは花芽が開花しても発現量が変わらないものと開花後に発現量が著しく減少するものの２種類に分類されることがわかった。さらに各発達段階ごとの

3aB03

イネホメオボックス遺伝子は２カ所の転写開始点を持つ

松岡　信　（生物研）

ホメオボックス遺伝子はホメオドメインと呼ばれるDNA結合ドメインを持つ遺伝子で、動物においては形態形成に重要な役割を持っていることが知られている。最近、植物においても動物や酵母のホメオドメインに類似した構造を持つ遺伝子の存在が報告され、これらの遺伝子と植物の形態形成の関連について興味が持たれている。我々は前年度の本大会でイネゲノム中にもホメオドメインを持つ遺伝子が複数存在すること、またその内のいくつかについてそのcDNAの構造と発現様式について報告した。今回新たにトウモロコシのホメオボックス遺伝子と類似した構造を持つ遺伝子を単離しその発現様式について検討を行った。その結果、この遺伝子は茎頂で強く発現する一方、えい花、枝梗、茎で弱い発現を示すだけで葉、根等の組織では全く発現が見られなかった。またこの遺伝子は２カ所の転写開始点を持つことにより、２種類の長さの異なるRNAを転写することが確認された。

3aB04

イネホメオボックス遺伝子*OSH1*によるトランスジェニックアラビドプシスの形態異常

市川裕章、松岡信[1]（農業環境技術研、[1]農業生物資源研）

イネ*OSH1*遺伝子は、トウモロコシ葉組織の発達に関与する*Knotted-1*(*Kn1*) 遺伝子に対応するホメオボックス遺伝子である（松岡ら、本講演要旨参照）。この*OSH1*遺伝子の生物学的機能を探る一手段として、*OSH1*遺伝子のプロモーター領域をGUS遺伝子の上流につないだキメラ遺伝子*OSH1-GUS*、および*OSH1*遺伝子のコード領域をCaMV *35S*プロモーターの下流につないだキメラ遺伝子*35S-OSH1*をアラビドプシスに導入し、トランスジェニック植物における*OSH1*遺伝子の発現部位および形態形成に及ぼす影響について調べた。*OSH1-GUS*トランスジェニックアラビドプシス（T2世代）の組織化学的GUS染色の結果、GUS活性は茎頂で特異的に発現しており、その中で最も強い活性が見られたのは托葉およびその周辺部位であった。また100個体以上得られた*35S-OSH1*トランスジェニック植物（T1世代）は共通の形態異常を示し、再生初期には多数の茎あるいは花芽の分裂組織の集合体が出現し、その後多くの個体において葉をほとんどあるいは全く持たない茎の伸長が見られた。また*35S-OSH1*遺伝子は花器の形態にも影響を与え、特にがく片、花弁および雄ずいの形態が異常になり、極めて低い稔性を示した。これらの結果から、イネ*OSH1*遺伝子は双子葉植物のアラビドプシスにおいても、茎頂で特異的に発現する上、形態形成に重要な影響を及ぼす遺伝子であることが判明した。

3aB05

翻訳後修飾によるコムギbZIP型転写因子HBP-1bのDNA結合活性調節

高瀬尚文[1、2]、飯哲夫[2]、溝口剛[3、4]、篠崎一雄[3]、岩淵雅樹[1、2]
([1]基生研・発生生物、[2]京大・理、[3]理研・植物分子生物、[4]筑波大・生物)

我々のグループは、多くの植物コア・ヒストン遺伝子の5'上流域に高度に保存されているタイプⅠエレメント内にあるヘキサマー(ACGTCA)・シス配列に結合する因子としてHBP-1aとHBP-1bを同定するとともにcDNAを単離し、両因子がbZIP型転写調節因子群に属することをすでに報告してきた。更にHBP-1bに関しては、そのDNA結合活性がリン酸化・脱リン酸化による制御を受けることを示唆する実験結果を得ている。細胞周期のS期にmRNAレベルが高くなるヒストンH3遺伝子の転写調節を理解する上でリン酸化・脱リン酸化によるコムギHBP-1bのDNA結合活性調節のメカニズムを知ることは重要である。そこで大腸菌内で発現させたHBP-1bを用いて、タンパク質キナーゼによるリン酸化の有無を調べるとともにDNA結合活性への影響を調べた。

コムギHBP-1bサブファミリーのメンバーの一つであるHBP-1b(c8)をマルトース結合タンパク質との融合タンパク質として大腸菌により大量発現させた後、高度に精製したものをHBP-1bの標品とした。またタンパク質キナーゼとして、cDNAクローニングされているアラビドプシスのカゼインキナーゼⅡのカタリテック・サブユニット(ATCKA1)を用いた。ATCKA1によるリン酸化は認られたが、HBP-1b(c8)のDNA結合活性への影響は見られなかった。

3aB06

コムギbZIP型転写因子HBP-1a及びHBP-1b遺伝子のイネ細胞におけるプロモーター領域の解析

三上浩司[1]、桂真昭[1、2]、大坪憲弘[2]、藤本宜充[3]、岩渕雅樹[1、2]
([1]基生研・発生生物, [2]京大・理・分子植物、[3]日本石油㈱)

コムギbZIP型転写因子HBP-1a及びHBP-1bは、コムギヒストンH3遺伝子のシス配列の1つであるタイプⅠエレメントに特異的に結合するが、それらのmRNAは、H3mRNAと同様に、S期に蓄積する。両因子のH3遺伝子のS期特異的転写調節における両因子の役割分担を詳細に解析するため、すでに両因子の遺伝子のクローン化及び構造解析を行っている(前年度本大会)。今回、両遺伝子のプロモーター領域の解析を行ったので報告する。

HBP-1a及びHBP-1b遺伝子の上流域をそれぞれGUS遺伝子に連結し、各融合遺伝子のイネ細胞における一過性の発現を見た。HBP-1b遺伝子の上流域には明かなプロモーター活性が見られたが、HBP-1a遺伝子の上流域に関してはそのような活性が認められなかった。HBP-1bプロモーターの活性は、コムギH3プロモーターのそれに比べ75～150 位低いものであった。また、HBP-1a遺伝子の上流域をコムギH3遺伝子の最小プロモーターにつなげたところ、最小プロモーターの発現効率が低下した。

そのことが特に強い負の調節領域によるのか、活性の低さが単に影響しているのかは今のところ不明である。両遺伝子の上流域には、それぞれの産物が結合する配列が存在する(前年度本大会)。現在、その配列を含む領域の転写調節における役割を確かめると同時に、トランスジェニック植物を用いたプロモーター解析が進行中なので、これらの解析結果もあわせて報告する。

3aB07

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
(京都大・理・植物、[1]植工研)

我々は、細胞周期特異的に発現するコムギ・ヒストンH3遺伝子(TH012)の転写開始点上流-185までのプロモーター領域が、細胞周期S期特異的発現を規定し得ることを、H3/GUSキメラ遺伝子を導入したイネ培養細胞(Oc)同調系を用いた解析から明らかにして来た。この領域には、転写制御に関わる三つのシス配列(ヘキサマーACGTCA、オクタマーGATCCGCG、ノナマーCATCCAACG)と、それらに結合する核蛋白質因子(HBP-1a, -1b, ssDBP-1, -2, HBP-2)が同定されており、これら因子が細胞周期特異性を担っている可能性を示唆して来た。

今回、上流域を184bpまでしか持たないH3/GUSキメラ遺伝子のヘキサマー、オクタマーの周辺に置換変異を導入した変異遺伝子群を作製し、これら遺伝子の形質転換イネ培養細胞中での発現をS1法で解析したところ、ヘキサマー、オクタマーが細胞周期特異性を規定するシス配列であるという、より明確な結果が得られたので報告する。

3aB08

イネb-ZIP型DNA結合タンパク質RAF-1遺伝子の単離と解析

井沢　毅[1、2]、Nam-Hai Chua[2]、島本功[1]
([1]植物工学研究所,[2]The Rockefeller University)

我々は、ABA responsive cis-element に結合する小麦b-ZIPタンパク質EmBP-1のbasic領域のアミノ酸配列と相同性を持つイネcDNAを単離、b-ZIP型DNA結合タンパク質をコードしていることを確認し、Rice Activation Factor (RAF-1) と名付けた。b-ZIP以外の領域は、既に報告されているどのb-ZIPタンパク質とも強い相同性を発見できなかった。大腸菌で発現させ,ACGT配列をコアにもつ体系的に合成された数十のプローブを使い、ゲルシフト法で、*in vitro* での結合特異性を EmBP-1と比較したところ, RAF-1は、EmBP-1と共通の配列だけではなく、他の配列とも強く結合できることが判った。このことより、RAF-1は、広範な遺伝子の制御に関連していると考えられる。さらに、イネプロトプラストを用いたトランジェント アッセイで、様々な植物プロモーターのRAF-1によるactivationの有無を確認した。その結果、RAF-1自身が、RAF-1プロモーターを活性化できること等が判った。このことは、RAF-1の発現が自己制御されている可能性を示唆している。現在、RAF-1 遺伝子のプロモーター領域をgusA遺伝子につないだプラスミドをイネに導入し、発現部位の同定を試みている。

3aB09

イネEm遺伝子の転写制御因子VP1による発現制御

○服部束穂、寺田智子、濱砂聡（三重大・遺伝子）

転写制御因子VP1は、種子胚の成熟過程でABAの制御下にある一連の遺伝子群の発現を制御している。　演者らはイネVP1(OsVP1)による転写制御のメカニズムを明らかにするため、VP1の標的遺伝子のひとつと考えられるEm遺伝子のcDNAおよびゲノミッククローンをイネより単離し、その塩基配列を決定した。OsEmのプロモーターとGUS遺伝子の融合遺伝子(OsEm-GUS)を作製し、イネ培養細胞プロトプラストで一過性の発現を調べたところ、その発現はABAによって活性化された。さらに、OsEm-GUSの発現は、同時に発現させたOsVp1cDNAによって５－６倍、トランスに活性化されたことから、確かにOsEmがVP1の標的遺伝子であることが明らかとなった。次に、この発現系を用い、OsEm-GUSのプロモーターに様々な欠失を加えたものについて、ABAおよびVP1による活性化を調べた。　OsEmの上流域を－５０２から－１７６まで欠失させるとABAによる活性化にはほとんど影響なかったが、OsVP1による活性化の程度は減少した。　さらに－１４０まで欠失させるとABA,OsVP1どちらによる活性化も消失した。また、－５０２まで持つプロモーターでは、OsVP1はABAによる活性化に対して相乗効果を示したが、－１４０までのプロモーターでは相乗効果は見られず、むしろ抑制的に働いた。現在、VP1,ABAによる制御に関わるcis配列について、さらに詳細な解析を進めているが、本講演ではこれらの結果をもとに、OsEmのOsVP1による転写制御機構について考察したい。

3aB10

rolC プロモーターのショ糖誘導に関与するシス配列の解析

横山隆亮、藤井伸治[1]、Evalour T. Aspuria[1]、加藤敦之、内宮博文[1]　（北大・理・植物、[1]東大・応微研）

我々は *rolC* プロモーターが維管束細胞で特異的に発現し、その発現は高濃度（0.4M）のショ糖により活性化される事を既に本大会で報告した。今回ショ糖に応答するシス配列を同定するために、5' 上流及びその内部を欠失させたプロモーターの解析を行なった。この結果、-135bpから-94bpまでの領域を欠失させた場合にはショ糖による活性化がほとんどみられなくなった。さらに *rolC* プロモーターの一部を35Sプロモーターに連結して解析を行なったところ、上述の結果を支持するデータが得られた。以上の結果より、*rolC* プロモーターのショ糖誘導に関与するシス配列は-135bpから-94bpまでの間に存在することが示唆された。またショ糖による *rolC*-GUSキメラ遺伝子の発現を組織レベルで解析した所、組織特異性を失う事無く植物体全体における発現の局在性が確認された。

3aB11

*rolC*遺伝子5' 上流域に結合する一本鎖DNA結合タンパク質の解析

松木吏弓、内宮博文[1]　（北大・理・植物、[1]東大・応微研）

Riプラスミド上に存在する*rolC*遺伝子は、維管束組織で強く発現し、その発現はショ糖によって活性化される。また、欠失変異体を用いた*cis*解析より、ショ糖による活性化領域が決定された。そこで、ショ糖による転写調節を解明することを目的に、このDNA領域に特異的に結合する因子の解析をおこなった。

タバコ芽生え核抽出物を用い、-136bpから-111bpを含むオリゴヌクレオチドをプローブとしてゲルシフト分析をおこなった。その結果、二本鎖DNAをプローブとして用いた場合では特異的な結合が見られなかったが、一本鎖DNAをプローブとしたところ、Top strandでのみに特異的な複合体が検出された。サウスウエスタン法による解析より、この一本鎖DNA結合因子は、約43KDaのタンパク質であることが示唆された。現在、サウスウエスタンスクリーニング法を用いてcDNAの単離を試みている。

3aB12

ニンジンの不定胚発生過程における*rol*Cプロモーターの発現　－Deletion Mutantsを用いた解析－

藤井伸治、横山隆亮[1]、内宮博文(東大・応微研、[1]北大・理)

ニンジンの培養細胞系においては2,4-Dによりカルスが誘導され、2,4-Dを除去することにより不定胚の発生が促進される。我々は既にRiプラスミドの*rolC*遺伝子プロモーターとGUS遺伝子とを連結したキメラ遺伝子はニンジンの不定胚誘導に伴ってその発現が上昇することを示した(Plant Physiol.1991 95, 238-241)。この発現の上昇は不定胚誘導培地での培養期間に依存しているのではなく、不定胚発生の進行に依存していることを今回明らかにした。

さらに不定胚発生に伴う発現活性の増大を担う*cis*領域の同定を試みた。5' deletion mutants を用いた所、*rolC*プロモーターの-255bpより上流を欠失した場合においてもGUS活性の上昇は認められた。そこで-255bpより転写開始点側を順次欠失させたinternal deletion mutantsを作成し、発現パターンの変動を解析した。その結果、全てのinternal deletion mutantsにおいてカルス、PEM(proembryogenic masses)でのGUS活性は低かったが、ハート型胚、魚雷型胚においてはGUS活性の上昇が検出された。以上の事より、不定胚における発現の活性化を担う*cis*領域の存在様式として1)*rolC*プロモーターに複数存在する、あるいは 2)*rolC*プロモーターの転写開始点の近傍に存在する可能性が示唆された。

3aB13

イネ細胞増殖核抗原(PCNA)遺伝子の分裂細胞特異的発現にかかわる因子の解析

小杉俊一、大橋祐子、鈴鹿巌　（農水省・生物研）

PCNAはDNAポリメラーゼδの補助因子として働く核タンパク質で、その遺伝子の発現は、細胞周期上のG_1(G_0)-S境界期で起こる。これまでの我々の研究から、イネPCNA遺伝子のG_0期からS期にかけて起こる発現は転写レベルで制御され、そのG_0-S期特異的発現は転写開始点から上流263bp以内の5'上流領域に依存していた。in vitroの解析から-150から-200の領域内に二種類の核内タンパク質因子(RPCF-I,II)が結合し、さらにRPCF-IのcandidateとしてRPCF-Ia及びIbのcDNAがクローニングされた。RPCF-IaとIbは共にbZIP構造を持つと予想されたが、in vitroにおいてはヘテロダイマーを形成しなかった。また、RPCF-IaのcDNAを過剰発現させたタバコ及びそのアンチセンスRNAを発現させた形質転換タバコ植物を作出したが、形態に異常は見られなかった。RPCF-IはsiteI(GCCAGGTGGC)に、RPCF-IIはsiteIIa(TGGGCCCGT)とsiteIIb(TGGTCCCAC)に結合するが、各々の塩基配列に変異を導入したPCNAプロモーター-GUS遺伝子をタバコに導入し、得られた形質転換植物体の解析を行ったところ、現在までに明らかになったことは、siteIIbのみの変異ではイネPCNAプロモーターの活性に変化は認められなかったが、siteI, IIa, IIbの全てに変異を導入したプロモーター（約2Kb）では、転写活性が著しく低下したことであった（siteI及びsiteIIaのみの変異を導入したものについては現在解析中）。このことから、少なくともこれらいずれかの核内タンパク質因子結合部位がイネPCNA遺伝子発現の正の調節に関わる因子であることが考えられる。

3aC01

低幹仕立クワ一年枝の梢端優勢生長と側芽の摘芽処理の影響

鈴木健夫　（京都工繊大・繊維・応生）

低幹仕立クワ（品種，'しんいちのせ'）の一年枝における側芽・側枝生長の優先（勢）関係――梢端優勢生長――を調べるため、（1）春発芽前と（2）春発芽時の側芽の摘芽処理をおこなった。　両処理とも、1株中1本の一年枝を対象として、上位から2／5までの部位の側芽除去、1芽おきの反復側芽除去、5芽毎に1芽を残す4芽ずつの反復側芽除去などの実験区を設けた。　その結果、（1）の摘芽処理による春発芽パターンへの影響は少なかった。（1），（2）のいずれも、実験区の上位枝の優勢生長は無処理枝（対照区）のそれより早く現れ、また伸長生長も対照区より良かった。さらに、この上位枝の良好な伸長生長にも係わらず、実験区の側枝の伸長生長も対照区のそれより優った。一方、これらとは別に、クワ一年枝の春発芽が非'斉一型'あるいは中間型の品種では、梢端優勢生長が'斉一型'（同一枝内における上位から基部近くまでの側芽のほぼ斉一的な春発芽・伸長）の品種よりも一般的に早く現れることが知られている。　これらのことから、春発芽が'斉一型'の'しんいちのせ'の梢端優勢生長では、側枝間の競合（相互阻害）の役割が重要であり、この結果として長枝・短枝の形成と短枝の枝先脱離（不定節間脱離）が起こると考えられた。

Suzuki, T. (1990): Physiol. Plant., 80: 350-356
鈴木（1992）: 日蚕雑, 61: 383-392, 494-500

3aC02

クワ休眠枝の切枝水挿の梢端優勢生長と貯蔵デンプンの消長

鈴木健夫　（京都工繊大・繊維・応生）

木本植物の春の萌芽時には樹皮や木部（柔細胞）の貯蔵物質（デンプンなど）が生長部分（頂芽や側芽）に近いところから利用されていく。低幹仕立クワ（品種、'しんいちのせ'）の一年枝の梢端優勢生長と貯蔵デンプンの消長パターンとの関連を明らかにする目的で、後休眠枝切枝の水挿による検討をした。（1）約2mの切枝と（2）約15cmの切片（複節挿穂）に適当な摘芽処理をして室温、自然光下で水挿すると、（1）、（2）とも、無処理枝の発芽所用日数や発芽パターンとの差は小さく、新梢の伸長生長とそのパターンに差が生じた。有節（あるいは節間）切片の縦断面のヨード・デンプン反応で、側芽生長にともなう挿穂内デンプンの分布（消長）パターンを調べた。その結果、水挿開始時には、側芽と挿穂の（側芽と葉痕下の）連接部に著しく、また節間の樹皮、木部にも均等に、デンプンが分布していた。発芽時には主に側芽の連接部のデンプンが利用された。側芽伸長にともない、下位の側枝の場合よりも上位の側枝の連接部とその周辺に節間の樹皮や木部のデンプンがよく集積され、挿穂の下部から先にデンプンが消失した。部分摘芽枝の摘芽処理した連接部とその周辺にはデンプンが集積されず、新梢（側枝）生長、また新梢の連接部とその周辺へのデンプン集積はともに無摘芽枝の場合よりよかった。一方、全摘芽枝においても、緩やかに枝の下部から先にデンプンが消失し始めたことから、母枝（挿穂）の呼吸や吸水のエネルギー源としても枝の下部から先にデンプンが利用されると考えられた。

3aC03

ジャスモン酸の離層形成促進作用：セルラーゼ活性に対する影響

上田純一、宮本健助、橋本昌晴（大阪府大、総合科学）

ジャスモン酸のゴガツササゲ第一葉葉柄切片における離層形成促進作用を細胞壁構成多糖およびセルラーゼ活性との関係から検討した。ジャスモン酸およびジャスモン酸メチルエステルは1μM以上で暗黒下および明所下で離層形成を促進した。離層が形成される場合、葉柄側、葉枕側離層部の細胞肥大が生じ、離層部細胞の細胞壁の構造が変化する。ジャスモン酸メチルエステルは離層部細胞の細胞壁多糖、すなわちペクチン、ヘミセルロースの質、量には影響しないものの、セルロースの含量を低下させた。さらに、ジャスモン酸メチルエステルは離層部細胞において、細胞壁合成基質であるＵＤＰ糖含量を低下させた。

一方、インゲン芽生え各器官に存在するセルラーゼを Lewis らの方法により抽出し、芽生え齢に伴う活性の変動を調べた。その結果、セルラーゼ活性は全ての器官において検出されたが、１０日目以降、特に第一葉の第一離層部葉枕側、葉柄側できわめて高い活性を示した。そこで、１０日齢の芽生えを用いて、根からジャスモン酸を４８時間芽生えに吸収させセルラーゼ活性に対する影響を調べたところ、ジャスモン酸は第一葉葉枕および葉柄部における活性を上昇させた。

以上の結果、ジャスモン酸およびそのメチルエステルはゴガツササゲ葉柄側離層部細胞の細胞壁多糖、特にセルロースの分解を促進し、合成を低下させることによって離層形成を促進することが明かとなった。

3aC04

スギナ胞子体Shootの形成におよぼすジャスモン酸の効果

栗山　昭、河合文雄、金森正雄、W. Dathe[1]
（財・環境科学総合研、[1]Inst. Plant Biochem. Germany）

スギナ(*Equisetum arvense*)配偶体はホルモンを含まない培地で、継代培養できる。継代培養した配偶体を、サイトカイニンを添加した培地に移すと、胞子体Shootの形成が誘導される。誘導されたShootの発達には外性サイトカイニンは必要とされない。そこで、サイトカイニンを必要とする時期をShootの誘導期、それ以降を発達期とした。本研究では、植物ホルモンの一種であるとされるジャスモン酸がスギナ配偶体の増殖、胞子体Shootの誘導および発達にどのような影響を及ぼすか調べた。

配偶体を種々の濃度のジャスモン酸を含んだ培地で培養したところ、その濃度が高まるにつれて配偶体の増殖は阻害された。ジャスモン酸を添加した培地で短期間（８日）培養し再びジャスモン酸無添加の培地に移して培養しても配偶体の増殖は対照と同様の増殖を示した。従ってジャスモン酸そのものは配偶体組織にとって有毒ではないと考えられる。

次に胞子体Shootの誘導に及ぼすジャスモン酸の効果を調べた。即ち、サイトカイニンとジャスモン酸の両者を含んだ培地で配偶体組織を培養した。それによると、ジャスモン酸は胞子体Shootの誘導を著しく阻害する事が判った。更にサイトカイニンにより誘導されたShootの発達をも阻害した。一方、ジャスモン酸を添加した培地で配偶体を前培養した後、その配偶体組織を材料にしてShootの誘導、発達をさせたところ、ジャスモン酸の阻害効果はほとんどみられなかった。

3aC05

弱酸及び中性緩衝液によって引き起こされるアカウキクサの根の基部からの細胞遊離の現象について

上田英二、鬼頭俊而　（大阪府立大学付属研究所）

水性シダ、アカウキクサは、根が脱離する珍しい植物として知られている。　私たちは、さきに、短時間の弱酸処理がアカウキクサの根を速やかに脱離させること、また、その際、根の基部にあってabscission layer を構成する大型の表皮細胞が急速に肥大しついには培地中に遊離して来ることを報告した。　この現象の詳しいメカニズムを理解することを目的に、アカウキクサより抜き取った根 (detached root)を用いて更に実験を行い、次のことを明らかにした。

①、detached root を弱酸で処理すると、根の基部の細胞の肥大と遊離の現象が見られる。　この現象は、緩衝液の存在によって阻害される。
②、detached root を中性または弱アルカリ性の緩衝液浸すと、弱酸の存否にかかわらず細胞の肥大と遊離が起こる。この反応は、非常に短時間で起こる。

これらの結果は、アカウキクサ根の基部の細胞の肥大と遊離の現象には、根の細胞外側近傍での pH の変化（恐らく pH の上昇）が含まれていることを示唆する。

3aC06

伸長成長機構の分子モデルと圧力ジャンプ法による検証

岡本　尚　（横浜市大・文理・生物）

昨年の大会で細胞壁の伸長成長機構を示す分子モデルを提案した。このモデルは統計力学的考察に立ち，細胞壁のミクロな構造から，壁の降伏をあらわすロックハートの力学方程式を導く事が出来る。その後，PassiouraとFryがやや異なる仮定に立つ，力学的性格の強い分子モデルを提出した。実験的基礎はコムギの葉に長時間，100 kPaもの大きな膨圧ジャンプをかける時，あるいは去る時に起こる壁臨界降伏圧（Y）の過渡的調節変化である。我々がササゲやキウリの胚軸でオーキシンの効果を見るときに加えるジャンプは10 kPa x 2 min 程度で，Yの調節的変化が起こらない範囲に止めている。この様な小ジャンプを，彼らの巨大なジャンプに重畳させて　YおよびΦ（壁の展性）を同時測定すると，彼らのモデルから導かれる，Φ x Y = 一定　が成り立つか否かを検証する事が出来る。ササゲ胚軸を用いた実験の結果では，大きな昇圧，降圧に伴って両者は定性的には反対方向に変化する傾向はあるが，定量的には不変ではなかった。

Okamoto, H., Okamoto, A. & Katsumi, M. (1992) *In* Plant Cell Walls as Biopolymers with Physiological Functions. Edited by Y. Masuda. Yamada Sci. Foundation, Osaka.
Passioura, J. B. & Fry, S. C. (1992) Aust. J. Plant Physiol., 19, 565-576.

3aC07

細胞内圧減少下での伸長促進

水野暁子、加藤　深[1]（日本福祉大・女子短大、[1]名古屋大・教養・生物）

アルミナ懸濁液で表皮をabradeしたミトリササゲ下胚軸伸長帯の軸片を道管灌流しながら、表皮側から塩酸水溶液のアエロゾルを与えた。数分のうちに軸片の生長は急速に促進された。このとき、細胞壁の展性および有効膨圧は何れも増加し、プロトンが細胞壁弛緩に対してオーキシンと同様の作用を持つことが証明された（Mizuno et al.1992）。一方、酸生長の開始と同時に、細胞内圧は急速に低下し始め、百数十kPa にも及ぶ低下を見せた。細胞内圧の低下と、生長促進との間には、量的相関がある。しかし、細胞内圧の低下は、それが細胞内浸透濃度の低下によって起こるとすれば、百mOsm以上もの低下に相当する。これを生長促進に伴う細胞液の希釈に帰することはできない。酸―アエロゾルは、細胞膜電位の脱分極をひきおこす（Mizuno & Okamoto 1982）ことから、高濃度の塩酸が細胞膜に直接作用を及ぼし、細胞内の溶質の漏出を引き起こしていることも考えられる。

これまで酸生長は、短時間しか続かないと言われてきた。しかし、酸―アエロゾルによる生長促進は、上記のような細胞内圧低下のもとで、速度の変動はありながらも数時間続いた。また、一旦低下した細胞内圧は、その後一定値を保つか、または、部分的に回復した。今回の実験では、軸片が空気中に立っており、酸素が十分供給されていると同時に、道管灌流により水の供給も十分である。従って、木部側細胞膜のプロトンポンプの活動により、能動的吸水及び細胞内圧の制御が行われたものと考えられる。

Mizuno, A. & Okamoto, H. (1982) Plant, Cell and Environment. 5:131-135
Mizuno, A., Nakahori, K. & Katou, K. (1992) in Plant Cell Walls as Biopolymers with Physiological Functions. pp. 370-372

3aC08

アスコルビン酸－アスコルビン酸酸化酵素系による細胞伸長促進機構

高浜有明夫（九州歯大・生物）

アスコルビン酸酸化酵素（ＡＡＯ）活性は細胞の伸長・肥大生長に伴って上昇する。ここでは、ＡＡＯによる細胞伸長促進の機構を考えるために、アズキ上胚軸のアポプラスト中のＡＡＯ活性とアスコルビン酸（ＡＡ）の酸化還元状態をＩＡＡ存否の条件で比較した。アズキ上胚軸アポプラストのＡＡとデヒドロアスコルビン酸（ＤＨＡ）の合計量は上胚軸片を２７度で約２０時間培養することによって半分以下に減少した。ＡＡ／（ＡＡ＋ＤＨＡ）比も同様に減少した。この上胚軸片をＩＡＡ存在下で培養により、ＡＡ＋ＤＨＡの合計量はもとの約２倍になった。ＡＡ／（ＡＡ＋ＤＨＡ）比はＩＡＡによってさらに減少した。細胞間隙洗浄液（ＩＷＦ）中のＡＡ酸化酵素（ＡＡＯ）活性は上胚軸片の培養によって大きく低下したが、細胞壁結合性のＡＡＯ活性はわずかに増加した。ＩＡＡはＩＷＦ中のＡＡＯ活性低下を抑え、細胞壁結合性のＡＡＯ活性を大きく増加させた。ＩＡＡは培養によるペルオキシダーゼ活性の変化に大きな影響を与えなかった。上胚軸片の培養中に見られるリグニンの合成はＩＡＡで抑制された。このことは、ＩＡＡによってリグニン形成反応に必要な過酸化水素生成が抑えられていることを示唆している。以上の結果に基づくと、ＡＡ－ＡＡＯの可能な機能について議論する。

3aC09

parA、parB 遺伝子産物のタバコの根における分布の探索

佐野俊夫、高橋陽介、馳澤盛一郎、長田敏行（東京大・理・植物）

オーキシンにより発現が誘導される parA および parB 遺伝子をタバコ葉肉プロトプラストから単離した。ノーザンブロットの結果、両mRNAとも根で強く発現していることがわかった。また、大腸菌を用いて両遺伝子産物を大量発現し、それらに対するポリクローナル抗体を得た。そこで両遺伝子産物の機能を明らかにするため、それらの抗体を用いてタバコ幼植物の根の組織の抗体染色をおこなった。

parA 遺伝子産物は根端部の細胞に多く、細胞内では核に多く存在した。一方、parB 遺伝子産物は、parA 遺伝子産物と同様に根端部に多いが、細胞質全体に存在した。このタンパク質はグルタチオン S-トランスフェラーゼ（GST）活性を有し、オーキシンと結合することが知られている。

タバコ葉肉プロトプラストをオーキシンを加えた培地で培養すると、脱分化して再び分裂能を獲得する。そのさいに発現する parA および parB の遺伝子産物は細胞分裂の誘導に関与すると考えられるが、今回の結果は、根端分裂組織における細胞分裂にも両遺伝子産物が関与している可能性を示唆している。

3aC10

ヤエナリ下胚軸切片でオーキシンによって誘導される遺伝子Ａｒｇ１は脂肪酸不飽和化酵素であった

山本興太朗（北海道大・理・植物）

演者らは、ヤエナリ下胚軸切片でオーキシンによって発現が誘導される mRNA、Arg1 の塩基配列を明らかにした（Yamamoto et al., 1992）。Arg1 はそのアミノ酸配列より、生体膜を２回貫通している膜タンパクをコードしていることが推測されたが、その実体は分からなかった。今回新たにタンパク・データベースを検索した結果、Brassica napusのΔ１５位の脂肪酸不飽和化酵素（Fad3; Arondel et al., 1992）と６９％、SynechocystisのΔ１２位の脂肪酸不飽和化酵素（DesA; Wada et al., 1990）と２５％の同一性をアミノ酸レベルで示すことが分かった。Arg1 も Fad3 もＮ末端にシグナル・ペプチドを持たないが、Ｃ末端近くのリシン残基が ER への保持シグナルとなっていると考えられる。以上の結果から、Arg1 はヤエナリの ER でグリセロリピッドを基質として働くΔ１５脂肪酸不飽和化酵素であると結論できる。

胚軸切片でオーキシンによって誘導される遺伝子はいくつか報告されているが、その実体が明らかになったのは Arg1 が最初である。脂質代謝とオーキシンとの関係は今までに研究されたことがなかったが、本研究の結果はオーキシン作用機構に脂質代謝が関与している可能性を強く示唆している。実際、オーキシンによる伸長成長の際にはエキソサイトーシスが急速に促進されることが知られており（Hager et al., 1991）、今後はオーキシン作用における生体膜系の代謝回転と脂質代謝の関係を追及する必要があるように思われる。

3aC11

アラビドプシスを用いたジベレリン生合成阻害剤耐性変異株の単離と解析

南原英司、[1]内藤哲（名古屋大学・農・生化学制御、[1]北海道大学・農・応用生命科学）

ジベレリンは多くの植物の発芽を誘導する植物ホルモンである。アラビドプシスについても同様で、変異やジベレリン生合成阻害剤によって内在性ジベレリン含量を低下させると野生株の発芽は抑えられる。そこで、ジベレリン生合成阻害剤存在下で発芽することができる変異株（ジベレリン生合成阻害剤耐性変異株）の選抜をおこなった。既に単離されている変異株を用いた解析から、アブシジン酸欠損株、およびアブシジン酸非感受性変異株はジベレリン生合成阻害剤存在下で発芽することができることが示されている。この結果から、ジベレリン生合成阻害剤耐性変異株の選抜によって新たなアブシジン酸に関わる変異株が単離されることが期待された。

EMSによって変異原処理して得られたM2種子約10,000個をジベレリン生合成阻害剤（100 μ Mウニコナゾール）を含む寒天培地にまき、発芽することのできた5株を単離した。その中の1株（*abi3-3*変異株）は緑色で耐乾燥性が無い種子をつけた。この種子は乾燥する前（開花後10-15日目）に収穫してすぐにまくと発芽し、次世代でも同様の種子をつけた。遺伝学的解析の結果、この表現型は*ABI3*遺伝子座上の単一変異によって支配されていることが明らかになった。既に単離されている*abi3-1*変異株は漏性の変異をもち、*ABI3*遺伝子は機能を完全には失っていないと考えられる。それに対して、*abi3-3*変異株は同じ遺伝子上により致命的な変異が生じ、*ABI3*遺伝子が機能をより失ったために強く表現型が現れたものと考えられる。*abi3-1*変異株の種子は一見正常で、種子貯蔵蛋白質も蓄積する。しかし、*abi3-3*変異株の種子は緑色で耐乾燥性が無く、種子貯蔵蛋白質遺伝子の発現はmRNAレベルでほとんど誘導されない。最近、*ABI3*遺伝子はポジショナル・クローニングによって単離され、トウモロコシの種子で特異的に発現する転写因子Vp-1と相同性のある蛋白質をコードしていることが報告された。本会ではABI3蛋白質の機能と生理的な役割、および種子の休眠誘導機構について考察する。

3aC12

らん藻の生物発光リズム:コロニーでの生物時計測定

近藤孝男、石浦正寛　（基礎生物学研究所）

生物時計は動植物をとわずほとんどの生物で、最も重要な環境変動である昼夜交替に対する生物の能動的な環境応答機構として、機能している。そしてその顕著な生理学的特徴から、共通した計時装置が細胞内で機能していると考えられている。しかし、普遍的な現象であるにもかかわらず、生物時計の基礎振動の分子機構は現在にいたっても全く不明である。最近我々はらん藻(*Synechococcus*　PCC7942) のＤ１蛋白をコードする遺伝子のプロモータ下流にバクテリアルシフェラーゼを接続し、その発現をらん藻細胞内の生物時計によって制御させることに成功した。この「発光らん藻」は真核生物で確立された概日性リズムの条件を完全に満たす生物発光のリズムを示す事が確認された。そこで、これまで比較的高等な材料に限られていた分子遺伝学的方法の利用した生物時計の分子機構解明の試みを、解析の容易な単純な原核生物で試みることが可能になった。

分子遺伝学的解析では突然変異体の分離、遺伝子組換え体のスクリーニングなどの過程で多数のクローンの形質を寒天培地上のコロニーで確認できることが不可欠である。そこで我々は冷却ＣＣＤカメラを用い、寒天培地上のらん藻の各コロニーの生物発光を連続測定したところ、それぞれのクローンから液体培養と全く同等な概日リズムを得ることが出来た。この成功によりらん藻の生物時計の分子機構解明にほぼ完全に分子遺伝学的戦略を適用することが可能になった。

3aC13

新しく分離されたアカパンカビ時計突然変異株の解析

五藤竜太、中島秀明　（岡山大・理・生物）

生物時計によって駆動されている概日性リズムは、真核生物、原核生物を問わず生物界に広く見られる現象である。糸状菌のアカパンカビ（*Neurospora crassa*）では分生子形成に概日性リズムが見られ、既に様々な周期を示す時計突然変異株が分離されている。それらは時計のパラメーターとなる周期や、周期の温度補償性、そして光による位相変化の感受性などが変化している。様々な周期を示す変異株が得られている*frq*遺伝子に関してはクローニングが行われ塩基配列も既に決定されている（McClung et al.　1989）。突然変異株の分離が時計の分子機構を解明する上で有効であると考えた我々は、既存の時計突然変異株とは異なる性質を示す時計突然変異株の分離を試みた。突然変異株の分離は、紫外線を照射して突然変異を誘発させた野生株*bd* を成長管上で培養し、野生株と異なる周期性を示す株を選択して行った。その結果、26℃で約25時間の周期を示す時計突然変異株ts-501（野生株*bd*の周期は21.7時間）の分離に成功した。戻し交雑からこの株の突然変異が単一遺伝子によるものであることが分かった。そこで我々は更に、この時計突然変異株の遺伝子座、および周期の温度依存性や、光、温度パルス処理に対する位相応答の性質についても調査し、野生株のそれと比較した。その結果、新しく分離されたこの時計突然変異株は、これまでに分離された時計突然変異株とは異なった性質を持っていることが分かった。

3aC14

アカパンカビにおける光による位相変化の過程の解析

定金　豊、秋山正志、中島秀明（岡山大学・理・生物）

アカパンカビ（*Neurospora crassa*）は、概日リズムの分子機構を調べる上で優れた生物のひとつである。光や温度などの環境の一時的な変化は生物時計の位相を変化させることが知られている。我々は、光によっておこる位相変化の過程を様々な代謝阻害剤を用い調べた。その結果RNA合成阻害剤である5-アザシチジン、カルモジュリンアンタゴニストであるトリフルオペラジン、カルシウムイオノフォアであるA23187が光による位相変化をほぼ完全に阻害することを見いだした。Johnson and Nakashima (1990) は新たなタンパク質合成がこの過程に必要であることをシクロヘキシミドを用いた実験から示唆しているので、その前段階としてm-RNAの合成が必要であるかどうかを5-アザシチジンを用いて調べた。5-アザシチジンは光照射される位相に関係なく光による位相変化を阻害し、その阻害の割合は与えられた阻害剤の濃度に依存した。また、5-アザシチジンで処理したアカパンカビから得られたRNAを*in vitro*で翻訳後SDS-PAGEした結果、多くのm-RNAの合成が阻害されていることが明らかになった。以上の結果は、光による位相変化の過程に新たなm-RNAの合成が必要であることを強く示している。*in vitro*で翻訳されたタンパク質の二次元ゲル電気永動を行い、光による位相変化に関係するm-RNAについてさらに解析を進めている。

3aD01

インゲンマメ本葉切除に伴う初生葉の光合成系の変化

田中義人、鈴木茂敏[1]、高野泰吉[1]、高倍昭洋　（名城大・理工・化学、[1]名城大・農）

葉の光合成能力は、シンク器官の存在によって強く影響されることが知られている。鈴木らは、インゲンマメの初生葉の光合成能力は、本葉をすべて切除し初生葉のソース器官としての負担を増大させた場合に著しく増大することを報告した（園芸学会雑誌60別2,1991、61別2,1992）。対照区では、エイジの進行にしたがって初生葉のCO_2取り込み速度は徐々に低下するが、本葉切除区では、切除後約5日間の間にCO_2取り込み速度が急速に増大した。一方、初生葉の蒸散速度は、対照区ではエイジの進行にしたがって低下したが、本葉切除区では切除処理後約5日間は変化が小さく、その後増大した。また、CO_2飽和条件下でのO_2発生速度も、本葉切除後5日間の間に速やかに増大した。このことは、本葉切除後約5日間の光合成速度の著しい増大は、気孔開度の増加によるのではなく、光合成の変化によっていることを示唆している。

そこで、今回は、このような急速な光合成速度の増大が、初生葉の光合成系におけるどのような変化と対応しているのか調べた。光合成電子伝達系の成分およびRuBisCOの蓄積量を定量したところ、初生葉の光合成電子伝達成分の蓄積量は対照区と本葉切除区とで大きな差は見られなかったが、本葉切除区では、光合成速度の増大と並行してRuBisCOの蓄積量が増大していることがわかった。

3aD02

穂を切除したイネ止葉の光合成特性

牧野周、仲野廣美、前忠彦、小島邦彦（東北大・農・応用生物化）

登熟期のイネにおいて、穂は、光合成産物の最大のシンク器官である。本研究では、イネ（Oryza sativa L. cv Sasanishiki）を材料に、開花期に穂を切除し、その後の止葉の光合成が、生理生化学的にどのように影響を受けるのかを調べた。

結果　Rubisco 量、クロロフィル量および全窒素量は、穂切除の葉身、葉鞘で、その老化過程を通して、すべて高く維持されていた。また、葉身中のsucrose 量とstarch量は、穂を切除することにより、共に 2 ～ 3 倍程度増加した。しかし、その starch のプールサイズは、sucrose の約 7 分の 1 と小さなものであった。一方、穂切除に伴うstarchの蓄積は、葉鞘において著しく、そのプールサイズは同じ葉鞘のsucrose に比べ、約 5 倍、器官あたりで比較すると、葉身のstarchの約 5 倍にも相当した。その増加した starch も、やがて老化と共に減少していった。一方、飽和光、Ci=23 Paでの止葉の光合成速度を評価したところ、穂切除区、対照区共に、老化過程を通じて、その葉に存在するRubisco の量によって、定量的に説明された。さらに、完熟期の、穂を除いた地上部、地下部の乾物重は、個体当たりで共に、穂切除区の方が大きかった。

以上より、イネでは、穂以外にも潜在的にシンク能を有する器官（葉鞘？）があるため、穂切除は、止葉の光合成に何ら影響を与えなかったのではないかと考えた。

3aD03

円石藻*Emiliania huxleyi*における溶存無機炭素利用機構

関野景介、白岩善博　（新潟大・理・生物）

近年、地球温暖化の原因物質の一つと考えられている大気中CO_2濃度の低減化のため、海産性単細胞石灰藻である円石藻（ハプト植物門、クロロフィルa、cを有する）の光合成による生物学的CO_2固定法が注目されてきた。演者らは、円石藻の液体通気培養系を確立し(マリンバイオテクノロジー研究発表会1992)、溶存無機炭素固定特性を調べ、円石藻によるCO_2利用機構の解明を試みた。

円石藻*Emiliania huxleyi*における光合成（pH8.0, 25℃）の*Km*($NaHCO_3$)は約5.5mM（55μM CO_2）であり、光合成の溶存無機炭素(DIC)に対する親和性は単細胞緑藻などのそれに比べ非常に低いものであった。また、この親和性がカルボニックアンヒドラーゼ（ＣＡ）阻害剤によって影響されなかったことは、光合成におけるＣＡの関与が非常に小さいことを示唆した。

$^{14}CO_2$の光合成産物への固定は時間と共に直線的に増加し、$CaCO_3$(ココリス)への^{14}C固定は、初め直線的に増加し徐々に低下した。細胞内への溶存無機炭素の蓄積は細胞外濃度の約10～20倍と、さほど大きな濃縮率とはならなかったが、pulse-chase実験の結果は細胞内に濃縮した溶存無機炭素がCO_2固定のために確実に利用されていることを示した。

$CaCO_3$結晶成長阻害剤((1-Hydroxyethylidene)bisphosphonic acid)の添加は、$CaCO_3$(ココリス)への取り込みを50～80%阻害したが、光合成速度を上昇させた。このことは、ココリス形成過程と光合成の炭素固定過程へのCO_2の供給が独立に存在するのではなく、取り込まれたDICの両過程への振り分けが細胞内で行なわれていることを示唆している。

3aD04

クラミドモナスのホスホグリコール酸ホスファターゼ活性欠損突然変異株（*pgp-1*）におけるグリコール酸生成について

鈴木健策、猪川倫好[1]（農水省・東北農試、[1]筑波大・生物）

ホスホグリコール酸は最初の光呼吸産物であり、RubiscoのRuBP oxygenase活性により生成する。この物質はトリオースリン酸イソメラーゼを著しく阻害することが知られており、少しでも蓄積すると光合成速度を著しく阻害すると考えられている。一般にはホスホグリコール酸ホスファターゼによりただちにグリコール酸に変換されると考えられるが、この物質が藻類の「CO_2濃縮機構」発現の引き金である可能性が示唆されている。

我々はこれまで単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii*の高CO_2要求性突然変異株18-7Fがホスホグリコール酸ホスファターゼ活性欠損株（*pgp-1*、＝藻類初の光呼吸関連突然変異株）であることを明らかにしてきた。今回さらに詳細に検討したところ、この株にわずかながら残っているホスホグリコール酸ホスファターゼ活性（約 3 μmol Chl^{-1} h^{-1}）が野生株のもつ本来の活性（約 50 μmol Chl^{-1} h^{-1}、水溶性、至適pHは8付近）とは異なり、膜結合性で至適pHも6～7であることがわかった。

また、これまで明らかでなかったこの株の*in vivo*でのグリコール酸の生成についても、5%CO_2培養細胞を大気条件に移したときのAOA依存性のグリコール酸細胞外放出を測定することによりその速度は2～3 μmol Chl^{-1} h^{-1}と、膜結合性の酵素活性にほぼ相当することがわかった。

このことは、ホスホグリコール酸以外の光呼吸産物の「CO_2濃縮機構」発現への関与も否定できないことを示している。

3aD05

水陸両生植物、Eleocharis vivipara の水生型の光合成特性に及ぼすアブシジン酸の影響：C_4型の誘導は可能か？

上野　修（農業生物資源研究所）

カヤツリグサ科の水陸両生植物、Eleocharis vivipara は陸上ではC_4植物の特徴を持つが、水中ではC_3的な形態と光合成代謝特性を発現する。水生型を気相状態におくと水中で形成されていた葉（形態学的には稈にあたる）は枯死するが、数日以内にKranz 型構造と高いC_4光合成酵素活性を持った新しい陸生型の葉を発生することができる。このように乾燥ストレスがC_3型からC_4型への誘導の引き金となっているものと考えられるが、ABA 処理により水中でもこのような誘導が可能か否かを検討した。水生型をABA を含む水溶液の中で生育させると、数日以内に陸生型の外部形態を示す葉を発生し始める。この葉は多数の気孔を持ち、Kranz 様の組織構造を示した。光合成酵素活性については、ABA 誘導葉はコントロールの水生型に比べPEP-カルボキシラーゼは2.3 倍、NAD-リンゴ酸酵素は3.7 倍の増大を示し、またRuBP- カルボキシラーゼも1.6 倍の活性の増大を示した。ABA-誘導葉について0.5 mM $NaHCO_3$ 溶液中で^{14}C-パルス・^{12}C-チェイス実験を行ったところ、10秒間のパルスでラベルの58% はC_3化合物に取り込まれ、このラベルはチェイス期に急速に減少した。一方、0.05mM $NaHCO_3$ 溶液中ではラベルの95% 以上はC_4化合物に取り込まれ、チェイス期にアスパラギン酸のラベルの低下が起こった。

3aD06

C_4植物葉肉細胞葉緑体におけるH^+／ピルビン酸共輸送

青木直大、大西純一、金井龍二　（埼大・理・生化）

C_4植物の葉肉細胞葉緑体では、光依存性の能動的なピルビン酸取り込み活性の存在が知られている。我々は、これまでに、(1)光の代替として、カチオン (Na^+又はH^+)-ジャンプがピルビン酸取り込みを促進する、(2)カチオンの特異性により、C_4植物種はNa^+型とH^+型に分けられる、(3)Na型ではNa^+とピルビン酸との共輸送が働いていることを示してきた。

今回は、H^+型のピルビン酸輸送のメカニズムを解明するために、pH電極を用いて葉肉細胞葉緑体外液のpHを測定し、ピルビン酸添加時のpH変化を追跡し、^{14}C-ピルビン酸取り込み速度との対応を見た。H^+型 (トウモロコシ,ジュズダマ) では、ピルビン酸を加えた時 (1mM , pH7.0)、外液のアルカリ化を示すpH変化が数秒間見られ、これから得られる外液でのH^+減少の初速度は、^{14}C-ピルビン酸取り込みの初速度とほぼ一対一に対応した。また、H^+型の^{14}C-ピルビン酸取り込みを完全に阻害する濃度の5 mM N-エチルマレイミド存在下では、葉緑体外液のアルカリ化も完全に阻害された。一方、Na^+型 (キビ,アワ,ギニアグラス) では、^{14}C-ピルビン酸取り込み速度が高い値を示す条件でも、ピルビン酸添加時の葉緑体外液のアルカリ化は見られなかった。これらにより、H^+型のピルビン酸取り込みのメカニズムは、H^+とピルビン酸との共輸送である事が示唆された。

3aD07

合成キノンを組み込んだPSＩ反応中心での電子移動：ピコ～マイクロ秒高速分光測定による解析

伊藤 繁・熊崎 茂一[1]・岩城 雅代・神取 秀樹[1]・吉原 經太郎[1]　（基礎生物学研究所・分子科学研究所[1]）

ホウレンソウ光化学系Ｉ反応中心から２次電子受容体であるフィロキノンをエーテル抽出した後、酸化還元特性の異なる他種の（合成）キノン（Q= menaquinone-4、2-amino-anthraquinone等）を再構成し、レーザ閃光（ps/ns）照射後の反応中心内電子移動を高速吸収／蛍光分光測定法により解析した。光照射により、P700が励起され、 $P700^+ \cdot A_0^-$が生成する。ここで、①キノンがなければ、逆反応 $P700^+ \cdot A_0^- \rightarrow P700^* \cdot A_0 \rightarrow P700 \cdot A_0$ が起こる。 このためps時間域でのA_0^-の蓄積、及びns域での$P700^*$からの遅延蛍光が観測された。また、②キノンを再構成すると、正反応である$A_0^- \rightarrow Q$の電子移動反応が回復し、Qによる12-37 psのA_0^-の再酸化に伴う吸収変化、及び、ns域で逆反応抑制による$P700^+$からの遅延蛍光の消光が観測された。以上の結果から、$A_0^- \rightarrow Q$への電子移動反応について、電子移動速度とキノンの酸化還元特性（エネルギーレベル）との相関を解析し、$P700^+ \cdot A_0^-$状態のエネルギーレベルを推定した。

3aD08

光化学系Ｉフィロキノン結合部位への非キノン化合物の結合

岩城雅代、伊藤　繁（基生研、細胞内エネルギー変換）

ＰＳＩ反応中心で２次電子受容体として働くフィロキノン（2-methyl-3-phytyl-naphthoquinone）はエーテルで抽出され、他のキノンあるいはその類似化合物で置き換え得る。その結合部位の構造を非キノン化合物の結合力の解析から更に検討した。これまでに、ナフトー、アントラキノンの大部分はこの部位に強く結合し、その結合には疎水性相互作用とキノンカルボニル基との水素結合が重要である事、反応性はキノンの酸化還元電位で決まることがわかっている 。

今回は更に、化合物の種類を広げ、電子受容体として機能しないが、強い結合力を持つ化合物（阻害剤）を調べた。実験は、ホウレンソウ光化学系Ｉ粒子をエーテル処理してフィロキノンを除いた後、これらの化合物存在下で結合定数の既にわかっているキノンを再構成し、活性回復の阻害度から結合定数を推定した。カルボニル基を持つ芳香族化合物、複素環化合物は強い結合力を示した。一方カルボニル基のないフェナンスロリン類も強い結合力を示した。この他、アンチマイシン、ミクソチアゾール等のチトクロムｂ－ｃ1複合体のキノン部位阻害剤も結合した。これらに似た構造を持つにもかかわらず、殆ど結合しない化合物も多かった。これらの結果から、ＰＳＩフィロキノン結合部位の構造を検討した。

(1) Iwaki, M.& Itoh, S. (1991) Biochemistry 30,5340.

3aD09

エーテルーアセトアルデヒド処理法によるChl-a/P700比が5-7の光化学系Ｉ粒子の調製

池上勇、伊藤繁[1]　（帝京大・薬、[1]基生研）

凍結乾燥した光化学系Ｉ粒子を含水エーテル処理することにより、アンテナサイズの小さい光化学系Ｉ粒子を得ることができる。このときエーテル中の水分含量を増やすと、アンテナ色素がより抽出されるが、Chl-a/P700比が8-10以下のアンテナサイズを持った粒子を得ることはできない。本研究では、アンテナサイズのさらに小さい粒子を得るために、エーテルに様々な有機溶媒を添加し、アンテナ色素の分別抽出に対する影響を調べた。アルコールやクロロホルムなど試みた殆どの有機溶媒は、アンテナ色素をより抽出するがP700も破壊する。その中でエーテルーアセトアルデヒド系のみがエーテルー水系と同様に、アンテナ色素を選択的に抽出できることが分かった。水と異なり、アルデヒドはエーテルと任意の割合で混ざり合うので、アルデヒド含量を増すとアンテナ色素がより抽出される。その結果、最適条件下ではChl-a/P700比が5-7のアンテナサイズを持った粒子を得ることができた。残っているP700の殆どは光酸化活性を持ち、またP700とA_0による吸収帯が大きく現われるため、その室温および低温での吸収スペクトルはP700の酸化型、還元型条件下で著しく異なっている。低温の吸収スペクトルのcurve analysisより、この粒子は、エーテルー水処理粒子に比べて、A_0の近くに位置すると思われるChl-a-670の数は変わらず、一方、いままでP700に最も近いアンテナクロロフィルであると思われていたChl-a-682の数がより減少していることが示された。

3aD10

Anabaena variabilis ATCC29413 の *Psa C* 欠損変異株からの光化学系Ⅰ複合体の単離とそのサブユニット組成

園池公毅[1,2]、R. Mannar Mannan[2]、加藤栄[1]、Himadri Pakrasi[2]
[1]東大・理・植物、[2]Washington Univ., Dept. Biology

糸状ラン色細菌 *Anabaena variabilis* ATCC29413 は完全暗黒下で培養が可能なため、系Ⅰを失活させた変異株を作成することができる。Mannan らは psaC 遺伝子にカナマイシンカートリッジを挿入することによって失活させた変異株を作成した。この変異株Ｔ３９８－１はFA／FBセンターを結合した *PsaC* ポリペプチドを持たないが、P-700 と FX の間で電荷分離を起こすことができる [Proc. Natl. Acad. Sci. USA(1991)88, 10168-10172] 。本研究ではこの変異株と野生型のチラコイド膜をドデシルマルトシド（ＤＭ）で可溶化した後、ＤＭ-ゲル電気泳動によって系Ⅰクロロフィルタンパク質を単離しそのサブユニット組成を検討した。野生型のチラコイド膜からは４つのクロロフィルを含むバンドが得られ、そのうち易動度の小さな３つのバンドは低温蛍光スペクトルから系Ⅰ複合体であることがわかった。これらの３つのクロロフィルタンパク質はそのサブユニット組成が基本的に同じで、ストロマ側の表在性サブユニットである *PsaD, PsaE* サブユニットを保持している。しかしＴ３９８－１株からは２つのクロロフィルバンドのみが分離し、そのうち１つのみが系Ⅰの蛍光を示した。この系Ⅰのバンドの易動度は野生型からのものに比べて大きく、*PsaD, PsaE* のサブユニットが存在しなかった。これらのことから *PsaC* が存在しないと *PsaD, PsaE* サブユニットが系Ⅰ複合体に組み込まれないことが示され、またこのことがクロロフィルタンパク質の高分子量型バンドの形成に寄与していると考えられる。

3aD11

光化学系Ⅰ標品の光阻害について

馬場恭子, 和田敬四郎, 星名哲（金沢大・理・生物）

植物は、過剰に強い光にさらされると光合成活性が低下することが知られている。本研究ではホウレンソウのチラコイド膜をトライトンで可溶化して得られるいろいろの光化学系Ⅰ標品の光阻害について調べた。PSI-200に白色光を2時間当てるとDCPIPH$_2$からメチルビオロゲン（MV)への電子伝達活性が約半分に低下し、クロロフィル含量も同程度減少した。一方反応中心P700の含量は変化しなかった。この光阻害に伴って、チトクロームCの還元、過酸化脂質の形成が見られた。PSI-200をさらにトライトンで処理した後、蔗糖密度勾配遠心法により得られるPSI-100（100Chl/P700)でもほぼ同じ結果が得られた。ところが、PSI-200をハイドロキシルアパタイトゲルカラムに吸着させてトライトンでクロロフィルを取り除いた標品（HA-40, 40Chl / P700)を強光処理しても、MV還元活性の失活もクロロフィルの退色もみられなかった。これらの結果をもとに、いろいろな光化学系Ⅰ標品の光阻害のメカニズムについて議論する。

3aD12

葉緑体におけるサイクリックおよびノンサイクリック電子伝達系の相互作用

小林善親, U. Heber[1]（九大・農・林学, [1]ヴェルツブルグ大学）

酸化型反応中心クロロフィルの増加は光合成の量子収率を低下させる。逆に還元型の増加は光阻害をひきおこす。CO_2の不足・強光下あるいは、PSⅡ活性が減少したとき、植物は、量子収率の極端な低下や、光阻害をどのように防いでいるのかを知ることは重要である。現在のところP700の酸化・還元状態とサイクリック電子伝達速度との関係については知られていない。

PAMシステムおよびサイクリック電子伝達速度測定法を用いて，赤色光照射下における P700の酸化・還元状態、とサイクリック電子伝達速度を無傷葉緑体を用いて調べた。従来，PSⅡにおける電子受容体がQ_Aのみであるとき，飽和光照射下でP700は還元状態にあり、サイクリック電子伝達反応はおこらないと考えられていた。しかし、このような条件下でも 酸化型P700は存在しており，サイクリック電子伝達速度は，約120 μequiv. e/mgChl·h であった。この速度は，PSⅡ活性の低下とともに 加速され，酸化型P700の量も増加する。

これらの結果から，サイクリック電子伝達系は，そのH$^+$ポンプ機能によりATPレベルを増加させるとともに，PSⅡの電子をプラストキノンやP700に戻すことにより ノンサイクリック電子伝達速度を制御していることが示唆された。

3aD13

NADPH とフェレドキシンによるプラストキノンプールの酸化還元調節

真野純一, Ulrich Schreiber[1], Ulrich Heber[1], 浅田浩二（京都大・食研, [1]Würzburg 大・植物研Ⅰ）

クロロフィル (Chl) 蛍光はチラコイド膜のプラストキノン (PQ) プールの酸化還元状態の指標となる。パルス変調Chl 蛍光光度計を用い、照射中の葉緑体のPQ プールがNADPHとフェレドキシン(Fd) により酸化還元調節を受けていることを見い出だしたので報告する。

調製直後の無傷葉緑体に強い光を照射し、１分後に消すと、その直後に一時的な蛍光の増大(F_{tr}) が見られた。F_{tr} は$HgCl_2$, antimycin A、あるいはnigericin で完全に抑制された。光を消した後のチラコイド膜のエネルギー化状態の緩和によってnonphotochemical quenching が解消されるが、この解消は$HgCl_2$により影響されず、F_{tr} の原因ではない。ジヒドロキシアセトンリン酸を加え、葉緑体のNADPH とATP 濃度を高めると、F_{tr} が増大した。したがってF_{tr} は光還元生成物からPQ プールへの逆向きの電子の流れを反映したものと考えた。

チラコイド膜を用いた場合、Fd が存在するときにのみF_{tr} が見られた。NADPH を添加すると暗所での蛍光レベルはFd 存在下で上昇し、NADPHによりPQが還元されうることがわかった。葉緑体中でのNADPH とPQ プールとの酸化還元レベルの調節はこのように Fd を介して進行していると思われる。

3aD14

葉緑体のスーパーオキシド生成活性の炭酸イオンによる調節

畑中　覚、村田　善則、高橋　正昭　（甲南大・理・生物）

葉緑体の電子伝達には、NADPを還元するルートと、酸素を還元しスーパーオキシドを生成するルートがある。スーパーオキシドは、葉緑体内で直ちに不均化されて除かれ、その代謝の様子を見ることは簡単ではない。本研究では、包膜を透過して葉緑体外に出てくるスーパーオキシド量をモニターして葉緑体内のスーパーオキシドの濃度変化を推定し、炭酸固定を行いNADPHが盛んに消費されている時に、スーパーオキシド生成活性はどの様に変化するのかを調べてみた。

スーパーオキシドは、光照射されたホーレンソウ無傷葉緑体の包膜の外側でも、チラコイド膜で生成した量の15%が検出された。この透過量の変化から判断して、スーパーオキシドの生成は、照射開始直後は速く、やがて遅い定常速度に変わることが認められた。炭酸イオンが存在すると、光照射中ずっとこの速い生成が継続される。この炭酸イオンの効果は、スーパーオキシド・アニオンの膜透過に対するものではなく、炭酸イオンが、スーパーオキシドの生成活性を促進した結果であると思われる。チラコイド膜によるスーパーオキシドの生成活性には炭酸イオンの促進効果は顕著ではないので、ストロマ成分の関与が考えられた。暗中でのNADPHの酸化が、炭酸イオンの添加により促進されたことから、NADPH oxidaseの活性が炭酸イオン濃度によって調節されていることが示唆された。炭酸固定に適当なATPとNADPHのバランスに、炭酸イオンがあれば調節を行う巧妙な機構が存在することが示唆された。

3aE01

ユリ花粉から単離した雄性配偶子細胞の生化学的特性

太田　豊、上田健治、川上直人[1]、田中一朗　（横浜市大・文理・生物、[1]横浜市大・木原生研）

被子植物の二細胞性花粉内にある生殖細胞は、雄性配偶子の前駆細胞として遺伝的に重要であるが、その存在様式が特殊なため、これまで生化学的知見はほとんどない。そこで我々は、テッポウユリの花粉プロトプラストを出発材料にして、大量に単離調整した生殖細胞を用い、雄性配偶子細胞の細胞質と核の生化学的解析を試みた。

まず、生殖細胞の可溶性タンパク質を二次元電気泳動によって栄養細胞や体細胞と比較したところ、生殖細胞に特異的に存在するタンパク質が検出された。一方、生殖核についても特異的な核タンパク質をいくつか検出した。また、生殖細胞からpoly(A)$^+$RNAを精製することができたので、これらのことから雄性配偶子細胞にも、少なくともタンパク質合成系が存在していることが示唆された。この生殖細胞のmRNAよりコムギ胚無細胞タンパク質合成系を用いて翻訳させたタンパク質についても二次元電気泳動を行ない、mRNA産物と既存のタンパク質の比較分析を試みている。

3aE02

植物のアスコルビン酸酸化酵素遺伝子の構造と発現

木須康智、後藤美和、加藤直洋、江坂宗春（広島大 生物生産）

アスコルビン酸酸化酵素は、高等植物特有の分泌性酵素である。これまでの研究で、カボチャ果実組織のカルス化によりその発現が増大すること、補欠金属である銅により発現が制御されていることが示されている[1]。一方、カボチャ培養細胞のcDNAがクローニングされた。本研究では、カボチャゲノム遺伝子の構造について、さらに、ウリ科以外の植物として、タバコに焦点をあてて、アスコルビン酸酸化酵素の発現について調べたので報告する。

［方法と結果］カボチャゲノムライブラリーを作製し、アスコルビン酸酸化酵素cDNAをプローブとしてスクリーニングを行い、3.85kbpの陽性断片を得た。全塩基配列を決定し、ゲノム遺伝子の構造を明らかにした。本遺伝子には３つのイントロンが存在し、5´上流域にはTATAboxやCATboxが認められた。

タバコ培養細胞(BY－2)についてアスコルビン酸酸化酵素の発現について調べた。本酵素活性はカボチャと比較して著しく低いことがわかった。しかし、カボチャのアスコルビン酸酸化酵素と免疫学的に同一と思われる蛋白質が検出された。一方、ゲノミックサザン分析の結果、タバコゲノム中に本酵素遺伝子の存在が示唆された。しかし、ノーザンブロットの解析では本酵素mRNAは検出できなかった。

1)M. Esaka, Y. Kisu (1992) Plant Physiol. 100, 231

3aE03

部分２倍体を用いた*Rhodobacter capsulatus*の生育に必須な７鉄フェレドキシンIIの構造-機能解析系の構築と応用

末次由実、佐伯和彦、松原　央（阪大・理・生物）

細菌フェレドキシンは、鉄硫黄クラスターの数と性質により、いくつかの型に分類される。[4Fe-4S]と[3Fe-4S]を各々１つずつ持つ*Azotobacter*型７鉄フェレドキシンは[4Fe-4S]を２個持つ８鉄型のものに比べ、i)C末端側が50残基程度長い、ii)クラスター保持に関与するシステインの配置が異なる、という特徴を持つ。私達はこの型に属する*R. capsulatus*７鉄フェレドキシンII（FdxA）の蛋白質工学的改変を通じて、物性に関する情報量の多さに比べて生理機能についてはほとんど不明な、この７鉄フェレドキシンにおける蛋白質の構造と機能の関連の解析を試みた。

R. capsulatus FdxAは恒常的に発現する必須蛋白質で、野生株の遺伝子破壊が不可能なことから改変蛋白質の単純な解析は困難である。まず、予め*fdxA*をプラスミドとして野生株に導入した部分２倍体を作製した後、ゲノム*fdxA*を選択的に破壊するという系を構築した。次に、この系を用いた場合改変蛋白質が生理機能を果たし得る場合にのみゲノム遺伝子破壊株が得られることに基づき、前述の構造上の特徴に着目して改変した各種の変異*fdxA*について調べた。その結果、C末端から10残基以上欠失させた場合にはゲノム*fdxA*破壊株は得られず、C末端付近の構造が機能上必須であることが明らかになった。またそれらの変異*fdxA*は生体内で極めて不安定であることが抗*fdxA*抗体を用いた解析から示唆された。一方、システイン間に位置するアミノ酸の部分配列を改変した遺伝子を用いた場合には野生株と異なる生育能を示すものが得られた。

3aE04

管状要素分化過程で発現する細胞壁結合性ペルオキシダーゼアイソザイム(P1～P5)の分離及びその性質の解析

佐藤　康・杉山宗隆・駒嶺　穆・福田裕穂（東北大・理・生物）

リグニンは管状要素分化に特徴的な物質である。このリグニンの合成過程の最終段階のヒドロキシシンナミルアルコール類の重合反応はペルオキシダーゼにより触媒されると考えられている。私達はヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化実験系を用い、管状要素分化特異的に関連して発現する数種のペルオキシダーゼアイソザイムを分離し、リグニン合成への関与について解析した。

細胞壁から塩抽出されるイオン結合性ペルオキシダーゼ画分において、cathodic native PAGEによりP1～P5の5つのアイソザイムが検出され、特にP5が分化特異的アイソザイムとして決定されている。これらのアイソザイムのうちP1、P3、P5をCM-Sepharose、Mono-S、Phenyl-Superose等を用いることにより分離した。P5は分離過程でさらに2つのアイソザイムP5A、P5Bに分離された。分離されたアイソザイムP1、P3、P5A、P5Bについて至適pHを調べた結果、全てのアイソザイムで弱酸性側に至適pHが存在したが、特にP5Bの至適pHは4と低かった。また、P1、P3は反応にCa^{2+}を必要とする事が示された。またコニフェリルアルコールを基質とした場合のKm値はP1=0.1mM、P3=0.37mM、P5A=0.29mM、P5B=0.48mMであった。さらにこれらのアイソザイムの、*p*-クマリルアルコール、シナピリアルコールに対する基質特異性も測定した。

これらの結果から、二次細胞壁でのリグニン合成におけるこれらのアイソザイムの役割について考察する。

3aE05

テンサイ肥大根のシンク活性と糖代謝活性の関連

川口健太郎、箱山　晋、堅木育雄　（北海道農業試験場）

炭水化物を生産する作物のなかでもテンサイは大量の砂糖（スクロース）を肥大根に蓄積する作物で、サトウキビと並んでその特異的な物質生産機構の生理学的解明は大変興味のある問題である。そのため、従来多くの研究が行なわれ、特に糖の高濃度蓄積を可能にしている膜輸送の機構について詳細な知見が得られている。演者らはそれらの研究蓄積を踏まえ、テンサイ肥大根のシンク活性を決定する生化学的指標を求めることを目標として研究を開始した。その端緒として糖を直接代謝変換する酵素群に着目し、糖蓄積能力との関連を調べたのでここに報告する。

温室におけるポット試験により、テンサイの生育初期においては葉茎菜用品種「フダンソウ」と製糖用品種「モノヒカリ」では生育にともなう酵素活性の変動とその活性量は数種の酵素について品種間差が認められた。さらに、圃場で全生育期にわたってそれらの活性を追跡したところ、特にUDPｸﾞﾙｺｰｽﾋﾟﾛﾌｫｽﾌｫﾘﾗｰｾﾞは分裂・肥大活性の高いと思われる肥大根外縁部での活性が中心部を終始凌駕するなど、シンク活性の大きさを決定する生化学的要因の１つではないかと思われた。

3aE06

イネ培養細胞におけるUDPグルコースピロホスホリラーゼの局在

木村　信、三ツ井敏明[1]、松岡　勉[1]、伊賀上都夫[1]
（新潟大・自然科学・生命システム、[1] 新潟大・農・農化）

UDPグルコースピロホスホリラーゼは、多糖、糖タンパク質の糖鎖およびショ糖などの合成における、グルコース供与体であるUDPグルコースの細胞内レベルを調製している酵素である。また一般的に、このピロホスホリラーゼは細胞質に局在する酵素であるといわれている。

我々はイネ懸濁培養細胞の可溶画分から、硫安分画、トヨパールHW65-c、ブチルトヨパール650M、DEAEトヨパール650M、セファデックスG-100、DEAEセファデックスA-50を用いて本酵素を精製し、分子量がゲル濾過で54,000 Da、SDS-PAGEで55,000 Daの精製標品を得た。この精製酵素に対するポリクローナル抗体を調製し、プロテインＡ－金コロイドを用いた免疫電顕によって細胞内局在を調べたところ、細胞質だけではなくゴルジ体とアミロプラストにも抗体の反応が観察された。細胞全体としては90%以上の金粒子が細胞質に観察されたが、個々のオルガネラにおける標識密度を求めるとアミロプラストが最も高く、ゴルジ体は細胞質に匹敵する値であった。さらに、ゴルジ体における本酵素の局在を確認するために、イネ細胞からグリセロール不連続密度勾配遠心によってゴルジ体膜を調製しimmunoblotingを行った。

3aE07

ゼンマイ胞子葉緑体からのプロテインキナーゼの分離

與志平尚、水上史之、深澤義親、井上弘　（富山大・理・生物）

ゼンマイ胞子はすでに葉緑体を備えており、緑色を呈している。この緑色胞子の葉緑体を単離し、葉緑体タンパク質のリン酸化を調べると、高等植物の成熟葉の葉緑体で観察されるよりもはるかに多くのタンパク質がリン酸化されている。今回、このリン酸化に関与すると思われるプロテインキナーゼの単離を試みた。

葉緑体を低張液で洗った後のチラコイド膜を凍結融解することにより遊離してくる抽出物中には、光に依存しないでリン酸化される基質タンパク質とそれをリン酸化する酵素が含まれている。遊離したタンパク質の中でリン酸化される主なものは36kDポリペプチドであるが、36kD自身は自己リン酸化能を持っていない。抽出液から硫安分画により部分精製した画分に、幾つかの自己リン酸化能を持つタンパク質が認められ、最も顕著なものは38kDポリペプチドであり、SDS-PAGEのCBB 染色で区別されるスポットとして得られる。

3aE08

イネ篩管におけるタンパク質のリン酸化

中村進一、林浩昭、森敏、茅野充男　（東大・農・農芸化）

インセクトレーザー法は植物体に過激なストレスをかけることなく純粋な篩管液をとりだすことができる．したがって得られる篩管液は篩管内で起こる生理的変化を如実に反映していると考えられる。

イネ篩管内では光条件に支配されるタンパク質のリン酸化、脱リン酸化が起こることから、篩管液採取時における光の刺激が何らかの形で篩管内に到達し、タンパク質のリン酸化の状態に変化を生じさせていると考えられる。また in vitroで篩管液タンパク質のリン酸化が起こることからイネ篩管液におけるプロテインキナーゼの存在が示唆されている。

プロテインキナーゼの性質の一つである自己リン酸化反応を起こすタンパク質の検出を反応液中にカルシウムイオンの存在下で行ったところ分子量約48kDaの蛋白質を検出することができ、このタンパク質がイネ篩管液中に存在するプロテインキナーゼの1つであることが予想された。更にイネ篩管液タンパク質のリン酸化反応はカルシウム依存性であることや、マグネシウムの要求性、GTPをリン酸基の供給物質として使用できることからイネ篩管液中にはカルシウム依存性のプロテインキナーゼが存在すると考えられる。更にプロテインキナーゼの阻害剤によりリン酸化反応が阻害を受けることからもイネ篩管液中にはプロテインキナーゼが存在することが示されている。

3aE09

ワカメ遊走子の膜結合プロテインキナーゼの可溶化とその性質

武藤　尚志、湯浅　高志、大森　正之[1]（東京大学　応微研、教養[1]）

ワカメ（*Undaria pinnatifida*）遊走子にはcAMPが8-11 pmol/mgタンパク質、cGMPが10-20 pmol/mgタンパク質含まれており、また、cAMPによって活性化されるプロテインキナーゼが存在することを既に報告した（J. Phycol, 27: 540-543, 1991）。

今回は、ワカメ遊走子の膜画分に高いプロテインキナーゼ活性が認められたので、その諸性質を調べた。ワカメめかぶ(胞子葉)は1992年6月に東京大学海洋研究所大槌臨海研究センターにおいて採集した。めかぶを半日-1日室温で乾燥した後、濾過海水に戻して遊走子を放出させた。遊走子を3000×*g*、5分間遠心して集め、直ちに-80℃のフリーザーに保存し以下の実験を行なった。凍結遊走子を3倍容積の抽出液（1 mM DTTを含む25 mM Bis-tris Propane/25 mM Mes、pH7）に懸濁し、10秒間づつ6回超音波破砕した。200,000×*g*、15分間遠心した上清を酵素液として用いた。プロテインキナーゼは抽出液に20-30 mM CHAPSを添加すると効果的に可溶化された。可溶化後の酵素は活性測定時にCHAPSが存在すると著しく阻害された。ヒストン、カゼイン、ミエリン塩基性タンパク質などがリン酸化を受けた。ヒストンをリン酸受容体とした時のK_m（ATP）は約50 μM、最適pHは7.5であった。1 μM K252aにより強く阻害されたが、0.1 mM H-9は阻害効果を示さなかった。カルモデュリン阻害剤のカルミダゾリウム、コンパウンド48/80、トリフルオペラジンはカルモデュリンを阻害する濃度を用いても阻害効果がなかった。100 μM Ca^{2+}および100 μM EGTAも活性に影響を与えなかった。cAMPは可溶化されたプロテインキナーゼに対しては活性化効果を示さず、高濃度（>1 μM）では阻害的であった。

3aE10

耐塩性緑藻ドナリエラのCa^{2+}依存性プロテインキナーゼと浸透圧ショックに応答したタンパク質リン酸化

湯淺　高志、武藤　尚志　（東京大学　応微研）

我々は既に耐塩性緑藻ドナリエラ(*Dunaliella tertiolecta*)のCa^{2+}依存性プロテインキナーゼ(CDPK)を部分精製してその性質を明かにしたが、更にドナリエラからCDPKを約20,000倍に精製した。この標品は60および52kDaのタンパク質を含み、いずれも触媒活性を持ち、SDS-PAGEではCa^{2+}依存的な泳動度の増大を示した。このCDPKは*in vitro*においてドナリエラのマイクロソーム画分のタンパク質を良好な基質としたが、特に28kDaのタンパク質を顕著にリン酸化した。

一方、先に低浸透圧ショックにより引き起こされた細胞の形状変化からの回復がプロテインキーゼ阻害剤 K252aによって阻害されることを報告した。今回は0.5 M NaClを含む培地で生育した細胞を^{32}Piラベルして細胞に低浸透圧ショック(0.5→0.2 M NaCl)と高浸透圧ショック(0.5→1.1 M NaCl)を負荷し、リン酸化タンパク質の変化をSDS-PAGEにより分析した。低浸透圧ショックを負荷後、2-10分の時点で28-32kDa付近のタンパク質に一過性のリン酸の取り込みの促進が観察された。この28-32 kDaタンパク質のリン酸化は、Ca^{2+}イオノホア処理によって浸透圧に関わりなく促進されたが、K252aによって顕著に抑制された。高浸透圧ショックの負荷により、ショック直後から、30-100kDaに広がるスメア状のバンドにリン酸が取り込まれた。このスメア状バンドはsorbitolによる浸透圧上昇(0→1.2 M)では生じなかった。

*In vitro*と*in vivo*におけるタンパク質リン酸化の結果から、ドナリエラの低浸透圧ショックからの回復過程にCDPKによるタンパク質リン酸化が関与していると考えられる。

3aE11

テッポウユリの球根および花粉のミトコンドリアF－ＡＴＰａｓｅの比較

伊藤　文、関谷　次郎（京大農　農化）

ミトコンドリア電子伝達系は４つの酵素複合体と酸化的リン酸化を行なうF$_o$F$_1$－ＡＴＰａｓｅから構成され、ＡＴＰを合成する。F$_o$F$_1$－ＡＴＰａｓｅは少なくとも１２種類のサブユニットから成り立っているといわれており、触媒部位であるF$_1$部分と、生体膜に埋め込まれプロトン輸送を行なうF$_o$の部分からなる。

テッポウユリ（Lilium longiflorum）の球根および花粉より亜ミトコンドリア粒子（ＳＭＰ）を経てF$_1$－ＡＴＰａｓｅを電気泳動的に均一に精製した。異なる組織から精製したF$_1$－ＡＴＰａｓｅの比活性はほぼ等しかった。しかし二次元電気泳動を行ったところ、αサブユニットには等電点の異なる２種類のペプチドがいずれにも存在していたのに対して、βサブユニットに関しては、球根では１種類の、花粉では２種類のペプチドが認められた。これらの結果から、F$_1$－ＡＴＰａｓｅの多型性の存在が示唆された。球根および花粉からＳＭＰを調製し、Ｍｇ依存性の酵素活性を膜についた状態で測定すると、花粉由来酵素の比活性は球根に比べ数倍高く、アーレニウスプロットなども異なっていることがわかった。従って、ＳＭＰにおいても２つの組織間で、F$_1$F$_o$－ＡＴＰａｓｅ活性が異なることが示された。

3aE12

光化学系IIの表在性23-kDaタンパク質の変性体に特異的に作用するチラコイド膜プロテアーゼ

鈴木　恒平、桑原　朋彦　（筑波大・生物）

プロテアーゼは1M NaClにより光化学系II膜から抽出され、脱塩後Mono Sカラムクロマトグラフィによって部分精製された。プロテアーゼは、p-クロロマーキュリフェニルスルホン酸で処理された23-kDaタンパク質（唯一のシステイン残基をCys159に持つ）を分解し59番目のロイシンからの分解物を生じたが、Nativeな23-kDaタンパク質を分解しなかった。本プロテアーゼは変性23-kDaタンパク質に特異的に作用すると考えられる。その他のタンパク質変性処理の効果を、処理後の基質をプロテアーゼとインキュベートすることにより調べた。アスコルビン酸処理により上記と同様の分解が起こったが、熱処理や過酸化水素処理では分解は起こらなかった。これらのことから、ある特定の変性のみがプロテアーゼに対する感受性を付与すること、そしてその変性にはCys159の反応が関与していることが示唆された。また、アスコルビン酸処理による分解の誘導は本プロテアーゼが葉緑体内で実際に23-kDaタンパク質を分解し得ることを示唆している。

3aF01

ハプト藻*Pavlova lutheri*におけるベタイン脂質と脂肪酸組成

加藤美砂子，足立恭子，中西(羽白)京子，石垣英志，佐野浩
（海洋バイオテクノロジー研究所　清水研究所）

*Pavlova lutheri*はハプト藻である*Pavlova*目に属する微細藻類であり，総脂肪酸の35%を 20:5 や 22:6 などの高度不飽和脂肪酸が占めている。このような高度不飽和脂肪酸の生合成系をあきらかにするために，高度不飽和脂肪酸の脂質局在性を調べた。その結果，高度不飽和脂肪酸を多く結合している2種の極性脂質を2次元薄層クロマトグラフィーによって検出した。そこで，HPLCを用いて精製を行ない，C-NMRスペクトルによる解析から，1種はDiacylglyceryl－O－(hydroxymethyl)(N, N, N-trimethyl)－β－alanine (DGTA) であることが確認された。また，もう1種は，C-NMR, FAB-MSのスペクトル解析より構造決定を行ない新規化合物である(1, 2-Diacylglyceryl)－3－(O－carboxy hydroxymethylcholine) (DGCC)であることがあきらかになった。22:6 はDGTAに局在化し，常に構成脂肪酸の60%以上を占めていた。これに対し 20:5 はDGTAにはほとんど存在せず，DGCCの sn-2位に局在していた。

3aF02

ラン藻の脂質組成に対するグルコースの影響

佐藤直樹　（東京学芸大・生命科学）

ラン藻（シアノバクテリア）の脂質の主要成分は，高等植物の葉緑体などと同じく，ＭＧＤＧ，ＤＧＤＧ，ＳＱＤＧ，ＰＧの４種類であるが，その他に微量成分としてグルコ脂質（Ｇ１ｃＤＧ）を含んでいる。通常，Ｇ１ｃＤＧの含量は極めて低く，全脂質の１％以下である。以前の研究によって，Ｇ１ｃＤＧがＭＧＤＧの前駆体であることがわかっていたが，この脂質に関する詳細な研究は，その含量の低さとＭＧＤＧとの分離の難しさ等のために，あまり進んでいない。

Synechocystis PCC6803 の細胞を培養する際に，ＢＧ１１培地に５ｍＭのグルコースを添加して，光を当てながら培養すると，Ｇ１ｃＤＧの含量が全脂質の約９％まで増加した。このとき，ＤＧＤＧの含量が顕著に低下し，ＭＧＤＧの含量はあまり変わらなかった。Ｇ１ｃＤＧを単離して，その脂肪酸組成を調べたところ，１６：０と１８：１が主要な脂肪酸であった。これに対し，ＭＧＤＧとＤＧＤＧでは１６：０，１８：１，１８：２，１８：３γが，ＳＱＤＧとＰＧでは１６：０，１８：１，１８：２が主要な脂肪酸であった。このことは，Ｇ１ｃＤＧがＭＧＤＧの前駆体であることと矛盾しない。なお，グルコースの添加により，各脂質の脂肪酸の不飽和度が僅かに減少することもわかった。また，細胞の生育は，グルコース添加によりやや促進され，特に，細胞密度が高くなってきたときにも速い増殖が維持されることがわかった。なお，グルコースの脂質に対する影響は，これまで知られていない新しい現象である。

3aF03

葉緑体膜糖脂質生合成酵素の光および植物ホルモンによる活性化

**太田啓之、下嶋美恵、増田　建、塩井祐三、高宮建一郎
（東工大・生命理工・生体機構）**

高等植物の葉緑体形成時において、葉緑体内で膜構造の著しい発達がおこるが、この膜構造の発達に際して、葉緑体膜脂質の主要構成成分であるガラクト脂質の含量が著しく増大する。しかし、葉緑体の形成時における、ガラクト脂質生合成の光環境との関係、葉緑体の分化における役割については、ほとんど研究がなされていない。そこで、本研究では、ガラクト脂質生合成のキー酵素である UDP-galactose:diacylglycerol galactosyltransferase (UDGT) の発芽時の活性変化に対する光および植物ホルモンの効果について調べた。

暗所で27℃、4日間発芽させたキウリに光を照射し、緑化時におけるUDGT活性の変化を調べた。UDGT活性は暗所生育時にも増加したが、光照射を行ったものは、さらに著しく増加し、24時間で光照射前の3倍、60時間で4.5倍に達した。また、暗所で継続して生育させたものは、4日以後、ほとんど活性の増加は認められなかった。活性の増加はシクロヘキシミドによって阻害され、タンパク質合成に依存していることが示唆された。また、光照射時に、ベンジルアデニンを添加すると、活性の増加が促進された。以上のことから、UDGTの活性発現は、葉緑体の形成時において光および植物ホルモン等により制御されていると考えられる。

3aF04

糸状性ラン藻 *Anabaena variabilis* のΔ12位脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子

坂本敏夫[1]、和田元[2]、西田生郎[1,2]、大森正之[3]、村田紀夫[1,2]（[1]総研大、[2]基生研、[3]東大教養）

ラン藻における脂肪酸の不飽和化は、それぞれ二重結合を導入する位置特異性の異なるアシル脂質不飽和化酵素によって触媒されている。これまでに3種の単細胞性ラン藻よりΔ12位脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*desA*)を単離し、その構造比較を行なって一次構造上保存されている領域を明らかにしている。本研究では、糸状性ラン藻 *Anabaena variabilis* より *desA*の相同遺伝子を単離し、その構造解析を行なった。

A. variabilis のゲノムライブラリーを *Synechocystis* PCC6803 の*desA*のORFのほぼ全長を含むDNA断片(*Hinc* II-*Spe* I, 1.1kbp)をプローブに用いてスクリーニングした。得られた陽性クローンについてプローブがハイブリダイズする領域周辺の塩基配列を決定したところ *desA*と相同性を示すORFが見いだされた。また、この領域を含むDNA断片をΔ12位脂肪酸不飽和化酵素活性を持たない *Synechococcus* PCC7942 に導入したところ、得られた形質転換体では、リノール酸が新たに合成されるようになった。これらの事実は、単離したDNA断片中にΔ12位脂肪酸不飽和化酵素遺伝子が存在し、*Synechococcus* の形質転換体においては、オレイン酸がΔ12位で不飽和化されリノール酸に変化したことを示している。また、オレイン酸はリノール酸に不飽和化されるが、パルミトレン酸は不飽和化されないことから、*A. variabilis* のΔ12位脂肪酸不飽和化酵素は、オレイン酸に対する基質選択性を持つことが推定される。

3aF05

液胞膜H^+-PPaseによるプロトン輸送と低温ストレス

伊集院理江、笠毛邦弘[1]（日本女子大・家政、[1]農水省・食品総合研究所）

植物細胞の液胞膜には、ピロリン酸(PPi)及びATP依存性の2つのH^+ポンプが存在する。これらは低温に対して敏感であるため、低温ストレスの細胞内標的になっている可能性がある。昨年、その1つであるATP依存性H^+輸送及びATPase活性が、低温処理(5℃ 2-6日)によって著しく低下することを報告した。そこで今回は、PPi依存性H^+ポンプと低温ストレスとの関係を明らかにすることを目的とした。

低温感受性の異なる5種類のイネの培養細胞ならびにそれらを低温処理(5℃ 2-7日)したものから、遠心分画法とデキストラン濃度勾配法により液胞膜小胞を単離し、それらに含まれるPPaseの活性及びH^+ 輸送及び活性の比較をした。PPase活性はピロリン酸の加水分解により生じる無機リン酸の生成量から、またH^+輸送能はキナクリンの蛍光の消光の経時変化から測定した。 5℃で2日間低温処理した低温耐性の弱いイネ(var. Boro)から得た液胞膜小胞におけるPPaseによるH^+輸送は、未処理のものに比べ著しく低下した。一方、低温耐性の強いイネ(var.日本晴)の細胞で同じ処理を行っても、ほとんどH^+輸送の低下はみられなかった。PPase活性の低温処理によるのH^+輸送の低下はATPaseによる低下よりも高かった。またPPaseによるH^+輸送の低下は活性の低下に先立っておこった。以上のことから、PPaseによるH^+輸送は低温感受性に関与する重要な要因の1つであると思われる。

3aF06

イネ培養細胞H^+－ＡＴＰａｓｅの再構成膜小胞における脂質流動性とH^+輸送能との相関

中村善行、笠毛邦弘（農水省・食総研）

植物細胞の原形質膜および液胞膜に存在するH^+－ＡＴＰａｓｅはH^+ポンプとも呼ばれ、H^+の能動輸送能を持つ膜結合性タンパク質である。これらは、膜を介したH^+濃度勾配を形成することによって様々な物質輸送を駆動したり、細胞内ｐＨの調節などを行い、植物細胞内の恒常性維持に重要な役割を果たしている。近年、植物細胞の低温傷害にこれらＡＴＰａｓｅの機能の低下が関与している可能性が指摘されている。その機構の詳細は明らかではないものの、膜脂質層の流動性変化との関連性が報告されている。しかしその一方で、膜タンパク質の機能と流動性との相関には否定的な見解も多い。そこで、笠毛らにより確立されたH^+－ＡＴＰａｓｅ再構成膜系を用いて、ＡＴＰａｓｅのH^+輸送機能と膜脂質層の流動性との相関を直接調べることを試みた。

イネ培養細胞より単離したH^+－ＡＴＰａｓｅをアゾレクチンのリポゾームに埋め込み、プロテオリポゾームを作製した。ＤＰＨの蛍光偏光解消から脂質層の流動性を評価し、キナクリンの蛍光消光によってH^+輸送能を測定した。その結果、タンパク質を埋め込むことによって脂質層の流動性が低下することおよび膜を構成するタンパク質と脂質の量比によってH^+輸送能が変化することが明らかになった。これらの結果は、タンパク質と脂質との相互作用が膜タンパク質の機能に関与している可能性を示唆する。現在、コレステロール等を用いて脂質流動性を変化させたときのH^+輸送能についても検討中である。

3aF07

ヤエナリ胚軸より精製した液胞膜H^+ -ATPase の再構成膜小胞のH^+ 輸送能に対する脂質成分の影響

山西弘恭、笠毛邦弘（農水省、食品総合研究所）

液胞膜のH^+ -ATPase は膜を介してのH^+ の濃度勾配を形成し、さまざまな二次輸送の駆動力の形成に関与している。このH^+ -ATPase は膜内在性のサブユニットを介して液胞膜に結合している。可溶化精製した酵素は強い脂質要求性を示し、脂質成分が ATPの加水分解活性やH^+ 輸送能に影響を与えると思われる。我々は前回の年会で ATP加水分解活性に対する脂質の影響について報告した。今回、大豆リン脂質混合物であるアゾレクチンの人工膜と、ほとんどの脂質を除いた精製H^+ -ATPase でプロテオリポソームを作製し、H^+ 輸送能に及ぼす脂質成分の影響を調べたので報告する。

プロテオリポソームは、ヤエナリ胚軸の液胞膜より精製したH^+ -ATPase と脂質を混合し、Triton X-100を加えてミセル化した後、 Ampure DTカラムを通しTritonを除去して作製した。H^+ 輸送能はキナクリンの螢光のクエンチングによって測定した。ホスファチジルコリンなど、単独のリン脂質ではH^+ 輸送能のあるプロテオリポソームを作ることはできなかったが、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、コレステロールの混合組成を持つプロテオリポソームでは安定したH^+ 輸送が観察された。アゾレクチン単独でプロテオリポソームを作製した場合、H^+ は速やかに輸送されるが、徐々に漏出した。これに10~20%のコレステロールまたはセレブロシドを加えると、漏出が抑制された。これは膜構造が安定化したためと思われる。

3aF08

セイヨウナシ果実のトノプラストにおけるH^+－ATPaseの特徴

保坂正春、 金山喜則、山木昭平（名古屋・農・園芸）

成熟したセイヨウナシ果実（ラ・フランス）よりトノプラスト画分を集め、液胞型 H^+－ATPase (V-ATPase)の性質を検討した。トノプラスト画分をトリトン処理後、リゾホスファチジルコリンにより可溶化しSuperose 6ゲルろ過及びMono Q カラムにより分離、精製した。

その結果このトノプラストには、緑豆のトノプラストから調製した57、68kDサブユニット抗体と反応し、硝酸及びバフィロマイシンで阻害されバナジウムで阻害されない既報のV－ATPaseが存在した。しかしながらこのV－ATPaseよりも数倍も高いATPase活性を示す別のタイプのATPaseが存在した。このATPase活性は硝酸、バナジウム及びDCCDにより70％以上阻害されたが、バフィロマイシンによっては阻害されなかった。またそのサブユニットは上記V－ATPaseの57，68kD抗体とは反応せず、さらにホウレンソウ原形質膜のP－ATPaseの100kDサブユニットの抗体とも反応しなかった。そしてゲルロ過による分子量はV-ATPaseより小さかった。DCCDにより強く阻害されたことよりこのATPaseはH^+－ATPaseと思われる。

以上のようにセイヨウナシ果実のトノプラストには既報のV－ATPase、P－ATPaseあるいはミトコンドリアのF_1Fo－ATPaseとは異なったタイプのH^+－ATPaseが含まれている可能性を示した。

3aF09

アカシヲ P-type ATPaseの動物細胞での発現と解析

庄野真理子、和田雅人、藤伊正（筑波大・生物）

海産の単細胞鞭毛藻 H. akashiwo から、P-type ATPaseの遺伝子（HAA13）を単離し、この ATPaseが H. akashiwo 内で葉緑体縁辺部に局在していることを、第57回日本植物学会で報告した。今回、この ATPaseの機能を調べる事を目的として、動物の培養細胞(Chinese Hamster Ovary／CHO株)に HAA13 遺伝子を導入し、この遺伝子によりコードされるタンパク質を多量に発現する株を得た。

動物の発現ベクター(pSVDB･SA)に HAA13 を挿入し、これをリン酸カルシウム法を用いて CHO($dhfr^-$)株に導入した。$dhfr^+$ 株の選抜により、HAA13 ATPaseを多量に発現している "H4"株を得た。HAA13 ATPase は H4株の microsome 画分で発現しており、膜に sortingされている事が確認された。sucrose密度勾配遠心分画法による指標酵素の分布と、anti-HAA13を用いた Westernで確認された HAA13抗原の分布から、この抗原が ER画分に存在することが示された。さらに細胞免疫染色と電子顕微鏡による観察などから、この抗原はミトコンドリアの周りに発達している小胞体で特に強く発現しているものと推定された。現在この細胞を用いて HAA13 ATPaseのイオン輸送のキャラクタライズを行っている。

3aF10

硝酸塩処理によるオオムギ根原形質膜H^+輸送活性の増加

山下耕生、葛西身延、山本洋子、松本英明 （岡山大・資生研）

植物根によるNO_3^-の吸収はNO_3^-によって誘導される機構が関与していると考えられている。また吸収されたNO_3^-はそのほとんどが液胞内に集積するが、植物体内に過剰のNO_3^-が蓄積するとNO_3^-の吸収が低下することが知られている。一方、植物細胞の原形質膜に存在するH^+-ATPaseは、原形質膜を介したイオンのフラックスに重要であるが、NO_3^-によってその活性がどのように変動するのかはまだ報告されていない。そこで本研究では、NO_3^-処理をしたオオムギ根から原形質膜小胞を調製し、H^+輸送活性の変動について検討してみた。

水性二層分配法によってオオムギ根から単離した原形質膜小胞のH^+輸送活性をNO_3^-存在下で測定したところ、コントロール(0.5mM $CaSO_4$)に比べKNO_3処理(10mM KNO_3,1日間)によって50～100％増加した。しかしながら、ATPase活性並びにCl^-存在下で測定したH^+輸送活性はKNO_3処理によって約30％しか増加しなかった。このNO_3^-存在下でのH^+輸送活性の増加は24時間以上のKNO_3処理によって認められた。そこでオオムギ根からのNO_3^-のエフラックスを測定したところ、48時間以上のKNO_3処理によって著しく増加した。

以上の結果から、NO_3^-処理を行なったオオムギ根の原形質膜小胞において、NO_3^-存在下でみられるH^+輸送活性の増加は、H^+-ATPase活性の増加というよりもむしろNO_3^-の透過性が高まったことによるものと考えられた。このNO_3^-の透過性はおそらくオオムギ根原形質膜からのNO_3^-の排出機構に関与しているものと思われる。

3aF11

微生物由来の植物毒素、syringostatin, syringomycin, syringotoxinの作用機構

蔡 晃植、笠毛邦弘[1]、福地直之[2]、磯貝 彰[2]、鈴木昭憲[2]
（理化学研究所、[1]農水省食総研、[2]東京大・農・農化）

植物病原菌 *Pseudomonas syringae* pv.*syringae*から単離、構造解析されたペプチド性植物毒素syringostatinと、構造的に類似した植物毒素syringomycin, syringotoxinの作用機構を、ヤエナリ(*Vigna radiata* L.)培養細胞とヤエナリ胚軸から単離した細胞膜を用いて研究した。まず、syringostatin処理による細胞内pHの変化を^{31}P-NMRを用いて調べたところ、ヤエナリ培養細胞の細胞質酸性化が認められ、これら毒素が細胞内H^+濃度に影響を及ぼすことが示唆された。次に、水性ポリマー２層分配法によってInside-out細胞膜小胞とRight-side-out細胞膜小胞を調製しそれぞれのH^+-ATPaseに与える影響を検討したところ、Inside-outの膜に対しては阻害活性を示し、Right- side-outの膜に対しては促進活性を示した。さらに、Right- side-outの膜にTriton X-100を加えるとこれら毒素による促進活性は消失し逆に阻害活性を示すこと、界面活性剤によって可溶化したH^+-ATPaseの活性も阻害されることが明らかになった。これらの結果は、syringostatin類はH^+-ATPaseに対しての阻害活性と膜を損傷させイオン濃度勾配を破壊する界面活性剤様活性を有することを示しており、従来報告されていたような細胞膜ATPase活性の促進による膜の過分極がその作用性ではないことが示された。

3aF12

パッチクランプ法による高等植物原形質膜及び液胞膜の Ca^{2+} チャネルの記録

張　平、矢部勇、武藤尚志　（東京大・応微研）

Arabidopsis thaliana 葉肉細胞の原形質膜及び液胞膜のCa^{2+}チャネルをパッチクランプ法で測定した。原形質膜のCa^{2+}チャネルは負の膜電位で開口し、Ca^{2+}は細胞外から細胞内に向う方向に移動した。Ba^{2+}をcharge carrierに用いた時、原形質膜のCa^{2+}チャネルのコンダクタンスは 23pS であり、イオン選択性は Ba^{2+}: K^+ = 30 : 1 であった。このCa^{2+}チャネルの活性とreversal potential は原形質側Ca^{2+}濃度の変化に応じて変化した。液胞膜のCa^{2+}チャンネルは負の膜電位で開口し、Ca^{2+}の移動方向は原形質から液胞内であった。このCa^{2+}チャンネルのコンダクタンスとイオン選択性は原形質膜Ca^{2+}チャンネルのそれらと似ていた。

3aF13

大麦葉組織のリン酸ホメオスタシスにおいて、液胞膜が果たす役割の検討。

三村徹郎、横田悦雄、新免輝男、坂野勝啓[1]、沖原清司[1]、清田誠一郎[1]、矢崎芳明[1]（姫路工大・理・生命、[1]農水省・生物研）

我々は植物体のリン酸イオン濃度調節機構について、大麦の葉組織を用いて検討を進めている。大麦を異なるリン酸濃度の下で培養すると、葉組織全体のリン酸濃度は栄養条件に依存して大きく変動するが、葉肉細胞の細胞質リン酸濃度はほぼ一定に保たれる。また、細胞外アポプラストのリン酸濃度も葉組織全体の変化量に比較するとその変動は少ない。一方液胞のリン酸濃度はリン酸栄養条件に比例して最も大きく変動することから、液胞内のリン酸プールが、細胞質やアポプラストのリン酸ホメオスタシスのための緩衝装置として働いていることが推定された。液胞が緩衝装置として働くためには、液胞膜のリン酸輸送が、栄養条件等に応じて調節されている必要がある。本研究では、この液胞膜に注目して、液胞膜のリン酸輸送の性質や、栄養条件に応じた液胞タンパク質組成、他のイオンの輸送活性の変動などについて測定し、液胞膜がリン酸ホメオスタシスに果たす役割について検討した。これまでの実験結果から、正常状態においては液胞膜のリン酸輸送活性は極めて低いが、リン酸飢餓状態ではＡＴＰに依存した輸送活性が現われること、液胞膜のリン酸輸送活性はかなり高濃度まで飽和しないこと、栄養条件に応じて液胞のタンパク質組成に違いがみられること等が見いだされている。

3aF14

ニチニチソウ培養細胞のリン酸吸収に対する薬剤の効果

沖原清司、三村徹郎、坂野勝啓
（農水省・生物研、姫路工大・理）

我々の目標は植物細胞の無機リン酸の吸収に関与する輸送担体の機構解明と同定にある。その一環としてリン酸吸収に対する様々な薬剤の効果をニチニチソウ(Catharanthus roseus)培養細胞を用いて試験した。

植物原形質膜におけるリン酸の吸収がH^+とのｃｏ－ｔｒａｎｓｐｏｒｔであることはすでに明らかにされている。そこで、今回の目標をH^+ポンプの活性には影響を与えずリン酸の輸送活性は抑制する薬剤を探すことにおいた。アニオン輸送阻害剤（ＤＩＤＳ、A-9-C，ｆｕｒｏｓｅｍｉｄｅ他）、タンパク質修飾剤（NEM，NBD-Ｃｌ、他）等１０種類以上の薬剤の効果が試験された。その結果ｆｕｒｏｓｅｍｉｄｅ(0.5mM)は細胞のリン酸吸収を阻害したが、ＤＩＤＳ(1.0mM)は全く阻害しなかった。A-9-C(0.1mM)はリン酸吸収を抑制するだけでなくH^+ポンプの活性も明らかに減少させた。講演においては他の薬剤の結果も含めて報告する予定である。

3aF15

ベンケイソウ型酸代謝の概日リズムの制御とリンゴ酸輸送系

荒田博行，楠見健介，岩崎郁子，西村光雄(九大・理・生物)

CAM 植物は，液胞の pH やリンゴ酸の濃度，CO_2 吸収などに特徴的な日周変化を示す。この変化は光条件や温度の変化のない恒常条件でも継続する，いわゆる概日リズムである。この自律的なリズムを形成する機構のひとつが，ホスホエノールピルビン酸（PEP）カルボキシラーゼ（PEP-C）のリン酸化で，リン酸化された夜型の PEP-C はリンゴ酸によるフィードバック阻害を受けにくく，リン酸化されてない昼型はリンゴ酸により強く阻害される。この二つの状態の周期的な相互変換は連続明条件で持続する。

私たちは，リンゴ酸の輸送系（プロトンポンプとリンゴ酸チャネル[1]）も自律的なリズムを持つかどうか調べるため，Graptopetalum paraguayense の葉のオキザロ酢酸（OAA），ピルビン酸（Pyr），PEP の量の変動を恒常条件で測定した。連続暗条件では PEP-C のリン酸化のリズムは見られないが，OAA，Pyr，PEP の量の周期的な変動も見られない。連続明条件では PEP-C のリン酸化，pH，リンゴ酸などのリズムが持続する。このリズムの形成にリンゴ酸輸送系の制御も関与していれば，リンゴ酸が蓄積される時に OAA や Pyr が減少する，逆にリンゴ酸が消費される時に増加することが予想されるが，そういう変化は見られず，むしろ液胞のリンゴ酸の増減に平行した増減が見られた。また，PEP は PEP-C の変化に対応した変動を示した。今までにリンゴ酸輸送系の制御が自律的なリズムを持つことを示す結果は得られていない。

1) Iwasaki et al. (1992) Plant Physiol. 98, 1494-1497

3aG01

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. II

城市 篤、 降旗 敬、 今井 宏、 桜井英博
（早稲田大・教育・生物）

ニチニチソウ培養細胞をリン酸を含まない培地に移す(-Pi処理)と培養約２日後に細胞の高親和性リン酸取り込み活性が上昇し(Furihataら, 1992)、更に約２日遅れて培地中へ細胞外酸性ホスファターゼが急激に放出される。培養液のnative PAGE、活性染色により、大まかに分けて４つのアイソザイム（移動度の低い順にⅠ（旧Ⅰa）、Ⅱ（旧Ⅰb）、Ⅲ、Ⅳ）が認められる。リン酸を１日おきに加えて培養(+Pi処理)すると全体として活性が低いが、その中ではⅢの活性がⅠ、Ⅱ、Ⅳに比べて大きい。-Pi処理後はⅠ、Ⅱ(前回報告)が主成分となり、活性上昇の割合はⅣもⅢに比べて大きい。Ⅰ、Ⅱについてアミノ酸分析を試みたが、N末端はブロックされているようである。

今回、Ⅲを精製し、Ⅰ、Ⅱと比較した。Ⅰ、Ⅱの精製と同様に培地の50-85%飽和硫安画分を、ゲル濾過(Toyopearl HW55)、陰イオン交換(MonoQ FPLC)にかけ、Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳに分画し、続いてConA-Sepharose、さらにゲル濾過(Superdex75 FPLC)により、Ⅲを電気泳動的に均一に精製した。活性に2価カチオンを必要としない点、糖タンパク質である点はⅠ、Ⅱ、Ⅲ共通であるが、Ⅰ、Ⅱの至適pHが4.5であるのに対してⅢは5.0であった。又、50%阻害に必要なモリブデン酸濃度はⅠ、Ⅱは300nMであったのに対し、Ⅲは10μMであった。Ⅲの基質特異性はⅠ、Ⅱ同様広く、糖リン酸、フィチン酸、ヌクレオチド、PPiなどを分解した。Ⅲの分子量はSDS-PAGEで60kDa、ゲル濾過で52kDaであり、Ⅰ、Ⅱと同様、モノマーであった。

3aG02

ニチニチソウ培養細胞の無機リン酸取り込み－親和性の異なる２種類の成分の比較

降旗 敬、城市 篤、田中正浩、鈴木幹雄、桜井英博
（早稲田大・教育・生物）

ニチニチソウ培養細胞の無機リン酸取り込みには、親和性の異なる少なくとも２種類の成分が存在し、低親和性成分(Km≒47μM)が構成的にみられるのに対して、高親和性成分(Km≒3μM)は、Pi（最終濃度で1.25-2.5mM）を１日おきに追加して培養した細胞にはほとんど見られず、Piを含まない培地での培養によって誘導されてくる成分である[1]。この２種類のPi取り込み成分それぞれについて、細胞内ATPレベルと取り込み活性の関係、および能動輸送を駆動している直接のエネルギー源について予備的研究を行った。

細胞を脱共役剤FCCP、または呼吸鎖とミトコンドリアATP合成酵素の阻害剤NaN_3で処理して細胞内ATPレベルを低下させた時の２つの成分のPi取り込みを比較すると、ATP減少に対する取り込み低下の割合が、FCCPの方が、そして特に低親和性成分で大きかった。さらに、アルカリ→酸変化により細胞内外に人工的なpH勾配を作製したときのPi取り込みを測定したところ、低親和性成分による取り込みはpH勾配によって増大したが、高親和性成分による取り込みはごく僅かしか起こらなかった。

各種の膜輸送阻害剤について、親和性の異なる２つのPi取り込み系に対する影響を比較した。このうちSH修飾剤は両成分をともに阻害したが、NEM、ヨード酢酸では低親和性成分による取り込みをより強く阻害した。

[1] Furihata *et al.* (1992) *Plant Cell Physiol.*, in press

3aG03

バイオイメージングアナライザーを用いた^{36}Clの分布

笛田和佐子、吉田泉、平潭栄次（大阪市大、理、生物）

高等植物にとって塩素は必須性が最後に確認された元素として知られているが,その生理的役割は葉緑体における水分割を除いてよく知られていない。そこでまずアサガオ（Pharbitis nil cv. Violet)、エンドウ（Pisum sativum cv. Alaska),レタス（Lactuca sativa cv.Grand Rapids)を用いて塩素の栄養要求性を調べた。水耕培養液は基本栄養要素から塩素欠乏で生育させた場合、塩素の入っている培養液に比べてレタスはかなり生育が遅れ、アサガオでも生育後１０日以後生育に差が現れるが、エンドウでは３週間後でも差は認められなかった。次に植物体内の塩素の分布を調べるため、^{36}Clを塩素欠乏培養液に与え吸収された^{36}Clの分布をバイオイメージングアナライザー（富士フィルム社）を用いて調べた。アサガオ、エンドウはともに若い葉、頂芽そして茎や根に多く分布し、葉の成長が進むにつれて塩素の葉への吸収は下がり２週間目のアサガオでは子葉にはほとんど分布しなかった。アサガオやエンドウでは暗所や、アルミフォイルで葉の一部を覆った場合^{36}Clは葉に殆ど吸収されなかったが、茎や頂芽では吸収に差は見られなかった。

3aG04

イネにおけるＮＡＤＨ依存性グルタミン酸合成酵素の組織内局在性

早川俊彦、山谷知行、服部冬、前忠彦、小島邦彦
（東北大・農・応用生物化学）

イネは老化組織（ソース）から生長中の葉や穂（シンク）へ主にグルタミンとして窒素を転流する。 演者等は、シンクでの主要な遊離アミノ酸であるグルタミン酸の合成をNADH依存性グルタミン酸合成酵素(NADH-GOGAT)が触媒していることを強く示唆する報告を行ってきた[1)2)]。 この結果を更に検討するため、抗NADH-GOGAT抗体[3)]を用いた免疫組織化学的手法により、イネのシンクにおけるNADH-GOGAT蛋白質の組織内局在性を解析した。

イネ（ササニシキ）をガラス室で水耕栽培し、第９葉身が抽出中の個体の地上部及び開花後の一次枝梗の穎果を材料とした。 免疫組織化学分析のcontrol には、大過剰の精製NADH-GOGAT標品を加えて免疫沈降させた抗NADH-GOGAT抗体液の上清を用いた。 Tissue printイムノブロット法により未抽出葉身と葉鞘を解析した結果、NADH-GOGAT抗原は維管束組織に主に存在していることが判明した。 また、開花後10日目の穎果を包穎と内部の未熟玄米に分けて、各組織をイムノブロット分析した結果、穎果全体のNADH-GOGAT蛋白質の約84%が、貯蔵蛋白質が蓄積される胚乳を含む未熟玄米中に存在した。

現在、パラフィン又は樹脂包埋した未抽出葉身と未熟玄米の切片を抗体染色して、NADH-GOGAT抗原が存在する維管束組織と玄米組織内の細胞の特定を行っている。

1) Yamaya et al. (1992) Plant Physiol. in press.
2) Hayakawa et al. 1992年度本大会
3) Hayakawa et al. (1992) Plant Physiol. 98:1317.

3aG05

イネ篩管液中の13kDaタンパク質のクローニングとその解析

石渡 裕、川嶋 一郎、本多 親子、中村 進一、林 浩昭、森 敏、茅野充男（東大・農・農化）

一般に高等植物における篩管は物質の貯蔵、転流に関わる重要な組織である。よってこの中にはこうした機能に関わる要素が含まれ、作用していると考えられる。我々はこれまでにイネから篩管液を採取し、これに関する分析を行ってきた。これまでの結果、篩管液中のタンパク質組成は一般の組織のそれとはかなり異なっており、限られた種類のタンパク質が多く存在すると推定された。本実験では篩管液中で特に多く存在するタンパク質の一つである、13kDaタンパク質について解析を行なった。

水耕栽培で育てたイネからインセクトレーザー法により篩管液を採取し、2次元電気泳動を行ったところ、一般組織とは異なる9個の主要なスポットが確認された。このうちの分子量13kDaのタンパク質についてエレクトロエルージョン法を用いてタンパク質を回収し、プロテアーゼ分解後部分アミノ酸配列（24アミノ酸）を決定した。そしてこのアミノ酸配列から推定されるDNA塩基配列を元にプローブを作成し、イネcDNAライブラリーをスクリーニングしてクローンを得た。このクローンは約700bpで123アミノ酸をコードしており、アミノ酸ホモロジー検索の結果、既知のタンパク質であるチオレドキシンと高い類似性を示し、活性中心に当たる部分も保存されていることからイネチオレドキシンの一つであると考えられた。さらにこのcDNAクローンを用いてゲノミッククローンを単離し解析を行なった。

3aG06

トビイロウンカに対する吸汁行動阻害物質トランスアコニット酸のイネ科雑草タイヌビエ中における分布と生産

且原真木、坂野勝啓[1]、佐藤守[2]、川北弘[2]、河部暹[2]
（岡大・資生研、[1]農水省・生物研、[2]農水省・蚕昆研）

イネの主要害虫であるトビイロウンカはイネ科雑草タイヌビエには寄生しない。吸汁行動阻害物質と考えられているトランスアコニット酸を定量したところ、イネ植物体には痕跡程度しか見いだされなかったが、タイヌビエには葉身で0.44%、葉鞘で0.26%（生重量当り）と多量に含まれていた。この濃度は人工飼料液に添加した場合、吸汁阻害を引き起こす濃度に達していた。しかしウンカの主要吸汁部位とされる師管液中にはトランスアコニット酸は検出されなかったので、トランスアコニット酸はタイヌビエの皮層や柔組織の細胞に含まれていて、ウンカはプロービング中にこれらの細胞中のトランスアコニット酸を感じて吸汁行動を中断するものと考えられた。純粋な師管液は吸汁中の昆虫の口針をレーザで切断し、切断端から溢泌してくるものを採取し、分析した。

トランスアコニット酸の生合成経路としては二通り知られているが、タイヌビエではシスアコニット酸からアコニット酸イソメラーゼにより生成されることがわかった。イソメラーゼ活性は葉鞘で最も強く、根では葉鞘の1/10程度であり、葉身では検出されなかった。

3aG07

シャジクモ節間細胞の膜電位に及ぼす局所麻酔薬の影響－異なるpH$_o$での作用の程度の比較－

大川和秋，野坂修一[1]，吉川清[2]（阪大・教養・生物，[1]滋賀医大・麻酔，[2]大阪成人病センター・麻酔）

テトラカイン，リドカイン，ブピヴァカイン，プロカイン等の局所麻酔薬はシャジクモ節間細胞の原形質膜の H^+-pumpのコンダクタンスを抑えることと，拡散イオンコンダクタンスを増加することに依り 膜の脱分極を引き起こす[1]．これらの薬物のpK$_a$値は7.8より大きい．各薬物のpK$_a$でのpH$_o$では 酸性あるいは中性条件下よりも 薬物の脱分極作用は著しく増大する．このことは膜のリピッドと親和性の高い薬物の中性型の濃度が高まることによると推測される．一方通常のpH$_o$条件下では常に中性型を保つベンゾカインの脱分極作用は pH$_o$の影響を受けない．このことは前述した薬物と膜のリピッドとの親和性の重要性をより強く支持する．しかしベンゾカインの脱分極作用自体はテトラカイン等に比較すると著しく小さい．従って脱分極作用に直接に有効な型は荷電型と予想される．脱分極作用に有効なのは 膜内にトラップされた薬物であるか，原形質まで透過した薬物であるか?ベンゾカインの作用が小さいことは この薬物が膜内にトラップされ膜機能タンパク質に機械的な歪を与えることの影響が極めて小さいことを予想させる．中性型の薬物が原形質に拡散し，原形質のpHに応じた中性型と荷電型の分布比を新たに取り，この時の荷電型が脱分極作用に有効であると考えられる．

1) Nosaka,S. et al (1992). Biochim. Biophys. ACTA 1106, 325-334.

3aG08

シャジクモ灌流細胞H^+のポンプ活性

筒井泉雄、大川和秋[1]（生理研・生体膜、[1]阪大・教養・生物）

単水産のシャジクモ節間細胞は、Hポンプ活性を持ち膜電位を形成していることが知られている。これまで灌流細胞においては膜電位が深いことから、Hポンプ活性が正常細胞と同様に存在すると考えられていた。今回、細胞膜電位測定と同時に細胞膜コンダクタンスを測定することによって灌流細胞におけるHポンプ活性の測定を試た。細胞内灌流前におけるHポンプコンダクタンスは平均１００μS/ｃｍ２であったものが、約１０－２０％に減少していることが明らかになった。他方、膜の受動成分のコンダクタンスも同様に潅流によって減少していることが判明した。その結果として、膜電位が深い値で維持されていることが判明した。

3aG09

塩ストレス適応および非適応タバコ培養細胞の原形質膜のイオン選択性

村田芳行、吉橋学、小尾一郎、池田篤治、角谷忠昭（京都大・農・農化）

塩ストレス下にある植物にとってNa^+の細胞内への流入は重要な問題であり、塩ストレスへの適応機構においては原形質膜のイオン透過性の制御が非常に重要な要因であると考えられる。これまでの当研究室におけるパッチクランプ法を用いた研究により、タバコ培養細胞プロトプラストの原形質膜には外向きに整流性があり、かなり選択性の高いK^+チャンネルが存在し、塩ストレスに適応した細胞では100mM KCl、NaClシンメトリーでの外向き整流性ホールセル電流が非適応細胞に比べて小さくなることが明らかになった。一方、適応機構において、原形質膜のK^+とNa^+の透過比の増大も一つの要因であると考えられる。本研究では適応細胞と非適応細胞由来のプロトプラスト原形質膜におけるK^+、Na^+の透過性を詳しく検討した。

材料としてはsucrose(3%)と2.4-D(10^{-6}M)を含むLS改変培地(pH5.7)と、それに50mM NaClを添加した培地で継代培養したタバコ培養細胞(BY-2)をそれぞれ非適応細胞、適応細胞とし、それらより酵素法で単離・精製したプロトプラストを用いた。

K-glutamateシンメトリーのメディウムを用いてホールセルで電位依存性電流を測定したところ、適応細胞では非適応細胞に比べ外向きに整流性をもった電流が減少することが確認された。さらにホールセルで逆転電位を測定したところ、適応細胞と非適応細胞との間で有意な差異は見られなかった。以上の測定結果から、塩ストレスへの適応においてK^+とNa^+の透過比に変化は生じず、これらのイオンの透過性が同様に減少することが示された。

3aG10

汽水産車軸藻シラタマモ節間細胞の膨圧調節と細胞質ｐＨ

岡崎芳次・岩崎尚彦（大阪医大・教養・生物）

汽水域に生育する車軸藻類の一種シラタマモ（Lamprothamnium succinctum）の節間細胞は、外液の浸透圧変化に対して、液胞内の K^+、Cl^-濃度を増減させて細胞浸透圧を変え、膨圧を一定に保つ機構を持っている。高張処理（外液の浸透圧をあげる処理）に伴う膨圧調節の際には、細胞膜を介してK^+が受動的Cl^-が能動的に外液から液胞内に取り込まれる。高張処理に伴って、膜電位の過分極が見られることから、膨圧の減少が細胞膜上のH^+輸送性ATPaseを活性化し、細胞膜を介してのH^+の電気化学ポテンシャル差（$\Delta\mu_H$）を増加させ、H^+／Cl^-共輸送系によるCl^-の取り込みを促進しているのではないかと予想した(1)。本報告ではpH選択性ガラス微小電極によって細胞質pH(pH_c)を測定し、実際に$\Delta\mu_H$が高張処理に伴って増加しているかどうかを調べた。0.36 Osm人工海水に適応したシラタマモ節間細胞のpH_cは約 7.4であった。高張処理を行うと膜電位は過分極し、pH_c はわずか減少した（約 0.1 pH unit）。すなわち、膜電位の寄与による$\Delta\mu_H$ の増加が高張処理によって実際に起きていることが確かめられた。

(1) Okazaki et al. (1984) Plant Cell Physiol. 25:573-581

3aG11

シャジクモの水チャンネル特性

田沢　仁・浅井一視[1]（福井工大・応用理化学、[1]大阪医大・生物）

シャジクモの節間細胞の水透過性(Lp)は復室容量計を用いて細胞横断浸透法により正確に求められる(Kamiya and Tazawa 1956)。この方法を用いてWayne and Tazawa (1988, 1990)はサイトカラシンB及びEが内向き水透過性(Lpen)を、SH試薬pCMPSは逆に外向き水透過性(Lpex)を特異的に阻害することを発見した。このことは細胞膜に水透過を調節する構造、即ち水チャンネルの存在を示唆している。さらに最近Rygol et al.(1992)圧緩和法によりChara connivensの水透過性がZn^{2+}により著しく阻害されることを見いだした。われわれは水透過のZn^{2+}阻害機構を明らかにするため、Wayne and Tazawaの用いたChara corallinaの節間細胞に対するZn^{2+}の効果を測定した。測定は復室容量計の毛細管中の液ー空気界面の動きをＶＴＲに記録し、後にビデオテープを再生し浅井の考案したソフトによりメニスカスの動く速度を正確に求めた。LpのZn^{2+}による阻害の時間経過は細胞により異なるが、120分でほぼ阻害は完了し、対照の約20%となる。サイトカラシンやpCMPSと異なりZn^{2+}はLpen, Lpex共に阻害することがわかった。

一般講演

第３日　３月３１日（水）　午後の部

A 会場　　分子生物学（８）
B 会場　　分子生物学（９）
D 会場　　電子伝達・呼吸
E 会場　　蛋白質・酵素（２）

3pA01

ﾀﾞｲｽﾞ種子貯蔵ﾀﾝﾊﾟｸ質遺伝子の形質転換植物での発現：隣接遺伝子の発現に及ぼす効果とﾎﾟｼﾞｼｮﾝｲﾌｪｸﾄ

藤原 徹　Roger N. BEACHY*(東京大、農、農化、 *The Scripps Research Institute)

ﾀﾞｲｽﾞ種子7S貯蔵蛋白質をｺｰﾄﾞするβ-ｺﾝｸﾞﾘｼﾆﾝ遺伝子（以下、7S遺伝子と略記）は形質転換植物での発現が比較的ﾎﾟｼﾞｼｮﾝｲﾌｪｸﾄの影響を受けない、すなわちα'及びβｻﾌﾞﾕﾆｯﾄの独立な形質転換植物個体間での遺伝子一ｺﾋﾟｰ当たりの発現レベルのばらつきは他の植物遺伝子より比較的少ないことが知られている。この性質が遺伝子のﾌﾟﾛﾓｰﾀ領域によるものかどうかを調べる目的でα'ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子（以下、α'遺伝子と略記）のﾌﾟﾛﾓｰﾀ領域とβ-ｸﾞﾙｸﾛﾆﾀｰｾﾞ(GUS)遺伝子(*uidA*)を融合しﾀﾊﾞｺに導入した。独立形質転換個体の種子におけるGUS活性のばらつきは約20倍あり、ﾌﾟﾛﾓｰﾀ領域だけではﾎﾟｼﾞｼｮﾝｲﾌｪｸﾄからの独立性を示さないことが示唆された。また、7S遺伝子が隣接する遺伝子の発現のﾎﾟｼﾞｼｮﾝｲﾌｪｸﾄ依存性をなくすことができるかどうかについて調べる目的で7S遺伝子をﾎﾟｼﾞｼｮﾝｲﾌｪｸﾄ依存性を示す遺伝子に隣接させ形質転換個体での発現レベルを比較した。ﾎﾟｼﾞｼｮﾝｲﾌｪｸﾄ依存性を示す遺伝子としてはｶﾘﾌﾗﾜｰﾓｻﾞｲｸｳｲﾙｽ35Sﾌﾟﾛﾓｰﾀ(pCaMV35S):*uidA*及びα'遺伝子ﾌﾟﾛﾓｰﾀ:*uidA*融合遺伝子を用いた。形質転換個体間でのGUS活性の分布は、7S遺伝子が隣接しているかどうかによる有意な差は見られず、7S遺伝子は隣接遺伝子のﾎﾟｼﾞｼｮﾝｲﾌｪｸﾄ依存性を変化させないことを示唆した。一方、この実験でα'遺伝子ﾌﾟﾛﾓｰﾀ領域は隣接したpCaMV35Sの発現を種子で特異的に増加することが示された。7S遺伝子はﾀﾞｲｽﾞｹﾞﾉﾑ上でｸﾗｽﾀｰを形成して存在しており、それぞれの遺伝子の種子での発現をお互いに促進しているのかも知れない。

3pA02

ダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子の硫酸イオン欠乏応答

平井(横田)優美，藤原徹，森敏，茅野充男，内藤哲[1]（東大・農・農化，北大・農・応用生命科学[1]）

ダイズ種子貯蔵ﾀﾝﾊﾟｸ質の１つであるβ-コングリシニンはα，α'，βの３つのｻﾌﾞﾕﾆｯﾄから成るが，β-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子は様々な点で他の２つとは異なる発現制御を受けている．ダイズ植物体を硫酸イオン欠乏(S欠)条件下で栽培すると，β-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄﾀﾝﾊﾟｸ質の蓄積が増加する．我々はβ-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子全体(intactβ)及びβ-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子のﾌﾟﾛﾓｰﾀｰ領域とGUS(β-ｸﾞﾙｸﾛﾆﾀﾞｰｾﾞ)ｺｰﾃﾞｨﾝｸﾞ領域との融合遺伝子(Pβ-GUS)をそれぞれ導入したﾄﾗﾝｽｼﾞｪﾆｯｸ・ｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽを用いてS欠応答機構を調べている．これらﾄﾗﾝｽｼﾞｪﾆｯｸ・ｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽをﾛｯｸｳｰﾙ耕によりS欠栽培すると，前者ではβ-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄﾀﾝﾊﾟｸ質及びmRNAの蓄積の増加が，後者ではGUS活性の上昇がみられ，ダイズにおけるのと同様にS欠に応答する遺伝子発現制御機構がｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽにも存在することを示している．硫酸イオン濃度とβ-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子の発現の関係を調べるために硫酸イオン濃度を変えて水耕栽培を行なった．その結果，いずれの場合も硫酸イオン濃度の低下にともなって転写量が増加することが明らかとなった．硫酸イオンを与えない区では，ｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽ自身の貯蔵ﾀﾝﾊﾟｸ質の蓄積は全般に抑制されていたにもかかわらずβ-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄの蓄積は増加していた．このことはβ-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子とｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽの種子貯蔵タンパク質遺伝子とではS欠に対する応答反応が異なることを示している．

ダイズにおける多くの研究にも関わらず，S欠の感知からβ-ｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子発現の増加に到る一連の過程については，殆ど何の知見も得られていない．我々の構築したﾄﾗﾝｽｼﾞｪﾆｯｸ・ｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽの系を用いた生理学的あるいは遺伝学的研究によりS欠応答機構を明かにしようと考えている．

3pA03

アラビドプシス エチオニン耐性突然変異株における
ダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子の発現調節

稲場 久美子，平井(横田) 優美[1]，茅野 充男[1]，米田 好文，内藤 哲（東大・遺伝子実験施設，[1]農・農化，[2]現・北大・農・応用生命科学）

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つの主要なサブユニットで構成される。このうち、メチオニン残基を含まないβサブユニットの遺伝子発現のみが、メチオニンによりmRNAの段階で抑制を受けることが知られている。我々は、in vivoにおけるメチオニンによる遺伝子発現の調節機構を知ることを目的とし、トランスジェニック植物と遊離メチオニン量の増加した優性突然変異株(etn-1)を用いた、アラビドプシスにおける解析を試みた。我々はα'とβサブユニット遺伝子のプロモーター領域を融合したβ-グルクロニダーゼ遺伝子（Pα'-GUS，Pβ-GUS）をそれぞれ導入したアラビドプシスを作成し、外来のメチオニンに対しダイズと同様に応答することを示した。また、我々の単離したetn-1は植物体に多量の遊離メチオニンを蓄積し、完熟種子においても総メチオニン量が増加する変異株である。掛け合わせにより、Pα'-GUS，Pβ-GUSを導入したトランスジェニック・アラビドプシスにetn-1遺伝子を導入した。正逆の交雑により得られたF1におけるGUS活性の低下はPβ-GUSにおいてのみみられ、etn-1変異株が雌親の場合に最も低下した。Ｆ３において得られた、etn-1遺伝子とGUS遺伝子の両者がホモ接合である株においても、Pβ-GUSにのみGUS活性の低下がみられた。この場合、種子登熟過程でのGUS活性の発現の時期は同じであったが、抑制が全期間に渡ってみられた。高等植物におけるメチオニンによる遺伝子の発現制御に関し考察を行ないたい。

3pA04

ケツルアズキのシステインエンドペプチダーゼ（SH-EP）の翻訳後プロセシングと細胞内局在性

岡本龍史、山内大輔、南川隆雄　（都立大・理・生物）

ケツルアズキ（Vigna mungo）の発芽種子子葉の貯蔵タンパク質の分解に働く酵素の一つにシステインエンドペプチダーゼ（SH-EP）がある。SH-EP は 45kDa 前駆体として小胞体膜結合リボソーム上で翻訳され、シグナルペプチド切除を伴って 43 kDa 中間体として小胞体に入り、さらに 39kDa 及び 36kDa 中間体を経て活性をもつ 33kDa 成熟型酵素になることが分かっている。今回は、SH-EP のこの翻訳後多段階プロセシングと細胞内局在性を調べることを目標にして次の研究を行った。

SH-EP の細胞内局在性を調べるために、ショ糖密度勾配遠心法を用いてケツルアズキ子葉から小胞体と液胞（タンパク顆粒）を分画し、各々の画分について SDS-PAGE/ウエスタンブロッティング を行った。小胞体には 43kDa 中間体が、タンパク顆粒には 33kDa 成熟型酵素がそれぞれ局在していた。このことから、小胞体で生成した 43kDa 中間体はゴルジ体を経てタンパク顆粒への輸送途中、またはタンパク顆粒への集積後に 33kDa 成熟型酵素になると推測される。

ケツルアズキ子葉の抽出液を 2-メルカプトエタノール存在下でインキュベートすると、in vitro においても多段階プロセシングの進行が見られる。この系を用いて、プロテアーゼ阻害剤のプロセシングに及ぼす影響を調べた。システインプロテアーゼ阻害剤であるアンチパイン（10 μg/ml）が多段階プロセシングを完全に阻害したのに対し、同じシステインプロテアーゼの阻害剤であるロイペプチン（10 μg/ml）と E-64（10 μg/ml）は 36kDa 中間体から 33kDa 成熟型酵素へのプロセシングのみを抑えた。これらの阻害剤への感受性の違いから、SH-EP 前駆体のプロセシングには少なくとも２種類のプロセシング酵素が関与していることが示唆された。

3pA05

ケツルアズキのシステインエンドペプチダーゼ (SH-EP) 遺伝子のタバコ植物体における発現

山内大輔、岡本龍史、南川隆雄（都立大・理・生物）

発芽期のケツルアズキ (Vigna mungo) 子葉中での貯蔵タンパク質の分解にはシステインエンドペプチダーゼ (SH-EP) が主要な働きをしている。この酵素は 45 kDa 前駆体として合成され、特異的な多段階プロセシングを受けて活性をもつ 33 kDa 成熟型酵素となる。すでに我々は SH-EP 遺伝子を単離して、その構造を明かにしている。今回はこの SH-EP 遺伝子をタバコ植物体に導入して、その発現様式について調べた。

SH-EP 遺伝子の翻訳領域を含む約 4 kb を pBIN19 に組み込み、アグロバクテリウムを介してタバコ植物に導入した。得られたカナマイシン耐性を示す形質転換体の黄化葉より得た抽出液を抗体を用いて調べた結果、2 個体で 33 kDa の SH-EP 成熟型酵素が検出された。これらの個体について、発芽期におけるSH-EP の合成について調べた。その結果、乾燥種子中ですでに 33 kDa SH-EP 成熟型酵素の存在が認められ、吸水後 5 日目でその量は最も多くなった。ケツルアズキ乾燥種子では SH-EP酵素タンパク質は検出されず、吸水後に新合成されることが分かっている。したがって、ケツルアズキとタバコでは SH-EP 遺伝子の発現が全く同じには制御されないことが示唆された。また、タバコ植物体でも SH-EP 前駆体から成熟型酵素へのプロセシングが行われていることも明らかになった。導入した SH-EP 遺伝子がタバコ発芽種子における生重量、貯蔵タンパク質量およびエンドペプチダーゼ活性の変動に及ぼす影響についても報告する。

3pA06

インゲンマメのシステインエンドペプチダーゼ (EP-C1) 遺伝子 5' 上流域の解析

寺崎容子、小串泰之、西原昌宏[1]、森川弘道[1]、山内大輔、南川隆雄（都立大・理・生物、[1]広島大・理・植物）

EP-C1 はインゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*) のセネッセンス期のさやでのタンパク質分解に主要な働きを示すシステインエンドペプチダーゼとして単離、精製された。その後、EP-C1 は発芽子葉においても発現することが見出され、種子貯蔵タンパク質の分解にも関わっていると考えられる。そこでこの酵素の発芽子葉における発現機構を知るために、遺伝子 5' 上流域の解析を行った。

まず、EP-C1 遺伝子の発現に関わるシス領域を調べるために、-1173 まで及び -340 までの長さの異なる２種の 5' 上流域とβ-グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子との融合遺伝子を作製し、それぞれをパーティクルガン法を用いてインゲンマメ発芽子葉に導入した。この時、内部標準として CaMV 35S プロモーターを持つルシフェラーゼ (LUC) 遺伝子を同時に導入し、GUS/LUC 活性を求めることによりパーティクルガンの撃ち込み条件に左右されない測定値を得ようとした。その結果、これら２種の融合遺伝子では GUS/LUC 活性に大きな差は見られず、このことから -340 より下流に、発現に必要な領域が存在することが推定された。現在これらの融合遺伝子をアグロバクテリウムを介してタバコに導入し、そのプロモーター活性を解析中である。

以上と関連して、EP-C1 遺伝子の 5' 上流配列に結合するトランス作用因子についても、発芽子葉の粗核抽出液を用いてゲルシフト法により調べているので併せて報告する。

3pA07

パーティクルガン法によるナタマメ種子タンパク質遺伝子の 5' 上流域の解析

山本純子、西原昌宏[1]、森川弘道[1]、山内大輔、南川隆雄（都立大・理・生物、[1]広島大・理・植物）

われわれはこれまでにナタマメ (Canavalia gladiata) 種子の主要な貯蔵タンパク質であるコンカナバリンＡ (Con A)の遺伝子5' 上流域の解析を目的として、パーティクルガン法を用いてβ-グルクロニダーゼ (GUS) レポーター遺伝子の発現を組織化学的染色法により調べてきた。その後、より定量的な結果を得るため、ルシフェラーゼ (LUC) 遺伝子を内部標準としてGUS遺伝子と同時にナタマメ未熟種子に導入して、GUS/LUC 活性を測定した。今回は、ナタマメのもう一つの主要貯蔵タンパク質であるカナバリンの遺伝子プロモーターについての測定も行ったので、併せて報告する。

Con A 遺伝子の -1016 から-74 までを欠失させた 5' 上流域を GUS遺伝子に結合した５種類の融合遺伝子について相対活性を測定したところ、CaMV 35S プロモーターを持つものを 100% とした場合、-1016 までのものが 54%と最も高く、5' 側からの欠失の程度に従いその活性は減少した。-74 に-1016 から-603 の領域を結合すると活性は 13% から 22% に上昇した。これらの結果から、Con A 遺伝子の十分な発現には、-1016 から-603 の領域が必要であることがわかった。また、マメ科種子タンパク質遺伝子の 5' 上流域に存在する 'レグミンボックス' のコア配列である CATGCAT配列 (-555 から -549) は、それのみでは高い発現を与えないことが示された。一方、カナバリン遺伝子のプロモーターは CaMV 35S プロモーターよりも高い活性を示し、非常に強いプロモーターであると推定された。

3pB01

西洋ワサビ・ペルオキシダーゼ遺伝子発現の傷害誘導

河本朋広,河岡明義*,吉田和哉,関根政実,高野光男,新名惇彦（阪大・工・応生、*山陽国策パルプ・生物研）

ペルオキシターゼは植物に於てリグニン合成等に関与しており、傷害により誘導されることが報告されている。そこで、西洋ワサビからペルオキシダーゼゲノム遺伝子 (prxC1a,C1b,C2,C3) を単離した。西洋ワサビの葉に傷害を与えると、全ペルオキシダーゼ活性が増大した。ノザン解析を行った結果 prxC2 の転写物が顕著に増加した。

次に、 prxC2 の種々の 5'上流領域を持つ GUS 融合遺伝子をタバコに導入した。これらのトランスジェニックタバコの葉に傷害を与え GUS 活性を測定した結果、傷害に対するシスエレメントは -307～-99bpの間に限定された。さらに、傷害を与えたタバコの葉から核抽出物を調製し、-307～-1の DNA 断片をプローブとしてゲルシフトアッセイを行った結果、シフトバンドが見られた。 DNaseI フットプリント法によって、-296～-283, -257～-238, -223～-212bpの３領域が DNaseI から保護された。ゲルシフトアッセイにおいて、これらの領域に相当するオリゴヌクレオチドで競合させると -296～-283 の領域でシフトバンドが消失した。この領域の塩基配列は 、Rubisco の G ボックスやアブシジン酸に対するシスエレメント (ABRE) のコア配列 CACGTG を含んでいた。また、この領域を欠失させると傷害誘導は見られなかった。これらのことから CACGTG は環境ストレスに対するシスエレメントである可能性が示唆された。

3pB02

タバコＰＲ１ａタンパク質遺伝子の発現は負の制御を受けている

平佐聡尚、大島正弘、西宮聡、中村茂雄、大橋祐子
（農水省　農業生物資源研）

タバコＰＲ１ａ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）処理によってその発現が誘導される。これまでの研究から、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。すなわち、本遺伝子の転写開始点より上流側0.3kbの範囲に２ケ所のタンパク質結合部位（Distal binding site ；ＤＢおよびProximal binding site ；ＰＢ）があり、健全な葉では、これらの部位にタンパク質が結合し、遺伝子の発現を抑制するという機構である。そこで、この結合部位を欠失および置換させた人工的プロモーターを作製してＧＵＳレポーター遺伝子と融合し、プロトプラストを用いたTransient assay系によりその発現程度を検討したところ、ＤＢを欠失した場合、basal levelにおけるＧＵＳ活性の増加が認められ、さらにＳＡ処理により、より顕著な誘導が認められた。他方、ＰＢを置換した場合にも同様な効果が認められ、しかもその発現レベルはさらに顕著に上昇した。さらに、ＰＢの配列を含んだオリゴヌクレオチドをcompetitorとして競合実験を行ったところ、この系でも顕著なＧＵＳ活性の上昇が認められた。

以上の結果は、本遺伝子の５’上流側0.3kbの範囲に存在する２ケ所のタンパク質結合部位に、あるタンパク因子が結合することによって通常の状態ではこの遺伝子の発現が抑制されており、ＳＡ処理などによりこれが解離することによって抑制が解かれて発現が起こること、すなわち、このタンパク因子がいわゆるリプレッサーであることを示すものである。

3pB03

rd29遺伝子の乾燥誘導に関与するシスエレメントの解析

篠崎和子、浦尾さとみ、平八重貴美子、篠崎一雄（理研･植物分子生物）

植物は環境の変化や刺激に応答し、遺伝子発現レベルでの調節を行い外界の環境変化に適応し、成長分化している。我々は環境因子として乾燥を取り上げ、乾燥によって誘導される核遺伝子群の発現調節とそのシグナル伝達系を解明することを目的としている。

乾燥により誘導されるシロイヌナズナのrd29遺伝子ファミリーのうちcDNAと一致するrd29A遺伝子とその上流にコードされるrd29B遺伝子をクローニングした。rd29Aは乾燥後２０分以内に発現するがrd29B遺伝子は乾燥後３時間以降に発現がみられ、異なった発現を示した。そこで、rd29Aとrd29B遺伝子のプロモター領域をGUSリポーター遺伝子と連結したキメラ遺伝子をタバコとシロイヌナズナに導入し、得られたトランスジェニック植物のGUS活性を測定すると、どちらのプロモーター領域を用いた場合も乾燥によって上昇が見られた。また、プロモーター領域に欠失変異を導入した実験やプロモーター領域のDNA断片を最小限のプロモーターに連結したキメラ遺伝子を用いた実験から２つの遺伝子では異なるシスエレメントが乾燥誘導に働いている事が示された。さらに、GUS遺伝子をプローブとしてノーザン法で、低温や高塩濃度やABAによる遺伝子発現を解析し、それぞれの発現に関与するシスエレメントについても検討した。

3pB04

乾燥によって誘導されるシロイヌナズナの*Atmyb2*遺伝子プロモーターの解析

浦尾剛[1、2]、篠崎和子[1]、浦尾さとみ[1]、篠崎一雄[1]
（１、理研、植物分子生物、２、ほくさん中研）

我々は、これまでにシロイヌナズナから*myb*相同性遺伝子*Atmyb2*をクローニングし、*Atmyb2*が乾燥や塩ストレスによって誘導される環境ストレス応答性遺伝子で、この発現にはABAが関与していること、また大腸菌で発現させたATMYB2タンパク質は、DNAに対して塩基配列特異的に結合することなどを示してきた。これらの結果は、ATMYB2タンパク質が、シロイヌナズナの乾燥ストレス下における遺伝子発現に関与していることを示唆している。そこで、*Atmyb2*の乾燥ストレスによる発現機構を調べるために、*Atmyb2*のプロモーター領域とGUSレポーター遺伝子を融合し、シロイヌナズナに導入したトランスジェニック植物を用いて、乾燥応答性シス領域の解析および発現の組織特異性を調べた。GUSmRNAのNorthern解析の結果、*Atmyb2*のプロモーター領域に乾燥による発現誘導に必要なシス領域が存在することが示された。またGUS活性の組織化学的解析から、*Atmyb2*は、乾燥したロゼット植物のほぼ全組織で発現しているが特に根端や葉柄で強く発現していると考えられた。

3pB05

シロイヌナズナ乾燥誘導性遺伝子*rd22*の組織特異的発現

岩崎俊介、篠崎和子、篠崎一雄（理研・植物分子生物）

我々はシロイヌナズナにおいて乾燥によって誘導される９種のcDNAクローン(RD)を単離し、それらの遺伝子の発現制御の解析を進めている。そのひとつRD22は乾燥によって誘導されるアブシジン酸(ABA)を介して発現誘導され、発現誘導には蛋白質合成を必要とする。RD22のコードする蛋白質はソラマメの種子形成初期に大量に転写されるUnknown Seed Protein (USP)と相同性を有することから、RD22の開花後の花および未熟種子における発現を調べたところ、ABA量が増加するといわれる種子形成中期以前に強く発現し、その後減少することがわかった。この結果からRD22は乾燥誘導の場合とは異なり、ABAを介さない種子特異的発現を示すと考えられた。*rd22*遺伝子のプロモーター領域とGUS遺伝子の融合遺伝子を導入したシロイヌナズナの花や未熟種子では、GUS活性は開花直後に強く、種子成熟に伴って減少するものの、GUS活性の大部分は種子よりもむしろ花柄や心皮に存在しており、RD22の発現は種子に限らないことがわかった。現在*rd22*プロモーターの組織特異的発現に必要な制御領域の解析を行っている。

3pB06

短時間の乾燥ストレス処理により誘導されるシロイヌナズナ遺伝子群のcDNAクローニングとその解析

清末知宏、篠崎和子、篠崎一雄　（理研 *植物分子）

高等植物は動物と異なり移動の自由がないので、植物独自の環境応答機構を発達させている。この中でも植物の耐乾燥性機構は、地球の砂漠化問題とあいまって、近年注目されている領域であり、特に植物ホルモンであるアブシジン酸（ABA）による乾燥耐性の誘導については現在多くの研究がなされている。しかし、これに対して、乾燥ストレスによりABA蓄積が起こる以前の植物の適応機構については、あまり解析が進んでいないのが現状である。

我々は、植物材料として種々の突然変異体が単離されていてゲノム解析も容易な*Arabidopsis thaliana*（シロイヌナズナ）を用い、植物の乾燥ストレスに対する早い適応様式を明らかにすることを目的として、乾燥ストレス処理によりABAの蓄積が起こる以前に新たに発現誘導される遺伝子群（cDNA群）をdifferential screeningにより単離した。これらのcDNA群はSouthern hybridizationにより16のグループに分類できた。今回、これらのcDNA群の構造、発現、機能に関して報告する。

3pD01

Synechocystis PCC 6803 メチルヴィオロゲン耐性株の単離とその性質

遠藤　剛、浅田浩二　（京都大・食研）

メチルヴィオロゲン（ＭＶ）は光化学系Ｉから電子を受取り、酸素分子を一電子還元してスーパーオキシドを生成する。らん藻での光・酸素ストレスに対する適応の機構を探るためＭＶ耐性株を Synechocystis PCC 6803 より単離した。安定した耐性を示す株は以下の性質をもっていた。

１）母株に比べ１０-５０倍の耐性を示した。

２）耐性株の生育は、通常の培養条件下（蛍光灯２　Ｗm^{-2}、２７℃，ＢＧ－１１培地）では母株とほぼ同じであった。

３）赤色光（１０　Ｗm^{-2}）によるクロロフィル蛍光の定常レベルの高い株が存在した。

４）ＭＶ依存のMehler反応が母株に比べ低い株が多かった。

５）すべての株は、メトロニダゾル（ＭＶと同様に酸素を一電子還元する）および過酸化水素には耐性がなかった。

６）スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼの活性は母株と差がなかった。

以上の結果より、耐性株ではＭＶ分子が光化学系Ｉに接近し、電子を受け取る率が母株よりも低いことが示唆された。この原因としては、１）ＭＶの吸収能の低下、２）細胞内での無毒化能が高い、または　３）光化学系Ｉの還元側の構造変化が考えられる。

3pD02

NADPH デヒドロゲナーゼに依存するSynechocystis 6803のPSI-循環的電子伝達

米華玲、遠藤剛、Ulrich Schreiber[1]、小川晃男[2]、浅田浩二　（京都大・食研、[1]Wurzburg 大、[2]理研・太陽光科学）

Synechocystis 6803ではプラストキノン経由の呼吸及び光化学系Iの循環的電子伝達がNAD(P)H デヒドロゲナーゼ(NDH)に依存することを報告した(Mi et al 1992)。今回はその現象についてspheroplast とチラコイドで更に検証した。

赤色光の照射下で、野生株のspheroplast及びチラコイドにNADPHを加えると、蛍光収率が高くなった。これはプラストキノンがNADPHによって還元されることを示しているものと考えられる。NADHは蛍光収率に影響しなかった。ロテノン、TTFA及び$HgCl_2$はこの増大した蛍光をquenchし、NADPHからプラストキノンへの電子伝達の阻害剤と考えられる。フェレドキシンの存在下で$NADP^+$を加えると、蛍光収率が一時的に低下後、高くなった。これは$NADP^+$がフェレドキシンによって還元された後、プラストキノンに電子を供与することを示している。この循環的電子伝達もロテノン、TTFA、$HgCl_2$に阻害された。なお、NDH遺伝子の欠損した変異株のM55から調製したspheroplast、チラコイドでは以上のような現象は見い出されなかった。これらの結果から、Synechocystis 6803では呼吸と光化学系Iの循環的電子伝達が両者ともNDHを経由していることが明らかとなった。

3pD03

プラストシアニンの部位特異的 mutant の作成

Lee Byung Hyun[1]，日比野隆，高倍鉄子[1]，高倍昭洋（名城大・理工・化，[1]名古屋大・農・生化制御）

演者達はこれまで，大腸菌で発現させたプレカーサープラストシアニンの in vitro におけるプロセッシングと銅の取り込みについて報告してきた。一方，mature プラストシアニンの発現は大腸菌による分解等のため蓄積しないという問題があった。今回，Silene プレカーサープラストシアニンのシグナルペプチド部分を改変することにより，mature プラストシアニンを大腸菌で発現させることができたので，その結果と部位特異的 mutant の作成について報告する。

プラストシアニンのシグナルペプチド部分にリジンが導入できるようデザインしたオリゴヌクレオチドを合成し，PCR 法を用いて中間サイズのプラストシアニン遺伝子を作成した。これを発現ベクターに組み込み大腸菌で発現させたところ，中間サイズのプラストシアニンがサイトソルに，mature サイズのプラストシアニンがペリプラズマ空間に蓄積することが明らかになった。mature プラストシアニンを大腸菌から精製したところ，このプラストシアニンは銅原子を含んでおり，吸収スペクトル，酸化還元電位，P700 およびチトクロムｆとの反応性がホウレンソウから精製したものとほとんど同じであった。現在，プラストシアニンの acidic patch および銅の配位子を変化させる mutant を作成中である。

3pD04

ダイコン葉フェレドキシンの複数成分とその構造

長井潔，小幡茂裕[1]，水上孝子[1]，先浜直子，新勝光
（神戸大・理・生物，[1]キシダ化学・研究開発グループ）

昨年の年会でダイコン葉には３種類のフェレドキシン（Fd I･II･IV)が存在し、アミノ酸組成分析の結果から、Fd IとIIは和田ら（１）がダイコン葉から単離したL-Fd Aに含まれる成分で、Fd IV はL-Fd Bに相当することを報告した。今回はアミノ酸部分配列分析によってこの３つのFdの構造の詳細を調べた。フェニル-5PWカラムを用いた疎水性HPLCによって単一成分となったFd Iは、カルボキシメチル化して逆相HPLCを行うとFd Ia･Ibの２成分に分離した。従ってダイコン葉のFd成分はIa･Ib･II･IV の４種類となり、Ia･Ib･IIはL-Fd Aに含まれる成分となる。この３成分の構造で調査の対象とした部分構造はL-Fd Aの構造においてmicroheterogeneityの見られる8, 55, 91, 95 残基目のアミノ酸である。Fd Ia の構造は-V_8-(S_{55})-R_{91}-V_{95}-、Ibは-(I_8)-(S_{55})-R_{91}-(I_{95})-、IIは-I_8-(T_{55})-K_{91}-M_{95}-であった（カッコ付はアミノ酸組成からの推定）。カッコ付のアミノ酸についてアミノ酸配列分析による確認を残しているが、現時点で明らかなことは、L-Fd Aのmicroheterogeneityが３種のFdの混在によるということである。Fd IV のN末端構造はＡＡＹＫＶＫＦＩＴＰＤＧＤＫＥＶＥＸＤで、19残基目まで同定できたが、11残基目までが同定されているL-Fd Bの部分構造と完全に一致した。さらに全構造の解析を進めている。

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

3pD05

地衣Cladonia vulcani Savicz.菌体のチトクローム

藤原健智、浜出良二[1]、木下靖浩[1]、山本好和[1]、吉村　庸[2]、山中健生（東工大・生命理工・生命理、[1] 日本ペイント㈱・中研、[2] 高知学園短大）

イオウゴケ（C. vulcani Savicz.）から得られた菌を培養してその菌体中のチトクロムについて調べた。菌体を石英砂とともにすりつぶし、さらにZymolyase で処理したのち、180,000 x g で遠心分離して得られる上澄みと沈殿を、それぞれ、可溶性画分と膜画分として用いた。可溶性画分はプロトヘムとヘムｃを含んでおり、膜画分はヘムａ、プロトヘム、ヘムｃを含んでいた。

膜画分はウマチトクロムｃの還元型を酸化する活性を示した。この活性は、最適pHが6.8 、Vmaxは6.8 sec^{-1} で、KCN で強く阻害された（Ki≒1 μM)。また、この活性のイオン強度依存様式は他の真核生物のチトクロムｃ酸化酵素の場合と似ていた。膜画分の、N,N,N',N' テトラメチル－ｐ－フェニレンジアミンを酸化する活性は100 μM KCN でも５０％程度しか阻害されなかったので、この菌には２種類の末端酸化酵素があると考えられる。

可溶性画分からは、カチオン交換樹脂を用いてチトクロムｃを精製することができた。このチトクロムは、分子量が13,900で、その還元型は549.5 nm、520 nm、416 nmに吸収極大を示した。従って、このチトクロムは、他の真核生物のチトクロムｃと同様のものであることが考えられる。

3pD06

鉄酸化細菌Thiobacillus ferrooxidans のFe^{2+}酸化系の分子レベルでの研究

山中健生、甲斐正広、為我井秀行、矢野能弘、福森義宏（東工大・生命理工・生命理）

鉄酸化細菌Thiobacillus ferrooxidans はpH 2でFe^{2+}を酸化して生育する。この細菌からFe^{2+}の酸化に関与する電子伝達系成分を精製して、それらの相互反応からFe^{2+}酸化系について考察した。

Fe^{2+}から最初に電子を受け取る Fe(II)-チトクロムｃ酸化還元酵素は分子量63,000の非ヘム鉄タンパク質で、HiPIPに似たアミノ酸配列をもつ分子量6,400 のサブユニットの集合体である。この酵素は、Fe^{2+}存在下にpH 3.5でこの細菌のチトクロムｃ－５５２(s) の酸化型を速やかに還元する。銅タンパク質であるラスチシアニンはチトクロムｃ－５５２(s)(可溶性) の存在下にこの酵素と反応する。チトクロムｃ－５５０(s) もチトクロムｃ－５５０(m)(膜結合性) もその還元型はこの細菌のチトクロムｃ酸化酵素で酸化されるが、チトクロムｃ－５５２(s) の反応性はチトクロムｃ－５５２(m) のものの約４倍である。

チトクロムｃ酸化酵素はα吸収帯を595 nmに示すのでこれまでチトクロムa_1と呼ばれてきたが、精製標品は１分子中に２分子のヘムａと２原子のＣｕをもち、そのＣＯ複合体のスペクトルはチトクロムa_3の場合とよく似ている。ただ、この酵素は３種類のサブユニットからなる最小構造単位中に１分子のヘムａと１原子のＣｕをもち、この単位の２量体が活性ある酵素になっている。この酵素は、pH 3.5でチトクロムｃ－５５２(s) 、ｃ－５５２(m) 、ラスチシアニンの還元型を酸化する。以上の結果より、この細菌におけるFe^{2+}酸化に関与する電子伝達系を推定する。

3pD07

チトクロムc'の電子伝達時に形成される遷移状態化合物の蛋白質間相互作用に関する電気化学的考察

撰　達夫、小澤真一郎、和田正徳（鳥取大・工・物質工）

酸化還元蛋白質間の電子伝達に先立って形成される遷移状態化合物の分子間相互作用をモデル的に理解するために、電極表面に適当な化学物質を吸着させた修飾電極を用いて、電気化学測定を行なった。光合成細菌 Rs. rubrumチトクロムc'の酸化還元挙動が、2-メルカプトコハク酸修飾金電極上で準可逆的に行なわれることを見出し、これまでに酸化還元電位や不均一反応速度定数の算出をした。今回は、主に中性付近の測定条件下で得られた結果から、チトクロムc'の電極－蛋白質間相互作用について考察する。

Rs. rubrumチトクロムc_2や馬心筋チトクロムc を用いた比較実験の結果、反応の可逆度はトータルの表面電荷には影響されず、ヘム周辺のごく限られたアミノ酸残基と電極修飾剤との局部的相互作用に影響されることが示された。さらに、チトクロムc'の電極反応の可逆度は、イオン強度の増加にともない上昇し、溶液pHについてはpH8～9で最大となった。もし、この局部的な相互作用が静電的なものであるとするならば、イオン強度の増加は相互作用を弱めるように働き、可逆度は低下するであろう。したがって、この相互作用の実体は2-メルカプトコハク酸のカルボキシル基とヘム周辺のいずれかのアミノ酸残基との間の水素結合の可能性が大きい。

3pD08

γ-ピロニル-トリテルペノイド サポニン（クロモサポニンＩ）の電子供与性

辻野義雄、鶴見誠二、大堺利行[1]、橋本徹[2]
（神戸大・自然科学、[1]神戸大・理・化学、[2]神戸大・理・生物）

我々は、アラスカエンドウより、295 nmに吸収極大を持つ新規のトリテルペノイドサポニンを抽出しクロモサポニンＩ（ＣＳＩ）と名付け、γ-ピロンとソヤサポニンＩの縮合体であることを報告した。 今回は、グラッシカーボン電極を用いたサイクリックボルタンメトリーによって、ＣＳＩが還元力を持つことを確認したので報告する。

ｐＨ ７．７の試験溶液中に１０～１００ μＭのＣＳＩを加えると、明瞭な非可逆的な酸化波が得られた。ピーク電流が電位掃引速度に比例していることから、電極表面に吸着したＣＳＩの酸化による電流を測定しているのもと思われる。非可逆波が得られた理由は、ＣＳＩの酸化体の非可逆的分解によるものと思われる。

また、分光光学的測定により、キノンやチトクロムＣがＣＳＩによって還元されることも確認した。

これらの結果より、ＣＳＩが生体内において電子供与体として働いている可能性が強く示唆された。

3pE01

イネフェレドキシン－NADP$^+$レダクターゼの器官特異的cDNAと分子的特性

青木秀之，土山直美，井田正二 （京都大・食研）

フェレドキシン－NADP$^+$ レダクターゼ（FNR.EC.1.18.1.2）は、還元型フェレドキシン（Fd）⇌ NADP$^+$の可逆反応を触媒するフラビン酵素であり、光合成器官では、NADP$^+$ を生成する。非光合成器官では逆反応により還元型Fdが生成され、NO_2^-還元、グルタミン酸合成などFd－依存酵素反応の電子供与体として働く。我々は非光合成器官でのNO_3^-同化系酵素の一員として、イネの器官特異的 FNRの酵素的特性とcDNAの構造を調べた。

イネ葉 FNR抗体をプローブとして、イネ葉、根、登熟種子由来のλ gt11 cDNAライブラリーから、FNR cDNAをクローニングした。葉と根の全長FNR cDNAは 1.5kbであり、後者についてはその全塩基配列を決定した（ AC=D12815）。根FNR cDNAには、 318個のアミノ酸をコードする読み枠が存在し、光合成 FNRに存在するFd結合部位、NADP-PPi結合領域、NADP$^+$ 結合領域、活性部位が認められた。イネ葉 FNRと他の光合成 FNRのアミノ酸相同性は80%以上であるのに対して、根 FNRとのそれは約60%である。したがってイネ FNRは種間による相違よりも器官特異性が高いことが示唆された。またイネ核ゲノムには光合成 FNR遺伝子は１コピー、根 FNR型遺伝子は１コピー以上存在することが判明した。

3pE02

葉緑体内リボース-５-リン酸キナーゼの精製とその性質

柴田 均、秋好淳子、澤 嘉弘、落合英夫
（島根大・農・応用生物機能学）

葉緑体における５-ホスホリボシルピロリン酸（ＰＲＰＰ）の生合成を研究する過程で、リボース-５-リン酸の存在下、ＡＴＰからＡＤＰが生成する活性がストロマ画分に検出された。ＰＲＰＰ合成に関与する酵素であれば，ＡＭＰが生成する筈である。ホウレン草葉より、硫安分画、イオン交換、疎水クロマト、ヒドロキシアパタイト、ゲルロ過法を採用して、この酵素をＳＤＳ-ＰＡＧＥ上で均一標品になるまで精製した。この酵素のゲルロ過（ＨＰＬＣ）による分子量は１６万であり、ＳＤＳ-ＰＡＧＥによって求めた分子量が４万であったことより、この酵素はテトラマーであろう。最適ｐＨは７．６で、リボース、リブロース-５-リン酸、リボース-１-リン酸、グルコース-１-リン酸、グルコース-６-リン酸、ＰＲＰＰなどの存在下では、ＡＴＰ由来のＡＤＰ生成は検出されず、リボース-５-リン酸に特異的である。Ｋlenow法により、リボース-１-リン酸とグルコース-1,6-ジリン酸とからホスホグルコムターゼ作用によって合成したリボース-1,5-ジリン酸と、精製酵素の反応生成物は、陰イオン交換樹脂から同一濃度で溶出された。また１モルのリボース当り、２モルのリンと、酸で遊離される１モルのリンが存在した。従って、本酵素はＡＴＰを用いて、リボース-５-リン酸の１位をリン酸化するリボース-５-リン酸キナーゼであり、生成物として、ＡＤＰとリボース-1,5-ジリン酸を与える。

3pE03

ヘクソカズラからのフラボノール *O*-グルコシルトランスフェラーゼの性質について

楊 志慶、石倉成行（熊本大・理・生物科学）

さきに、ケンフェロールおよびクエルセチンの配糖体を含むことを報告したヘクソカズラ（*Paederia scandens* var. *mairei*、アカネ科）から、フラボノールの配糖体化に関与する酵素を検出し、その性質を調べたので報告する。ヘクソカズラの若葉の粗酵素抽出液から、硫安分画およびゲル濾過、Mono Q™でのイオン交換クロマトラフィー、Mono P™でのクロマトフォーカシングにより、F3GTおよびF7GTの２種類の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を分離・精製した。それにより、F3GTおよびF7GTはそれぞれに、140倍および136倍にまで純化された。前者はケンフェロールの３位に、後者はその７位に特異的に、UDP-グルコースからのグルコース分子を転移する。F3GTは、ケンフェロールのほか、クエルセチンやラムネチンに対しても活性を示すが、フラボノール配糖体に対してはほとんど活性を示さなかった。一方、F7GTも同じように、いくつかのフラボノールに対して活性を示すほか、それらの３位に結合糖をもつ配糖体に対してもいくらかの活性を示した。両酵素の分子量は同一であったが、pI値は、F3GTでは5.12、F7GTでは4.50であり、両者は著しく異なっていた。さらに、既知の糖転移酵素と対比しながら、両酵素のそのほかの性質についても合わせて報告する。

3pE04

イネ培養細胞由来β-グルカンシンターゼII（GS-II）の可溶化と精製

栗林郁夫、森田卓也[1]、三ツ井敏明[1]、伊賀上郁夫[1]
（新潟大・自然科学、[1]農・応用生化）

イネ培養細胞のβ-グルカンシンターゼにはゴルジ体膜局在性のGS-Iと細胞膜局在性のGS-IIの二種類が認められ、その性質には顕著な違いが報告されている。[1)] 本報告においてはイネ培養細胞由来のGS-IIを安定的に可溶化し、精製することを試みた。イネ培養細胞より調製されたマイクロソーム画分よりPEG/dextran水性二層法を用いて細胞膜を単離し、20mM Tris-HCl(pH 7.5)，0.8 mM シュクロースモノラウレート溶液で懸濁し0℃に2時間置き、出力200Wの超音波処理を30秒間行い、100,000×g，1時間の超遠心で得た上清中に総GS-II活性量の約80%が認められた。可溶化試料を20mM Tris-HCl(pH7.5)，0.8mM シュクロースモノラウレート溶液で緩衝化されたQ-Sepharose陰イオン交換カラム(15×120mm)に吸着させ、400mlの NaCl直線濃度勾配(0～1.0 M)、流速 0.9ml/minで溶出した。得られたGS-IIの比活性はマイクロソーム比で約40倍に上昇した。SDS-PAGEの結果 、活性ピーク中には 31kDa のポリペプチドが認められた。プロダクトエントラップメントにより精製された試料中にも 31kDa のポリペプチドが認められたことから、このポリペプチドはGS-IIの触媒部位を有するサブユニットと考えられる。

1) 日本植物生理学会 1990年度年会講演要旨 p.126

3pE05

イネ懸濁培養細胞培地中のβ-1,3-グルカナーゼ活性

秋山 高、小池説夫[1]（農水省北海道農試、[1]生物研）

高等植物のβ-1,3-グルカナーゼは、花粉の形成や花粉管の伸長、種子の発芽・成長、病原菌に対する防御などに関与する重要な酵素であり、多数の報告があるが、イネのβ-1,3-グルカナーゼに関する知見はまだない。我々は、きょう雑タンパク質が比較的少ないと考えられるイネ懸濁培養細胞の培地からβ-1,3-グルカナーゼの部分精製を試み、その性質を調べたので報告する。酵素活性の測定は、基質としてEthyl Amino Benzoate(EAB)でラベルしたラミナリトリオース(J. Chromatog. 588, 1991, 53)を用いてHPLCで行った。部分精製には、CM-Sepharose、Con A-Sepharose、Phenyl-Sepharose、Sephadex G-100を使用した。本酵素の至適pHは5.0で、2糖から6糖までのEAB-ラミナリオリゴ糖基質の中では、EAB-ラミナリトリオースを最もよく分解した。また、ラミナリンを基質として用いた場合、主要分解産物(37°C、16hr)は、ラミナリトリオース及びブドウ糖であった。一方、ゲル濾過で見積もった本酵素の分子量は約51,000で、Con A-Sepharoseに結合することから、糖タンパク質であることが示唆された。また、本酵素は、等電点ゲル電気泳動によって等電点(pI)が5.2及び6.4の2つの成分に分離した。

3pE06

タチナタマメ由来α-マンノシダーゼの精製とその糖鎖型の推定

安楽城敬太、藤山和仁、吉田敏臣(阪大・工・生物工学国際交流センター)

α-マンノシダーゼは、動植物に広く分布し、細胞内でのN-結合型糖鎖付加機構におけるプロセッシングに関与していることが知られている。

タチナタマメ(jackbean, *Canavalia ensiformis*)由来α-マンノシダーゼは市販され、糖鎖構造の解析に用いられている。さらに、ゲルろ過において分子量約200,000の糖タンパク質で、α(1-2), α(1-3), α(1-6)マンノシド結合を特異的に加水分解することが報告されているが、その細胞内での生理的な役割や、一次構造及び糖鎖については明らかにされていない。そこで、α-マンノシダーゼを精製し、糖鎖構造の解析を試みた。

本研究では、発芽したタチナタマメの種子より種々のクロマトグラフィーを用いて均一となるまで精製した。その結果、分子量約44,000(L-subunit)と約66,000(H-subunit)の2つのサブユニットから成るヘテロテトラマーであることを確認し、この結果は、子葉のα-マンノシダーゼについての報告と一致している。次に、PAS染色による糖鎖の存在の確認と*N*-グリカナーゼ処理による*N*-結合型糖鎖の存在を確認した。そして、レクチン特異性から、おおまかな糖鎖構造を推定した。その結果、α-マンノシダーゼには、*O*-結合型糖鎖は存在せず、H-subunitにだけ高マンノース型あるいは、複合型の*N*-結合型糖鎖が存在すると推定した。

年会参加者・発表者名簿

備考　　○　年会参加者
　　◎　年会及び懇親会参加者

氏　名	所　属	講演番号	備考
Anwaruzzaman, Md.	大阪府大・農・農化	1aE07	◎
Aspuria, E.T.	東京大・応微研	1aA11、3aB10	
Beachy, R.N.	The Scripps Res. Inst., U.S.A.	3pA01	
Chang, Y.J.	Dept. Biol., Ewha Univ., Korea	1pF13	
Chory, J.	The Salk Institute, U.S.A.	1aA03、1aA04、1aA05	
Chua, N.-H.	The Rockefeller Univ., U.S.A.	3aB08	
Cogdell, R.J.	Dept. Bot., Univ. Glasgow, U.K.	1pD05、1pD06、1pD09	
Dathe, W.	Inst. Plant Biochem., Germany	3aC04	
Dionisio-Sese, M.L.	海洋バイオ研	2pB07	
Gardiner, A.T.	Dept. Bot., Univ. Glasgow, UK	1pD09	
Gibson, S.	Michigan State Univ., U.S.A.	1aB03	
Haas, C.J.	理研・フロンティア	2aE08	◎
Harinasut, P.	名古屋大・農・生化学制御	1pC13	○
Heber, U.	Wurzburg Univ., Germany	3aD12、3aD13	
Hellebust, J.A.	Univ. Toronto, Canada	1pC10	
Huber, D. J.	Univ. Florida, U.S.A.	2pG04	
Hur, K. C.	Dept. Biol., Ewha Univ., Korea	1pF13	○
Kannangara, C.G.	Carlsberg Lab., Denmark	1pD15	
Kendrick, R.E.	理研・フロンティア	2aE07	
Koh, H.S.	Dept. Biol., Ewha Univ., Korea	1pF13	
Le, V.H.	広島大・総科・自然	2pG03	◎
Lee, J.S.	Seoul Natl. Univ., Korea	1pF13	
Lee, B. H.	名古屋大・農・生化学制御	3pD03	○
Limantara, L.	関西学院大・理・化学	1pD01、1pD02、1pD04	○
Lopez-Juez, E.	理研・フロンティア	2aE07	○
Maliarik, M.	Univ. Michigan, U.S.A.	1aG09	
Mannan, R. M.	Washington Univ., U.S.A.	3aD10	
Pakrasi, H. B.	Washington Univ., U.S.A.	2aD02、3aD10	
Parry, M.A.	Rothamsted Exp. Stat., UK	1aE08	
Rai, A.K.	Banaras Hindu Univ., India	1pC14	
Rajagopal,R.	Royal Vet. Agri. Univ., Denmark	1pG09	
Reed, J.W.	The Salk Institute, U.S.A.	1aA03、1aA04	
Reid, J.B.	Univ. Tasmania, Australia	1pG14	
Rochaix, J.-D.	Univ. Geneva, Switzerland	2aD03	
Schiff, J.A.	Brandeis Univ., U.S.A.	1aF08	
Schreiber, U.	Wurzburg Univ., Germany	3aD13、3pD02	
Shukla, V. K.	Washington Univ., U.S.A.	2aD02	
Smithem, V.L.	九州大・理・生物		○
Somerville, C.	Michigan State Univ., U.S.A.	1aB03	

氏　名	所　属	講演番号	備考
Sumatra, M.	BATAN, Indonesia	1pG02	
Swain, S.	Univ. Tasmania, Australia	1pG14	
Vermaas, W.F.J.	Arizona State Univ., U.S.A.	2aD02	
von Wiren, N.	Univ. Hohenheim, Germany	1aC03	
Wirawan, I.G.P.	名古屋大・農	1aG03	○
あ			
青木　考	金沢大・理・生物		◎
青木直大	埼玉大・理・生化	3aD06	○
青木秀之	京都大・食研	2pA02、3pE01	◎
青野光子	国立環境研	S3aA2	
青山卓史	京都大・化研	1aA01	
秋山　高	北海道農試	2aC02、3pE05	◎
秋山典昭	農水省・草地試	1aC04	○
秋山正志	岡山大・理・生物	3aC14	
秋好淳子	島根大・農・生物機能	3pE02	
浅井一視	大阪医大・教養・生物	3aG11	
浅田起代蔵	宝酒造バイオ研	2aG06	
浅田浩二	京都大・食研	2pC02、2pC03、2pC05、2pD03 3aD13、3pD01、3pD02	◎
浅田隆之	王子製紙・林木育種研	2pG07	
浅田哲弘	大阪大・理・生物	S1pA2	○
旭　正	福井県大・生物資源	1aF12	
東　順一	京都大・農・林工	2pG08	
足立恭子	海洋バイオ研・清水研	3aF01	
足立　尭	明治製菓・生物科学研	2pC08	
足立　勝	宮崎大・農・植物生産		○
穴井豊昭	北海道大・理・植物	1aA11	◎
阿部知子	理研・薬剤作用	1pG02	◎
安部　弘	理研・植物生活環制御		◎
阿部美紀子	鹿児島大・理・生物	1aB04、1aG05	◎
尼子克己	京都大・食研	2pC05	◎
新井剛史	東京理科大・理工・応生	2aE01	
安楽城敬太	大阪大・工・生物工学国際交流	3pE06	○
荒田博行	九州大・理・生物	3aF15	◎
安藤俊哉	金沢大・理・生物	1pC11	◎
安藤　満	国立環境研	2aC07	

氏　名	所　属	講演番号	備考
い			
飯田　滋	東京理科大・基礎工・生物工	1pB11、1pB12	
飯野盛利	大阪市大・理・植物園	2pE03	◎
叶　麗珍	名古屋大・遺伝子	1pB10	
伊賀上郁夫	新潟大・農・農化	3aE06、3pE04	
五十嵐太郎	新潟大・農・農化	1pE04	
猪川倫好	筑波大・生物	1pE11、3aD04	
池内昌彦	理研・太陽光科学	2aD02	◎
池上　勇	帝京大・薬	3aD09	○
池田順一	農水省・東北農試	2pC07	○
池田篤治	京都大・農・農化	3aG09	
池田善和			○
井沢　毅	植工研	1pB12、3aB08	○
石井　忠	農水省・森林総研	2aG01	○
石井愃義	徳島大・総科		○
石井幸夫	農水省・森林総研・多摩	1pG11	
石浦正寛	基生研	3aC12	
石垣英志	海洋バイオ研・清水研	3aF01	
石垣賢一	京都大・農・農化	2pG08	○
石川敦司	名古屋大・農・生化	1pB02、1pB03	○
石川重夫			○
石川孝博	近畿大・農・食栄	1aE03	
石川　浩	名城大・理工・化学		○
石倉成行	熊本大・理・生物科学	3pE03	◎
石黒友紀子	日本女大・理	1pG11	
石毛郁治	住友化学・宝塚総研		○
石毛光雄	農水省・生物研	2pB03	
石崎良太郎	日医大・老研	1aA11	
石田明子	東北大・農・園芸	2aF07	
石谷　学	名古屋大・農・生化学制御	1pC12、1pC13、1pC14、1pC15	○
石原　邦	東京農工大・農	S2aA5	◎
石丸明恵	東北大・農・園芸	2aF07	
伊集院理江	日本女大・家政	3aF05	○
石渡　裕	東京大・農・農化	3aG05	○
泉井　桂	京都大・農・応用植物	S3aA5	
伊勢島ｴﾘｻﾞ美智子	北海道大・農・作物生理		○
磯貝　彰	東京大・農・農化	3aF11	
磯野協一	静岡県大・食品栄養	2aB08	
井田正二	京都大・食研	2pA02、3pE01	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
市川裕章	農業環境技術研	3aB04	◎
市丸　都	福岡女大・生物	2pD05	
井手口隆司	大阪大・蛋白研		○
伊藤　文	京都大・農・農化	3aE11	○
伊藤喜誠	横浜市大・木原生研	2aE10	
伊藤紀美子	植工研	1pB12	
伊藤　繁	基生研	3aD07、3aD08、3aD09	◎
伊東隆夫	京都大・木研	2pG07	
伊藤　寿	京都大・理・植物	1pD12	○
伊藤正樹	名古屋大・農・生化学制御	1aA06	◎
伊藤玲子	日本女大・理	1pG11	
稲垣純子	岡山大・理・生物	2aD01	
稲垣言要	基生研	2aD05	◎
稲垣善茂	東京大・薬	1pB11	
稲田　仁	九州大・理・生物		○
稲塲久美子	東京大・遺伝子	3pA03	○
井上香織	基生研・細胞生物		○
井上和仁	神奈川大・理・応用生物	1aD07、1aD08	
井上　弘	富山大・理・生物	3aE07	◎
井上眞理	九州大・教養・生物	2pC06	○
井上康則	東京理科大・理工・応生	2aE01	◎
井上頼直	理研・太陽光科学	1aD03、1pD11、2aC10、2aD02 2aD09、2aD10、2aD11、2aD13 2aD14	◎
射場　厚	九州大・理・生物	1aB02, 1aB03、1aF07	◎
今井　宏	早稲田大・教育・生物	3aG01	
今泉和光	PL学園女短大・植物研	1pC03	○
今泉眞知子	滋賀医大・生物	1pF11	○
今関英雅	名古屋大・農・生化学制御	1aB06、1pF13、1pG08	◎
今西俊介	名古屋大・農・生化	1pB01	○
今村　順	植工研	1aB09	
入船浩平	広島大・理・植物	1pE08	
岩崎郁子	九州大・理・生物	2pD05、3aF15	◎
岩崎俊介	理研・植物分子	1aA09、3pB05	○
岩崎尚彦	大阪医大・教養・生物	3aG10	◎
岩崎行玄	福井県大・生物資源	1aF12	◎
岩城雅代	基生研	3aD07、3aD08	○
岩淵雅樹	京都大・理・植物	3aB05、3aB06、3aB07	○
岩本博行	福山大・工・食品工	1aE10	

氏　名	所　属	講演番号	備考
う			
上田英二	大阪府大・付属研	3aC05	◎
上田健治	横浜市大・文理・生物	3aE01	
上田純一	大阪府大・総合科学	2pE02、3aC03	○
上田寛子	金沢大・理・生物		◎
上野　明	静岡県大・薬	1aB11	
上野　修	農水省・生物研	3aD05	○
植松千代美	大阪市大・理・植物園	2pE03	○
宇垣正志	農水省・生物研	1aB05	
宇佐美昭二	名古屋大・理・生物	1aA10	○
丑丸敬史	京都大・理・植物	2aC11	○
牛山　明	埼玉大・理・生化	2aG12	
臼田秀明	帝京大・医・化学	1aE07、S2aA3	◎
内海俊樹	鹿児島大・理・生物	1aB04、1aG05	◎
内田英伸	東京大・理・植物	1aF01、1pB14	◎
内野良昭	東京工大・生命理工・生体機構		○
内宮博文	東京大・応微研	S3aA5、1aA11、2pA07、2pA08	◎
		2pA09、3aB10、3aB11、3aB12	
内海恵一郎	岡山大・理・生物	2aD04	○
梅澤俊明	京都大・木研	2aG04	
梅田正明	東京大・応微研	2pA07、2pA08、2pA09	
梅原洋佐	東京大・農・農化	1aC03	
梅村賢司	明治製菓・生物科学研	2pC08	◎
浦尾さとみ	理研・植物分子	3pB03、3pB04	
浦尾　剛	ほくさん中研	3pB04	○
海野けい子	静岡県大・薬・放射薬品	1pC04	◎
え			
江坂宗春	広島大・生物生産	1pC07、3aE02	○
江崎文一	岡山大・資生研	1aC07	
江刺洋司	東北大・教養	1pE05	◎
江尻慎一郎	岩手大・農・細胞育種	3aB01	
江尻成美	富山大・理・生物	2aB04	○
枝重有祐	農水省・森林総研	2aF01	
江藤亜紀子	東京大・理・植物	2pF06	○
榎並　勲	東京理科大・理・生物	2aD09、2pD07	○
榎本幸人	神戸大・理・臨海実	1aE04	
撰　達夫	鳥取大・工・物質工	3pD07	◎
遠藤　剛	京都大・食研	3pD01、3pD02	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
遠藤朋子	東京理科大・基礎工・生物工	1pB12	○
遠藤英樹	京都大・化研	1aA01	

お

大江田憲治	住友化学・宝塚総研	2aC06	
大岡宏造	大阪大・理・生物		◎
大川和秋	大阪大・教養・生物	3aG07、3aG08	◎
大倉哲也	農水省・食総研	2pA03	○
大堺利行	神戸大・理・化学	3pD08	
大島正弘	農水省・生物研	1aB05、3pB02	○
大隅良典	東京大・教養・生物	1pF06、1pF12	○
太田にじ	東京大・理・植物	1aF04	○
太田啓之	東京工業大・生命理工・生体機構	3aF03	◎
太田　豊	横浜市大・文理・生物	3aE01	○
大槻健蔵	北里大・衛生・遺伝生化	1aA08	
大槻義昭	農水省・農研センター	1aG10	
大坪憲弘	京都大・理・植物	3aB06、3aB07	○
大西純一	埼玉大・理・生化	3aD06	◎
大野剛義	東北大・理・生物	1aA06	
大橋伸一	帯広畜産大・生物資源化学	2aF01、2aF02	○
大橋直人	関西学院大・理・化学	1aD11	○
大橋祐子	農水省・生物研	1aB05、3aB13、3pB02	○
大畑智子	東京大・農・農化	1aC02	
大林正也	協和発酵・筑波研	1pB05、1pB06	◎
大森正之	東京大・教養	3aE09、3aF04	○
大柳宏之	電総研	2aD13	
大山勝夫	農林水産技術情報協会		○
大山卓爾	新潟大・農・農化	1pE04	○
岡　穆宏	京都大・化研	1aA01	◎
岡崎勝一郎	香川大・農・生物資源	1pE02	
岡崎芳次	大阪医大・教養・生物	3aG10	◎
岡澤一秀	宝酒造バイオ研	2aG06	◎
岡田昌二	静岡県大・薬・放射薬品	1pC04	
岡本龍史	東京都立大・理・生物	3pA04、3pA05	○
岡本　尚	横浜市大・文理・生物	3aC06	◎
岡本雅次	東亜合成	1aB05	
岡山繁樹	九州大・教養・生物	2pD02、2pD05	◎
小川宏蔵	大阪府大・応科工研	2aF09	
小川晃男	理研・太陽光科学	S2aA1、3pD02	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
冲中　泰	協和発酵・筑波研	1pB05、1pB06	
沖原清司	農水省・生物研	1pF07、3aF13、3aF14	◎
萩原　均	農水省・東北農試		○
奥　達雄	九州大・農・林学	2pD02	
奥　八郎	岡山大・農	1aG07、1aG08	
小串泰之	東京都立大・理・生物	3pA06	
奥田一雄	高知大・理・生物	S1pA4	
奥村剛一	京都府大・農・農化	2aC12	
奥村奈巳	東京大・農・農化	1aC03	
奥村信巌	東京都立大・理・生物	1aD09	○
奥山徳二	東京工大・生命理工	2pE08	
小倉長雄	千葉大・園芸	1pG07	
長船哲齊	東京医大・微生物	1aF08	○
小澤真一郎	鳥取大・工・物質工	3pD07	◎
小島邦彦	東北大・農・応用生化	3aD02、3aG04	
小田和司	横浜市大・木原生研	2aE11	○
小田　茂	PL学園女短大・植物研	1pC03	
落合英夫	島根大・農・生物機能	3pE02	
小野寛治	岡山大・資生研	1aC05	○
小野高明	理研・太陽光科学	2aD13、2aD14	◎
小幡茂裕	キシダ化学・研究開発	3pD04	○
小尾一郎	京都大・農・農化	3aG09	
小俣達男	名古屋大・農・農化	S3aA1、1pE12、1pE13、1pE14 2aB03	◎

か

甲斐正広	東京工大・生命理工・生命理	3pD06	
加川貴俊	東京都立大・理・生物	2aE06	○
柿本辰男	大阪大・理・生物	1pG13、2pF03	
賀来章輔	九州大・教養・生物		○
賀来華江	農水省・生物研	1aG09	
角田英男	新技団・水谷植物情報物質	1pG01	
角谷忠昭	京都大・農・農化	3aG09	○
角野冨三郎	大阪大・蛋白研	1pD02	○
掛川弘一	農水省・森林総研	2aG01	
葛西身延	岡山大・資生研	1aC08、3aF10	○
笠原宏一	北海道東海大・工		○
風間圭子	横浜市大・文理・生物	2aE01	
風間晴子	国際基督教大・生物		○

氏　名	所　属	講演番号	備考
笠毛邦弘	農水省・食総研	2pA03、3aF05、3aF06、3aF07 3aF11	◎
菓子野康浩	姫路工大・理・生命		○
梶矢弘美	京都大・農・農化	2pB06	○
梶原英子	福岡女大・生物	2pD05	
数岡　徹	住友化学・宝塚総研	2aC06	○
堅木育雄	北海道農試	3aE05	
片山洋子	福岡女大・生物	2aC07	
香月良江	福岡女大・生物	2pD02	
且原真木	岡山大・資生研	3aG06	○
勝村孝子	静岡県大・食品栄養	2aB09	
桂　真昭	京都大・理・植物	3aB06	
加藤　朗	総研大・生命	1aF11	○
加藤　明	北海道農試		○
加藤敦之	北海道大・理・植物	3aB10	
加藤郁之進	宝酒造バイオ研	2aG06、2aG07	
加藤　潔	名古屋大・教養・生物	3aC07	◎
加藤　栄	東京大・理・植物	S2aA6、2aB02、2pD07、3aD10	
加藤真司	埼玉大・理・生体制御	2aF04	○
加藤哲也	京都大・理・植物	1pD07	
加藤登紀子	日本女子大	1pG02	
加藤敏朗	新日鐵（株）	1aG08	○
加藤友彦	三井植物バイオ研	1aE09、1aE10	◎
加藤直洋	広島大・生物生産	3aE02	
加藤美砂子	海洋バイオ研・清水研	3aF01	○
門田明雄	東京都立大・理・生物	2aE06	○
金井龍二	埼玉大・理・生化	3aD06	◎
金澤健二	東京大・農・農化	1aC02	○
金森正雄	財・環境科学総合研	3aC04	
金山喜則	名古屋大・農・園芸	1pE10、2aG11、3aF08	◎
鐘ヶ江　健	京都大・農・農化	2pB06	
金勝一樹	北里大・教養・生物	1aA08	○
金子　淳	東北大・農・応微		◎
金田剛史	大阪大・理・生物	1pG13	○
嘉納ゆり子	農水省・果樹試	2aB06、2aB07	○
鎌田　堯	岡山大・理・生物	S1pA6	◎
鎌田　博	筑波大・生物	1aA09、2aE04、2aF05	
鎌田光宜	広島大・理・植物	1pE08	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
蒲池浩之	九州大・農・林学	2pD02	
上口美弥子	名古屋大・農・生化学制御		○
神阪盛一郎	大阪市大・理・生物	2aG02、2pE02	◎
神谷明男	帝京大・薬・化学	2pE01	◎
神谷信夫	理研・結晶学	2aD10	
神谷勇治	理研・フロンティア	1pG10、1pG12、1pG14、2aE07 2aE08	◎
神山　勉	理研・生物物理	2aD10	
亀井信明	関西学院大・理・化学	1pD03	○
亀山忠幸	関西学院大・理・化学	1pD05	
唐沢佳子	宮城教育大・生物	2aF06	
河合文雄	財・環境科学総合研	3aC04	
川合真紀	東京大・応微研	2pA07	○
河岡明義	山陽国策パルプ・生物研	3pB01	
川上直人	横浜市大・木原生研	3aE01	◎
川北　弘	農水省・蚕昆研	3aG06	
川口健太郎	北海道農試	3aE05	◎
川口正代司	東京大・教養		○
川崎信二	農水省・生物研	1aC04	
川嶋一郎	東京大・農・農化	3aG05	
河野重行	東京大・理・植物	1aF02、1aF03、1aF04、1aF05 1pB14、3aB02	
川畑俊一郎	九州大・理・生物	1aF07	
河部　邉	農水省・蚕昆研	3aG06	
河村幸雄	農水省・食総研	2pA03	
川本邦男	京都大・食研	2pD03	○
河本朋広	大阪大・工・応生	3pB01	○
河盛阿佐子	関西学院大・理	2aD14	
姜　熙玩	名古屋大・農・生化学制御	1aG03	○
姜　鳳中	理研フロンティア	1pG12	
神崎朋美	東邦大・理	2pC01	
神取秀樹	分子研	3aD07	

き

喜久田嘉郎	北海道大・農・植物	1pG03、1pG04、2pB01、2pB02	○
菊地　彰	筑波大・生物	2pG05	○
菊地泰弘	協和発酵・筑波研	1pB05、1pB06	
木須康智	広島大・生物生産	3aE02	○
北　憲明	東京工大・生命理工	1pD13	○

氏　名	所　属	講演番号	備考
北川泰弘	名古屋大・農・園芸	2aG11	○
木谷和重	トヨタ自動車（株）	1pE09	
北村晃司	京都大大学院・人間環境	2aD12	○
北村真美	東京理科大・理・生物	2pD07	○
木戸　毅	近畿大・農化	2aF09、2aF11	○
鬼頭俊而	大阪府大・付属研	3aC05	
木下和久	東北大・理・生物	1aA06	
木下俊則	九州大・理・生物	2aE12、2aE13	○
木下靖浩	日本ペイント（株）・中研	3pD05	
金　賢貞	農水省・食総研	2pA03	
木村佳代	名古屋大・農・園芸	1pE10	
木村　信	新潟大・自然科学・生命システム	3aE06	○
京　正晴	香川大・農	1aB07	
経塚　淳子	植工研	2aB07	
清川繁人	協和発酵・筑波研	1pB05、1pB06	
清末知宏	理研・植物分子	3pB06	○
清田誠一郎	農水省・生物研	1pE01、1pF07、3aF13	○
金　鉄	金沢大・理・生物		◎

く

九鬼導隆	関西学院大・理・化学	1pD05、1pD06、1pD07	◎
楠　正美	明治大・理工・物理	2aD13、2pD01	◎
楠見健介	九州大・理・生物	1aF07、3aF15	○
楠見武徳	徳島大・薬	2aF08	
楠元範明	早稲田大・教育・生物	1aD07、1aD08	◎
朽津和幸	農水省・生物研	1aG09、1aG10、1aG11	◎
久保明弘	国立環境研	S3aA2、2pC04	◎
久保田　守	基生研	2pE05	
熊崎茂一	分子研	3aD07	
倉石　晋	広島大・総科・自然環境	1pG09、2pG02、2pG03、2pG06	◎
倉田哲也	北海道大・理・植物	2aE03	○
栗林郁夫	新潟大・自然科学	3pE04	◎
栗林秀人	関西学院大・理	2aD14	
栗本宜孝	コベルコ科研	1pD03、1pD04	
栗山　昭	財・環境科学総合研	3aC04	○
黒岩常祥	東京大・理・植物	1aF01、1aF02、1aF03、1aF04 1aF05、1pB14、3aB02	◎
黒岩晴子	共立女短大・生物	1aF01、1aF02	
黒崎文也	富山医薬大・薬	1aG12	○

氏　名	所　属	講演番号	備考
畔柳　聡	福山大・工・生物工学	1aB01	
黒柳正典	静岡県大・薬	1aB11	
桑原朋彦	筑波大・生物	3aE12	○
こ			
小池説夫	農水省・生物研	1aC10、3pE05	◎
小池孝良	農水省・森林総研・北海道	S3aA5	
小岩尚志	京都大・農・農化	1pC08	○
幸路次郎	大阪大・理		◎
幸田泰則	北海道大・農・植物	1pG03、1pG04、2pB01	◎
香田祐美子	大阪府大・農・農化	1aE01	
河内　宏	農水省・生物研	1aA06、1aA07、1aG10、1pE02	
河内光博	愛媛大・農	1pC05	
河野　匡	東京ガス・フロンティア研	S1pA5	
光部篤人	名古屋大・農・農化	1pE14	○
小神浩幸	北海道大・理・植物	S3aA5	
木崎暁子	京都大・農生	S3aA4、1pE15、2aF09、2aF11	○
児下佳子	静岡大・農・生物生産科学	2aC01	
小島晶子	名古屋大・理・生物	1aA10	
小島峯雄	名古屋大・農・生化学制御	1aG03	◎
小杉俊一	農水省・生物研	3aB13	○
小瀬村誠治	慶応大・理工・化学	1pG01	
小谷俊之	金沢大・理・生物		◎
児玉浩明	九州大・理・生物	1aB02	◎
後藤伸治	宮城教育大・生物	2aF06	◎
後藤美和	広島大・生物生産	3aE02	
後藤由季子	東京大・生化	1aA09	
後藤洋子	農水省・生物研	1aB05	
五藤竜太	岡山大・理・生物	3aC13	○
小西智一	名古屋大・農・生化学制御	1aF09	○
小林京子	静岡県大・食品栄養	2aB09	
小林裕和	静岡県大・食品栄養	1aB11、1aE01、1aE05、2aB08 2aB09	◎
小林正智	理研・フロンティア	2aE07	
小林善親	九州大・農・林学	3aD12	◎
駒嶺　穆	東北大・理・生物	1aA06、1pF14、1pF15、3aE04	◎
米田好文	東京大・遺伝子	2pA04、3pA03	
小山　泰	関西学院大・理・化学	1aD11、1pD01、1pD02、1pD03 1pD04、1pD05、1pD06、1pD07	○

氏　名	所　属	講演番号	備考
是枝　晋	埼玉大・理・生化		◎
近藤昭弘	宝酒造バイオ研	2aG07	
近藤　淳	金沢大・理・生物		◎
近藤孝男	基生研	2pE06、3aC12	○
近藤矩朗	国立環境研	S3aA2、1pE11、2pC04、2pE05	◎
さ			
蔡　晃植	理研	3aF11	◎
西條由美子	甲南大・理・生物	2aD08	
齋藤公児	新日鐵（株）	1aG08	
斎藤　智	東京理科大・応用生物	1pD10	
斎藤臣雄	東京大・農・農化	1pG10、1pG14	◎
斎藤　力	筑波大・生物	2aE04	○
斎藤祐二	農水省・草地試	1aC04	
佐伯和彦	大阪大・理・生物	2aB01、3aE03	◎
早乙女真紀	日本女大・理	1pG11	◎
酒井　敦	東京大・理・植物	1aF03	◎
榊　剛	北海道東海大・工・生物工	1pC01	◎
榊原　均	名古屋大・農・農化	2pB04	○
榊原祥清	農水省・食総研	2pA03	
坂野勝啓	農水省・生物研	1pE01、1pF07、2pC09、3aF13 3aF14、3aG06	◎
坂部みどり	東北大・理・生物	1aA06	
坂本　敦	京都府大・農・農化	2aC12	◎
坂本敏夫	総研大	3aF04	○
坂本正弘	三井東圧化学ライフサイエンス研	2pA05	○
先浜直子	神戸大・理・生物	3pD04	○
作田智洋	上智大・理工・化学	2pF10	
桜井　成	理研	1pG10	
桜井直樹	広島大・総科・自然環境	1pG09、2pG02、2pG03、2pG06	◎
桜井英博	早稲田大・教育・生物	1aD07、1aD08、1pC02、3aG01 3aG02	◎
佐々木幸子	京都大・農・食工	1aA12、2aE02	
笹田直樹	岡山大・資生研		○
雀部博之	理研・ＦＲＰ	2aD09	
佐治　光	国立環境研	S3aA2、1pE11、2pC04	○
定金　豊	岡山大・理・生物	3aC14	○
佐藤和彦	姫路工大・理・生命		◎
佐藤和敬	東京工大・生命理工	2pE08	

氏　名	所　属	講演番号	備考
佐藤公行	岡山大・理・生物	2aD04、2aD05、2aD06、2aD11	○
佐藤　忍	筑波大・生物	2pG05	
佐藤隆英	千葉大・園芸	1pG07	◎
佐藤　勉	東北大・理・生物	1aB10	
佐藤敏生	広島大・理・植物	1pB16、2aC08、2aC13	◎
佐藤直樹	東京学芸大・生命科学	1pB14、3aF02	◎
佐藤文彦	京都大・農・農化	1pC08	○
佐藤　守	農水省・蚕昆研	3aG06	
佐藤　康	東北大・理・生物	3aE04	○
佐藤美子	宝酒造バイオ研	2aG06	
佐藤　良			◎
里澤智美	三井東圧化学ライフサイエンス研	2pA05	
真田哲朗	農水省・果樹試	2pG01	
真田幸香	金沢大・理・生物	1pC11	◎
佐野恵子	九州大・農・食化工	2aC05	
佐野　智	京都大・食研	2pC03	◎
佐野俊夫	東京大・理・植物	3aC09	○
佐野　浩	海洋バイオ研・清水研	3aF01	
佐野芳雄	国立遺伝研	2pA04	
澤　嘉弘	島根大・農・生物機能	3pE02	
澤木弘道	名古屋大・農・農化	2aB03	○
澤田信一	弘前大・理・生物	S2aA4、1aE07	◎
し			
椎名　隆	京都大大学院・人間環境	2aB11	◎
塩井祐三	東京工大・生命理工・生体機構	1pD13、1pD14、1pD15、2pE08 3aF03	◎
重岡　成	近畿大・農・食栄	1aE03	○
重森康司	岡山大・理・生物	2aD01	○
志田由起子	新潟大・農・農化	1pE04	
七條千津子	神戸大・理・生物	2aE09	◎
篠崎恵美子	福岡女大・生物	2pD05	
篠崎一雄	理研・植物分子	1aA09、3aB05、3pB03、3pB04 3pB05、3pB06	○
篠崎和子	理研・植物分子	1aA09、3pB03、3pB04、3pB05 3pB06	○
篠崎真輝	京都大・農・応植	2aF12	○
篠崎靖宏	日本たばこ・たばこ中研	1pF10	
篠田徹郎	農水省・野菜茶試	1pF10	

氏　名	所　属	講 演 番 号	備考
篠原麻男	高砂香料総研	1pE05	
篠原健司	農水省・森林総研	1aF09、1pB07	◎
篠村知子	日立・基礎研	1aA05	○
柴岡弘郎	大阪大・理・生物	S1pA2、1pF08、1pF09、1pG13	◎
		2pF03、2pF04	
柴田大輔	三井植物バイオ研	1aE09、1aE10、1aE11、2aG04	◎
		2aG05	
柴田　均	鳥取大・農・生物機能	3pE02	◎
渋谷直人	農水省・生物研	1aG09、1aG10、1aG11	○
島崎研一郎	九州大・教養・生物	2aE12、2aE13	◎
島津恒夫	東レリサーチセンター	2aB02	
島田敦子	大阪市大・理・生物	2aF13	○
嶋田敬三	東京都立大・理・生物	1aD05、1aD06、1aD09、1aD10	◎
		1aD12、1pD10	
島田信二	農水省・農業研究センター		○
嶋田知生	総研大・生命	1pF02	○
島田浩章	三井植物バイオ研	2aB04	
島田裕士	東京工大・生命理工・生体機構		○
嶋田幸久	協和発酵・筑波研	1pB05、1pB06	◎
島村敏夫	松下テクノリサーチ	1pD03	
島本　功	植工研	1aF12、1pB12、2aB07、3aB07	
		3aB08	
清水徳朗	埼玉大・理・生化	1aD03、2aC10	◎
清水英幸	国立環境研	2pE05	
清水仁志	名古屋大・農・農化	2pB04	
下川敬之	宮崎大・農	1pD14	
下河原浩介			◎
下嶋美恵	東京工大・生命理工・生体機構	3aF03	○
下村尚生	佐賀大・農・遺伝子工学	2aF03	○
城斗志夫	九大・農・食化工	2aC04、2aC05	○
城市　篤	早稲田大・教育・生物	3aG01、3aG02	○
庄司雄一	東北電力・応技研	1pF14、1pF15	◎
庄野邦彦	東京大・教養・基礎科学	1aG04	○
庄野真理子	筑波大・生物	S3aA5、3aF09	○
白石友紀	岡山大・農	1aG07、1aG08	◎
白岩善博	新潟大・理・生物	3aD03	◎
白野由美子	三井植物バイオ研	1aE11	◎
沈　建仁	理研・太陽光科学	2aD09、2aD10	○
新　勝光	神戸大・理・生物	3pD04	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
神　幸夫	広島大・理・植物	1pE08	
進士秀明	工技院・生命工学研	1aA02	
新名惇彦	大阪大・工・応生	1aA07、3pB01	◎
新免輝男	姫路工大・理・生命	S1pA5、2pF09、3aF13	◎
す			
須江七丈	埼玉大・理・生化	1aD03、2aC10	◎
末次由美	大阪大・理・生物	3aE03	◎
菅井道三	富山大・理・生物	2aB04、2aB05、2aB12、2pE06	◎
菅沼教生	愛知教育大・生命	1aG06	
菅原二三男	理研	1pG02	
菅原康剛	埼玉大・理・生体制御	2aF04	○
杉浦昌弘	名古屋大・遺伝子	1pB08、1pB09、1pB10	
杉浦美羽	甲南大・理・生物	2aD08	
杉田耕一	東京理科大・基礎工・生物工	1pB12	
杉田　護	名古屋大・遺伝子	1pB08、1pB09、1pB10	○
杉野　守	近畿大・農・植生	2aF10	
杉信賢一	農水省・草地試	1aC04	
杉本昭夫	香川大・農・生物資源	1pE02	
杉山純一	大阪大・理・生物	1pF08、1pF09	○
杉山達夫	名古屋大・農・農化	1pE12、1pE13、1pE14、2aB03 2pB04	◎
杉山民二	明治大・農・農化		○
杉山宗隆	東北大・理・生物	1pF14、1pF15、3aE04	◎
鈴鹿　巌	農水省・生物研	3aB13	
鈴木昭憲	東京大・農・農化	3aF11	
鈴木淳文			◎
鈴木石根	名古屋大・農・農化	1pE12、1pE13	○
鈴木英治	茨城大・理・生物		◎
鈴木　馨	工技院・生命工学研	1aA02	○
鈴木一矢	埼玉大・理・生化	1aD02	◎
鈴木玄樹	東京工大・生命理工		○
鈴木健策	農水省・東北農試	3aD04	◎
鈴木恒平	筑波大・生物	3aE12	○
鈴木茂敏	名城大・農	3aD01	
鈴木健夫	京都工繊大・繊維・応生	3aC01、3aC02	◎
鈴木徹也	東京理科大・基礎工・生物工	1pB11	
鈴木幹雄	早稲田大・教育・生物	3aG02	

氏　名	所　属	講演番号	備考
せ			
関　原明	広島大・理	2aB08	
関口　道	東北大・農・園芸	2aF07	
関根政実	大阪大・工・応用生物	1aA07、3pB01	◎
関野景介	新潟大・理・生物	3aD03	◎
関本弘之	筑波大・生物	1pB13	
関谷　次郎	京都大・農・農化	2pG08、3aE11	○
そ			
曾我麻美子	東レリサーチセンター	2aB02	◎
曽根　裕	筑波大・生物	1pB13	○
園池公毅	東京大・理・植物	1pD11、3aD10	◎
園部誠司	大阪大・理・生物	S1pA2、1pF08、1pF09、2pF04	○
た			
田井さおり	静岡県大・薬・放射薬品	1pC04	
高市真一	日本医大・生物	1pD08、1pD09、1pD10	◎
高木正伸	愛知教育大・生命	1aG06	
高木慎吾	大阪大・教養・生物	2aE05	◎
高巣正子	福岡女大・生物	2aC07	
高瀬尚文	京都大・理・植物	3aB05	○
高田英夫			○
高田泰弘	北海道大・理・植物	1pE06	○
高根健一	香川大・農・生物資源	1pE02	○
高野泰吉	名城大・農	3aD01	
高野博嘉	東京大・理・植物	1aF05	◎
高野美佳	新潟大・理・生物	2aG10	○
高野光男	大阪大・工・応生	3pB01	
高橋　淳	北海道大・農・植物	1pG04	○
高橋哲郎	（財）サントリー生有研	2pE06	
高橋信孝	理研	1pG10	
高橋正昭	甲南大・理・生物	2aD08、3aD14	◎
高橋真澄	広島大・総科・自然環境	1pG09	
高橋裕一郎	岡山大・自然科学研究科	S3aA3、2aD03、2aD04	◎
高橋陽介	東京大・理・植物	3aC09	
高橋良二	北海道農試	2aC02	◎
高浜有明夫	九州歯大・生物	2aG03、3aC08	○
高部圭司	京都大・農	2aG04	

氏　名	所　属	講演番号	備考
高倍鉄子	名古屋大・農・生化学制御	1pC12、1pC13、1pC14、1pC15 3pD03	
高倍 昭洋	名城大・理工・化学	1aD01、3aD01、3pD03	◎
高宮建一郎	東京工大・生命理工・生体機構	1pD13、1pD14、1pD15、2pE08 3aF03	◎
高山喜晴	広島大・理・植物	2aC08	○
滝尾　進	広島大・理・植物	2aC13	◎
瀧本　敦	京都生物研		◎
田口富美子	岡山大・理・生物	2aD06	○
武市哲郎	農水省・生物研		○
竹内敦子	農水省・野菜茶試	2pB05	○
竹田淳子	京都大・農・農化	2pE04	◎
武田　徹	近畿大・農・食栄	1aE03	○
武田　宏	新潟大・教養・生物	2aG10	○
武田　穣	名古屋大・農・生化学制御	1aB06	◎
竹能清俊	東北大・農・園芸	2aF07	◎
竹葉　剛	京都府大・生科	S3aA4、1pE15、1pG05、2aF09 2aF10、2aF11	
田沢　仁	福井工大・応用理化	3aG11	◎
田島茂行	香川大・農・生物資源	1pE02	○
多田幹郎	岡山大・農・細胞	2pE07	
立川佳伸	筑波大・生物	2aF05	○
立木　光	新日鐵（株）・先端技術研	2pB07	◎
辰巳隆司	岡山大・農・細胞	2pE07	
立石佳之	東北大・理・生物	1aB10	○
田中　歩	京都大・理・植物	1aF06、1pD12	○
田中一朗	横浜市大・文理・生物	1aB09、3aE01	
田中　修	甲南大・理	2aF09、2aF10、2aF11	○
田中克幸	広島大・理・植物	2aC13	○
田中　浄	国立環境研・生物	S3aA2、1pC01、2pC01、2pC04	◎
田中邦明	静岡大・農・生物生産	1pG06	○
田中國介	京都府大・農・農化	2aC12	
田中敬一	農水省・果樹試	2pG01	○
田村耕一郎	広島大・工・醗酵	1aG02	
田中耕二	香川大・農・生物資源	1pE02	
田中隆行	甲南大・理・生物	2aD08	
田中政司	広島大・理・植物	1pE08	
田中正浩	早稲田大・教育・生物	3aG02	
田中義人	名城大・理工・化学	1aD01、1pD12、3aD01	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
田中喜之	農水省・生物研	1aC09、1aC10	◎
田辺史生	名古屋大・遺伝子	1pB08	○
谷口光隆	名古屋大・農・農化		○
谷澤克行	大阪大・産研	2pB03	
谷田昌稔	北海道グリーンバイオ研	2pA04	
谷本英一	名古屋市大・教養・生物	2pG04	◎
谷本静史	佐賀大・農	1pC09、2aF03	○
谷本峰規	福山大・工・生物工学	2pB08	
田林紀子	北海道グリーンバイオ研	2pA04	
田原　誠	新日鐵（株）	1aG08	
玉井直人	金沢大・理・生物	1pC11	◎
玉置雅紀	愛知教育大・生命	1aG06	○
田宮　徹	上智大・理工・化学	2pF10	
田村典明	福岡女大・生物	2pD02、2pD05	◎
為我井秀行	東京工大・生命理工・生命理	3pD06	
樽井　裕	大阪市大・理・植物園	2pE03	○

ち

茅野充男	東京大・農・農化	1aC01、1aC02、1aC03、3aE08 3aG05、3pA02、3pA03	
千葉一弘	東京農工大	1aC09	
張　平	東京大・応微研	3aF12	○
張　明	東北大・教養・生物	1pE05	○
長　雅子	北海道大・理・植物	1pE06	○
趙　毓橘	理研フロンティア	1pG12	○
陳　功祥	京都大・食研	2pD03	

つ

塚田美樹	東京大・教養・生物	1pF06	○
槻木竜二	総研大・生命	1aF10	○
辻　公博	東京都立大・理・生物	1aD10	
辻　英夫	京都大・理・植物	1aF06、1pD12、1pG05、2aC11	◎
辻野義雄	神戸大・自然科学	3pD08	○
土屋隆英	上智大・理工・化学	2pF10	
土屋　亨	岩手大・農・細胞育種	3aB01	○
土屋　博	金沢大・理・生物		◎
筒井泉雄	生理研・生体膜	3aG08	◎
都筑幹夫	東京大・応微研	2pB07	
角山雄一	京都大大学院・人間環境学	2aB11	○

氏　名	所　属	講演番号	備考
壷井基夫	福山大・工・生物工学	1aB01、2pB08	○
円谷陽一	埼玉大・理・生化	2aG12	◎
鶴崎健一	広島大・総研・自然環境	1pG09、2pG06	◎
鶴見誠二	神戸大・自然科学	3pD08	◎
て			
寺崎容子	東京都立大・理・生物	3pA06	○
寺島一郎	東京大・理・植物	S2aA6	◎
寺田智子	三重大・遺伝子	3aB09	
寺田善信	江崎グリコ生化研	2pA02	
寺田理枝	植工研	3aB07	
寺本貴則	広島大・生物生産	1pC07	
寺本陽彦	京都大・理・植物	1pG05	○
手呂内伸之	大妻女大・一般・生物	1aG04	◎
と			
土井道生	宮崎医大・生物	2pE08	
董　夏静	大阪大・教養・生物	2aE05	
道家建二郎	北里大・教養・生物	1aA08	
渡海　寛	大阪府大・農・農化	1aE04	○
土岐精一	北海道大・理・植物	S3aA5	◎
得字圭彦	帯広畜産大・生物資源化学	2aF01、2aF02	○
徳富　哲	基生研	2aE04	◎
徳富光恵	農水省・生物研	2aD07	◎
飛田哲也	日本タバコ・たばこ中研	2aG01	
冨田英津子	鹿児島大・教養	2aG06、2aG07	◎
富永義人	平安女学院短大		◎
富永るみ	広島大・総科・自然	2pG02	◎
友田善久	明治製菓・生物科学研	2pC08	
土山直美	京都大・食研	3pE01	
豊島　近	理研・ＦＲＰ	2aD09	
豊島喜則	京都大大学院・人間環境	2aB11、2aD12	◎
豊田和弘	岡山大・農	1aG07	○
豊原源太郎	広島大・理・植物	1pE08	
鳥山欽哉	岩手大・農・細胞育種	3aB01	
な			
内藤圭子	静岡大・農・生物生産	2aC01	
内藤　哲	北海道大・農・応生	3aC11、3pA02、3pA03	

氏　名	所　属	講演番号	備考
中井　浄	東京理科大・基礎工・生物工	1pB12	
長井　潔	神戸大・理・生物	3pD04	○
永井俊幸	富山大・理・生物	2aB12	
永井玲子	大阪大・教養・生物	2aE05	◎
長江裕芳	神戸市外大	1pD01、1pD06	
長岡伸一	愛媛大・理	1pD08	
中川　強	島根大・遺伝子		○
中川直樹	理研・FRP		○
中川弘毅	千葉大・園芸	1pG07	
中里勝芳	東京理科大・理・生物	2aD09	◎
中島秀明	岡山大・理・生物	3aC13、3aC14	
中島尚子	名古屋大・農・生化学制御		○
中嶋正人	金沢大・理・生物		◎
長嶋雲兵	お茶の水女大・理	1pD08	
永島賢治	東京都立大・理・生物	1aD05	◎
中田政司	広島大・理・植物	1pE08	
長田敏行	東京大・理・植物	S1pA1、2pF05、2pF06、3aC09	◎
長谷あきら	理研・フロンテイア	1aA03、1aA04、1aA05、2aE08	◎
永谷　工	北海道大・農・植物	2pB01	
長友武彦	筑波大・生物	2pD04	
中西（羽白）京子	海洋バイオ研・清水研	3aF01	
中西啓仁	東京大・農・農化	1aC03	○
中西　史	筑波大・生物	2aF08	○
中野憲一	大阪大・産研	2pB03	
仲野廣美	東北大・農・応用生化	3aD02	◎
中野律子	協和発酵・筑波研	1pB05、1pB06	
永野幸生	京都大・農・食工	1aA12、2aE02	◎
長濱嘉孝	基生研・生殖	2pF01、2pF02	
中村恵理子	東京理科大・理工・応用生物		○
中村恭子	名古屋大・農・生化	1pB01	
中村研三	名古屋大・農・生化	1aF12、1pB01、1pB02、1pB03 1pB04	
中村茂雄	宮城県農業センター	1aB05、3pB02	
中村進一	東京大・農・農化	3aE08、3aG05	○
中村輝子	日本女大・理	1pG11	◎
中村俊樹	農水省・東北農試	2pC07	
中村敏英	名古屋大・農・生化学制御	1pC15	○
中村紀雄	横浜市大・文理・生物	2pG05	
中村久子	岩手大・農・細胞育種	3aB01	

氏　名	所　属	講演番号	備考
中村良子	筑波大・生物	1pE11	○
中村善行	農水省・食総研	3aF06	○
仲本　準	埼玉大・理・生化	1aD04	○
中山卓哉	京都大・理・植物	3aB07	
中山善雄	近畿大・農・植生	2aF10	○
那須英和	早稲田大・教育・生物	1aD07、1aD08	○
名取俊二	東京大・薬	1aB05	
縄田朋樹	東北大・医療技術短大		○
南城則行	関西学院大・理・化学	1pD01	
南原英司	名古屋大・農・生化学制御	3aC11	○
に			
西　荒介	富山医薬大・薬	1aG12	◎
西内　巧	九州大・理・生物	1aB03	○
西尾浩一	甲南大・理・生物	2aD08	
西尾康三			○
西崎友一郎	神戸学院大・人文		◎
西澤栄一	関西学院大・理・化学	1pD01、1pD02	○
西澤直子	東京大・農・農化	1aC01、1aC02, 1aC03	
西田生郎	基生研	3aF04	
西田栄介	東京大・生化	1aA09	
西田晃二郎	金沢女大		○
西谷和彦	鹿児島大・教養	2aG06、2aG07	◎
西原昌宏	広島大・理・植物	1aB07、3pA06、3pA07	◎
西宮　聡	農水省・生物研	1aB05、3pB02	○
西村いくこ	基生研・細胞生物	1pF02、1pF03、1pF04	◎
西村幹夫	基生研・細胞生物	1aF10、1aF11、1pF01、1pF02 1pF03、1pF04、2aD01	◎
西村光雄	九州大・理・生物	1aB02、1aB03、1aF07、2aE12 2aE13、3aF15	◎
西村行正	東京理科大・応用生物	1pD10	
西山佳孝	基生研	2pD08	◎
丹羽康夫	静岡県大・食品栄養	1aB11、2aB08、2aB09	○
ぬ			
沼田有子	名城大・理工・化学	1aD01	
の			
濃野昌子	広島大・理・植物	1pE08	

氏　名	所　属	講 演 番 号	備考
野上暁子	広島大・理・植物	2pF01、2pF02	○
野口　巧	理研・太陽光科学	1pD11、2aD11、2aD13	◎
野坂修一	滋賀医大・麻酔	3aG07	
野坂康人	京都府大・農・農化	2aC12	
野末文雄	東京大・応微研	2pA09	○
野並　浩	愛媛大・農	1pC05	◎
野村信夫	日医大・老研	1aA11	
野村美加	名古屋大・農・生化学制御	1pC14	○
は			
萩森　学	日本たばこ・植物開発研	1pF10	○
箱山　晋	北海道農試	3aE05	
橋爪克仁	名古屋大・農・生化	1pB02	○
橋本純治	農水省・生物研	1aA06	○
橋本　隆	京都大・農・農化	2pB06	
橋本智世	静岡大・農・生物生産	1pG06	
橋本　徹	神戸大・理・生物	2aE09、2pE07、3pD08	◎
橋本尚子	植工研	1pB12	
橋本昌晴	大阪府大・総合科学	3aC03	
橋本　康	愛媛大・農	1pC05	
橋本洋一	埼玉大・理・生化	2aG12	
蓮沼仰嗣	横浜市大・木原生研	2aE10、2aE11	○
長谷　昭	北教大・函館・生物		◎
長谷栄二	帝京大・医・化学	1aF08	
長谷俊治	大阪大・蛋白研		◎
長谷川桂子	早稲田大・教育・生物	1pC02	○
長谷川宏司	新技団・水谷植物情報物質	1pG01	◎
馳澤盛一郎	東京大・理・植物	S1pA1、2pF05、2pF06、3aC09	◎
畑　信吾	農水省・生物研	1aA06	
秦　恵	神戸大・理・生物	2pE07	○
畑中　覚	甲南大・理・生物	3aD14	
秦野彰二	東京大・農・放射線遺伝	2pA01	
波多野昌二	九州大・農・食化工	2aC04、2aC05	◎
波多野由美	関西学院大・理・化学	1pD07	◎
服部悦子	広島大・理・植物	1aB08	○
服部束穂	三重大・遺伝子	3aB09	◎
服部　冬	東北大・農・応用生化	3aG04	
花田　智	東京都立大・理・生物	1aD06	○
花野　滋	名古屋大・遺伝子	1pB10	○

氏　名	所　属	講演番号	備考
馬場恭子	金沢大・理・生物	3aD11	◎
馬場啓一	京都大・木研	2pG07	◎
浜口宏夫	神奈川科技アカデミー	2aE01	
濱砂　聡	三重大・遺伝子	3aB09	
濱田　仁	富山医薬大・医	1aE04	
濱田達朗	九州大・理		○
浜田　徹	横浜市大・木原生研	2aE10	
浜出良二	日本ペイント（株）・中研	3pD05	
早川俊彦	東北大・農・応用生化	3aG04	◎
早川弘美	広島大・生物生産	1pC07	
林　隆久	京都大・木研	2aG09、2pG07	○
林　秀則	基生研	2aC09、2pD08	◎
林　浩昭	東京大・農・農化	3aE08、3aG05	○
林　誠	基生研	1aF11	◎
林田信明	理研・植物分子	1aA09	○
早津雅仁	農水省・野菜茶試	2pB05	
原島圭二	八千代国際大		◎
原田賢一	福山大・工・生物工学	2pB08	
原田晴康	日本たばこ・葉たばこ研	1pF10	
原田　宏	筑波大・生物	2aE04、2aF05	
播口徳充	大阪大・工・応用生物	1aA07	
伴　隆之	京都府大・生科	2aF09、2aF11	○

ひ

桧垣　朝	広島大・理・植物	1pE08、1pE09	
東　四郎	鹿児島大・理・生物	1aB04、1aG05	◎
樋口恭子	東京大・農・農化	1aC01	○
樋口隆司	大阪府大・農・農化	1aE05	◎
樋口隆昌	日本大・林学	2aG04、2aG05	
日暮祥子	日本女大・理	1pG11	
肥後健一	農水省・生物研	2pA06	◎
肥後ひろみ	農水省・生物研	2pA06	
彦坂幸毅	東京大・理・植物	S2aA6	
久冨泰資	福山大・工・生物工学	1aB01、2pB08	○
久富恵世	東京理科大・基礎工・生物工	1pB11	○
日高秀昌	明治製菓・生物科学研	2pC08	
日野　勲	岡山大・農	1aG07	○
日尾野隆	三井植物バイオ研	2aG04、2aG05	◎
日比野隆	名城大・理工・化学	1aD01、3pD03	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
槍山哲夫	埼玉大・理・生化	1aD02、1aD03、1aD04、2aC10	◎
兵藤　宏	静岡大・ 農・生物生産	1pG06	◎
平井（横田）優美	東京大・農・農化	3pA02、3pA03	○
平井篤志	東京大・農・放射線遺伝	2pA01	○
平石　明	コニシ環境バイオ研	1aD06	
平岩呂子	愛知教育大・教育	1pF04	○
平佐聡尚	農水省・生物研	3pB02	○
平澤栄次	大阪市大・理・生物	2aF13、3aG03	○
平沢　正	東京農工大・農	S2aA5	◎
平島恵美	福岡女大・生物	2aC07	
平野博之	国立遺伝研	2pA04	◎
平野昌彦	東レ・リサーチセンター	2aB02	◎
平橋智裕	大阪府大・農・農化	1aE02	○
平八重貴美子	理研・植物分子	3pB03	
平山　修	近畿大・農・食栄	1aE03	
平山隆志	理研・ライフサイエンス筑波研		○
平山匡男	明治製菓・生物科学研	2pC08	
広田雅光	東京都立大・理・生物	1aD10	◎
広近洋彦	農水省・生物研	1aB05	

ふ

胡　文忠	吉林農大・食品科学	1pG06	○
笛田和佐子	大阪市大・理・生物	3aG03	
深澤義親	富山大・理・生物	3aE07	
深瀬孝子	北海道大・農・植物	2pB01	
福井俊郎	大阪大・産研	2pB03	
福井美紀子	名古屋大・農・生化	1pB04	
福澤秀哉	京都大・農・農化	2pB07	
福田育二郎	東京理科大・理・生物		○
福田崇雄	広島大・工・醗酵	1aG02	○
福田裕穂	東北大・理・生物	1aB10、3aE04	◎
福田裕二	工技院・生命工学研・植物分子	1aA02	
福地直之	東京大・農・農化	3aF11	
福永典之	北海道大・理・植物	1pE06	○
福森義宏	東京工大・生命理工・生命理	3pD06	
福山寿雄	愛媛大・農	1pC05	◎
藤井和俊	名古屋大・農・農化		○
藤井修平	帝塚山短大・食品	1pC10	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
藤伊　正	筑波大・生物	1pB13、1pE07、2aF08、2pG05 3aF09	
藤井伸治	東京大・応微研	1aA11、3aB10、3aB12	○
藤江　誠	東京大・理・植物	1aF01、1aF02	◎
藤岡昭三	理研		◎
藤田耕之輔	広島大・生物生産	1pE08	
藤田修嗣	岡山大・理・生物	2aD05	
藤田知道	東京大・教養・基礎		○
藤田祐一	大阪大・蛋白研		◎
藤波宏治	千葉大・園芸	1pG07	
藤野介延	北海道大・農・植物	1pG04、2pB01	○
藤村達人	三井東圧化学ライフサイエンス研	2pA05	
藤本宜充	日本石油（株）	3aB06	
伏谷真二	東北大・薬	1aC02	
藤山和仁	大阪大・工・生物工学国際交流	3pE06	○
藤原祥子	工技院・微工研	1aE04、2pB07	
藤原武志	大阪大・理・生物	2aB01	
藤原健智	東京工大・生命理工・生命理	3pD05	○
藤原　徹	東京大・農・農化	3pA01、3pA02	○
布施拓市	九州大・理・生物	1aB02、1aB03	○
船津安世	鹿児島大・教養	2aG07	
舩橋　淳	九州大・農・食化工	2aC05	
降旗　敬	早稲田大・教育・生物	3aG01、3aG02	◎
古川憲治	コベルコ科研	1pD03、1pD04	◎
古川誠治	広島大・工・醗酵	1aG01	○
古木正人	埼玉大・理・生化	1aD03、2aC10	◎
古野泰二	理研・ＦＲＰ	2aD09	
古橋勝久	新潟大・理・生物	2aB12	
古谷雅樹	日立・基礎研	1aA05	
へ			
別府敏夫	西東京科大・一般教育		◎
ほ			
保坂正春	名古屋大・農・園芸	3aF08	○
星名　哲	金沢大・理・生物	3aD11	◎
星野　敦	東京理科大・基礎工・生物工	1pB11	○
星野聡子	都立立川短大		○
細野真由美	日本女大・理	1pG11	

氏　名	所　属	講演番号	備考
保尊隆享	大阪市大・理・生物	2aG02、2aG08、2pE02	◎
保谷彰彦	名古屋大・農・生化学制御		○
保谷　泉			◎
堀池　剛	静岡県大・薬	1aB11	○
堀江宣行	名古屋大・農・農化	1pE13	○
彭　友良	三井植物バイオ研	1aE11	
本蔵良三	宮城県農業センター	1aB05	
本城賢一	九州大・農・食化工	2aC04	◎
本多親子	東京大・農・農化	3aG05	

ま

前　忠彦	東北大・農・応用生化	3aD02、3aG04	
前島正義	北海道大・低温研	1aC08、1aC09	
前田香織	鹿児島大・教養	2aG07	
前田真一	名古屋大・農・農化		○
前田美紀	農水省・生物研	1aC09、1aC10	
牧　泰史	京都大・理・植物	1aF06	○
牧野　周	東北大・農・応用生化	S2aA2、3aD02	◎
増田恭次郎	富山大・理・生物	2aB04、2aB05、2aB12	
増田　建	東京工大・生命理工・生体機構	1pD15、3aF03	◎
増田宏志	帯広畜産大・生物資源化学	2aF01、2aF02	○
増田芳雄	帝塚山短大・食品	2aG08、2pE02	◎
増田亮一	農水省・食総研	1pE03	◎
町田泰則	名古屋大・理・生物	1aA10	
松井邦夫	トヨタ自動車(株)	1pE09	◎
松井正春	農水省・野菜茶試	1pF10	
松井　南	日医大・老研	1aA11	
松浦克美	東京都立大・理・生物	1aD05、1aD06、1aD09、1aD10	◎
松岡　健	名古屋大・農・生化	1aF12、1pB01	
松岡　勉	新潟大・農・農化	3aE06	
松岡　信	農水省・生物研	2aB06、2aB07、3aB03、3aB04	◎
松木吏弓	北海道大・理・植物	3aB11	○
松崎敏明	日本たばこ・たばこ中研	1pF10	
松崎日出海	基生研		○
松下耕三	九州大・理・生物		○
松下　正	高エネルギー研	2aD13	
松田　学	富山大・理・生物	2aB05	○
松永　茂	富山大・理・生物	2pE06	○
松野隆一	京都大・農・食工	1aA12、2aE02	

氏　名	所　属	講演番号	備考
松原　央	大阪大・理・生物	2aB01、3aE03	◎
松村　健	北海道グリーンバイオ研	2pA04	
松村智裕	大阪大・蛋白研		○
松元　哲	農水省・野菜茶試	2pB05	
松本英明	岡山大・資生研	1aC05、1aC06、1aC07、1aC08	◎
		3aF10	
松本秀樹	岡山大・理・生物	2aD03	
間藤　徹	京都大・農・農化	2pG08	
真鍋勝司	横浜市大・文理・生物	2aE01	
真野純一	京都大・食研	2pD03、3aD13	◎
豆塚弘毅	岡山大・資生研	1aC07	○
丸田一成	農水省・生物研	2pA03	
丸田嘉幸	名古屋大・農・生化学制御	1aF09	

み

米　華玲	京都大・食研	3pD02	◎
三上浩司	基生研・発生生物	3aB06	○
三木陽介	関西学院大・理・化学	1pD05	○
三沢宏之	埼玉大・理・生化	2aG12	
水上孝子	キシダ化学・研究開発	3pD04	
水上史之	富山大・理・生物	3aE07	
水澤直樹	筑波大・生物	2pD04	○
水田　俊	高知大・理・生物	S1pA4	○
水谷純也	新技団・水谷植物情報物質	1pG01	
水野暁子	日本福祉大・女子短大	3aC07	◎
水野孝一	大阪大・理・生物	2pF07、2pF08	○
溝口　剛	筑波大・生物	1aA09、3aB05	○
三田　悟	名古屋大・農・生化	1pB04	○
三ッ井敏明	新潟大・農・農化	3aE06、3pE04	○
光原一朗	農水省・生物研	1aB05	
三堀　忍	東京理科大・理工・応生	2aE01	
三森クリスチーナ	北海道大・農・植物	2pB01、2pB02	○
南　栄一	農水省・農環研	1aG10	◎
南川隆雄	東京都立大・理・生物	3pA04、3pA05、3pA06、3pA07	○
南森隆司	神戸大・農		○
峯　利喜	大阪大・産研	2pB03	○
峰雪芳宣	広島大・理・植物	S1pA3、2pF01、2pF02	◎
三野広幸	関西学院大・理	2aD14	○
三橋秀一	東京大・農・農化	1aC02	

氏　名	所　属	講演番号	備考
三村徹郎	姫路工大・理・生命	3aF13、3aF14	○
三室　守	基生研	1aD12、1pD08、1pD09	◎
宮入祥夫	化学技術研		◎
宮城布明	筑波大・生物	1pE07	○
三宅親弘	京都大・食研	2pC02	◎
宮崎　力	東京理科大・基礎工・生物工	1pB12	
宮地重遠	海洋バイオ研	2pB07	◎
宮本啓史	金沢大・理・生物		◎
宮本健助	大阪府大・総合科学	2pE02、3aC03	○
三好英明	横浜市大・文理・生物	1aB09	○
む			
武藤尚志	東京大・応微研	3aE09、3aE10、3aF12	◎
村井忠司	富山県大・工		◎
村井宣彦	京都大・農・食工	2aE02	
村上　高	農水省・生物研	1aB05	
邨田卓夫	静岡大・農・生物生産	2aC01	
村田孝雄	岩手大・農		○
村田　隆	東京大・教養・生物		◎
村田紀夫	基生研	2aC09、2pD08、3aF04	○
村田善則	甲南大・理・生物	3aD14	
村田芳行	京都大・農・農化	3aG09	○
村山　寛	大阪府大・農・農化	1aE06	○
室伏　旭	東京大・農・農化	1pG10	
め			
飯　哲夫	京都大・理・植物	3aB05	
も			
桃谷英樹	基生研	1pG05	
森　君江	東大・理・植物	1aF05	
森　敏	東京大・農・農化	1aC01、1aC02、1aC03、3aE08 3aG05、3pA02	
森清一郎	鹿児島大・理・生物	1aG05	○
森　仁志	基生研・細胞生物	1aF11、1pF01、2aD01	◎
森　宏樹	岡山大・理・生物	2pD06	○
森　博幸	大阪大・産研	2pB03	
森ケ崎進	富山医薬大・医・生化		◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
森川弘道	広島大・理・植物	1aB07、1aB08、1pE08、1pE09 2aB08、3pA06、3pA07	◎
森口卓哉	農水省・果樹試	2pG01	
森田重人	京都大・理・植物		○
森田卓也	新潟大・農・応用生化	3pE04	
森脇奈樹	福山大・工・生物工学	1aB01	
両角進吾	静岡大・農・生物生産	1pG06	
や			
八重澤貴志	東理京科大・基礎工・生物工	1pB12	
矢倉公隆	金沢大・教育・生物		○
矢崎芳明	農水省・生物研	1pF07、2pC09、3aF13	○
安原裕紀	大阪大・理・生物	2pF04	○
柳沢修一	大阪市大・理・生物	S3aA5	
柳沢裕子	千葉大・園芸	1pG07	
矢野　明	東京大・応微研	2pA08	○
矢野能弘	東京工大・生命理工・生命理	3pD06	
薮　宏典	広島大・理・植物	1pB16	○
矢部　勇	東京大・応微研	3aF12	
山内大輔	東京都立大・理・生物	3pA04、3pA05、3pA06、3pA07	○
山木昭平	名古屋大・農・園芸	2aG11、3aF08	◎
山岸和敏	北海道大・農・植物	2pB01、2pB02	○
山岸なおみ	名古屋大・農・生化学制御	1pG08	○
山岸真澄	石川県農短大・農業資源研		○
山口和男	金沢大・遺伝子		◎
山口勝司	基生研・細胞生物	1pF01	○
山口淳二	名古屋大・農・生化学制御	2pA01	
山口雄記	名古屋大・農・生化学制御	1aB06	○
山崎健一	名古屋大・農・生化学制御	1aB06、1pG08	◎
山崎拓也	新潟大・農・農化	1pE04	
山崎秀雄	琉球大・理・生物	2pC06	
山下耕生	岡山大・資生研	3aF10	○
山下仁平	大阪大・RI 総合研		○
山下　巍	筑波大・生物	2pD04	◎
山下稔哉	広島大・理・植物	1aB08	
山下博史	東京大・理・植物	3aB02	◎
山下正兼	基生研・生殖	2pF01	
山田恭司	富山大・理・生物	2aB04、2aB05、2aB12	○
山田　隆	広島大・工・醗酵	1aG01、1aG02、1pB15	○

氏　名	所　属	講 演 番 号	備考
山田哲治	岡山大・農	1aG07、1aG08	
山田晃弘	北海道東海大・工・生物工	1pC01	◎
山田康之	京都大・農・農化	1pC08、2pB06	
山中健生	東京工大・生命理工・生命理	3pD05、3pD06	◎
山西弘恭	農水省・食総研	3aF07	○
山根久和	東京大・農・農化	1pG10、2aE08	
山村庄亮	慶応大・理工・化学	1pG01	
山本　勇	広島大・理・植物	1pB16、2aC08	
山本和生	金沢大・理・生物	1pC11	
山本興太朗	北海道大・理・植物	2aE03、3aC10	◎
山本純子	東京都立大・理・生物	3pA07	○
山本直樹	農水省・森林総研	2aB05、2aB10	◎
山本　宏	大阪府大・農・農化		○
山本光章	千葉大・園芸	1pG07	◎
山本　泰	岡山大・理・生物	2aD01、2pD06	◎
山本由弥子	岡山大・理・生物	2aD05、2aD06	○
山本洋子	岡山大・資生研	1aC05、1aC06、1aC07、1aC08	◎
		3aF10	
山本好和	日本ペイント（株）・中研	3pD05	
山本良一	帝塚山短大		◎
山谷知行	東北大・農・応用生化	3aG04	○
山脇和樹	静岡大・農・生物生産	2aC01	○
ゆ			
湯浅高志	東京大・応微研	3aE09、3aE10	○
よ			
楊　志慶	熊本大・理・生物科学	3pE03	○
横井崇秀	大阪大・理・生物	2pF03	○
横井裕美	京都府大・農・農化	2aC12	
横井史章	名古屋大・遺伝子	1pB08	
横石孝治	佐賀大・農	1pC09	○
横柿修一	静岡県大・薬・放射薬品	1pC04	
横田明穂	大阪府大・農・農化	1aE03、1aE04、1aE05、1aE06	◎
		1aE07、1aE08	
横田悦雄	姫路工大・理・生命	S1pA5、2pF09、3aF13	◎
横田幹朗	広島大・総科・自然環境	2pG06	
横山隆亮	北海道大・理・植物	3aB10、3aB12	○
吉岡俊人	東北大・教養・生物		○

氏　名	所　属	講演番号	備考
吉岡博人	農水省・果樹試	2pG01	
吉川　清	大阪成人病センター・麻酔	3aG07	
吉川博道	九州共立大・工		○
吉崎文則	東邦大・理・生物		○
吉田　泉	大阪市大・理・生物	3aG03	○
吉田和市	京都大・農・農生	2aE02、2pE04	○
吉田和哉	大阪大・工・応生	3pB01	
吉田茂男	理研	1pG02	◎
吉田静夫	北海道大・低温研	2aC03	◎
吉田敏臣	大阪大・工・生物工学国際交流	3pE06	
吉田　豊	早稲田大・教育・生物	1aD08	
吉橋　学	京都大・農・農化	3aG09	○
吉原經太郎	分子研	3aD07	
輿志平　尚	富山大・理・生物	3aE07	○
吉村　庸	高知学園短大	3pD05	
吉村和久	九州大・教養・化学	2pC06	
吉村政典	上智大・理工・化学	2pF10	○
吉元　誠	九州大・農・食化工	2aC04、2aC05	◎
米倉博子	PL学園女短大・植物研	1pC03	
頼藤撤也	東京大・教養・生物	1pF12	◎
り			
力石早苗	岡山大・資生研	1aC06	
劉　岩	東北大・教養	1pE05	
わ			
若林和幸	大阪市大・理・生物	2aG02、2aG08	◎
若松國光	福岡女大・生物	2aC07	◎
和田　明	京都大・理・植物	1aF06	
和田敬四郎	金沢大・理・生物	1pC11、3aD11	◎
和田拓治	京都大大学院・人間環境	2aB11	
和田　元	基生研	3aF04	
和田雅人	筑波大・生物	2pA03、3aF09	○
和田正徳	鳥取大・工・物質工	3pD07	
和田正三	東京都立大・理・生物	2aE06	
和田　裕	福山大・工・生物工学	1aB01	
和田　洋	東京大・教養・生物	1pF05	◎
渡辺明夫	名古屋大・農・生化学制御		○
渡辺　昭	名古屋大・農・生化学制御	1aF09	◎

氏　名	所　属	講演番号	備考
渡辺　正	東京大・生産研	2pD08	
渡辺智治	福山大・工・生物工学	2pB08	
渡辺正勝	基生研	2aE04、2pE05、2pE06	
渡辺泰堂	関西学院大・理・化学	1pD05	
渡辺　良	静岡大・農・生物生産	2aC01	
和田野晃	大阪府大・農・農化	1aE01、1aE02、1aE06	◎
渡部信義			◎

日本植物生理学会1993年度年会委員長

金沢大学理学部　和田敬四郎

日本植物生理学会1993年度年会準備委員会

金沢大学理学部	和田敬四郎
	玉井　直人
	星名　哲
	真田　幸香

日本植物生理学会1993年度年会プログラム委員会

大阪市立大学植物園	飯野　盛利
富山大学理学部	井上　弘
大阪大学理学部	大岡　宏造
大阪市立大学理学部	神阪盛一郎
京都大学農学部	佐藤　文彦
富山大学理学部	菅井　道三
京都大学農学部	関谷　次郎
大阪大学理学部	園部　誠次
福井工業大学	田沢　仁
金沢大学理学部	玉井　直人
金沢大学理学部	星名　哲
金沢大学遺伝子実験施設	山口　和男
富山大学理学部	山田　恭司
金沢大学理学部	和田敬四郎

日本植物生理学会1993年度年会および
第33回シンポジウム講演要旨集

発行日：1993年3月25日
発行者：日本植物生理学会1993年度年会準備委員会
〒920－11　金沢市角間町　金沢大学理学部
印刷所：中西印刷（株）　〒602　京都市上京区下立売通小川東入

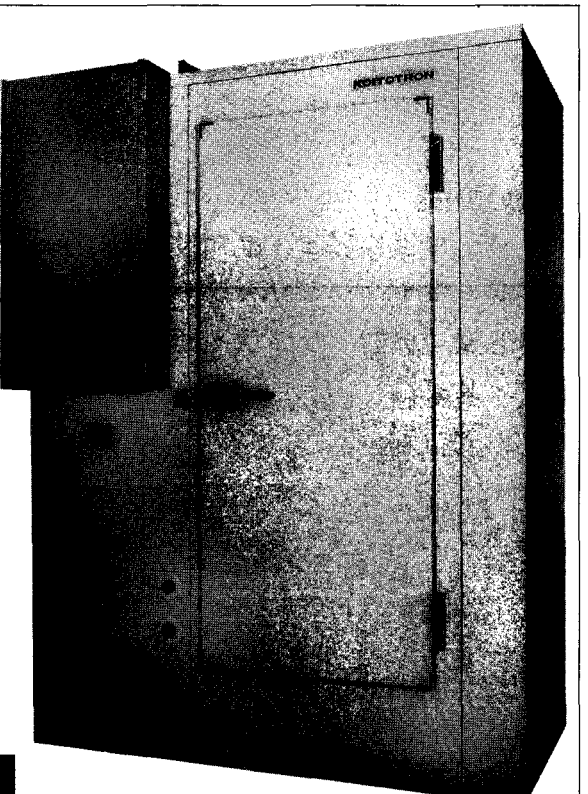
日本植物生理学会1993年度年会の開催にあたり，多くの企業，団体等から広告掲載，展示，寄付等の御援助を頂きました。大変ありがとうございました。ここにお名前を掲載させていただき，感謝申し上げます。（３月７日現在，順不同）

日本植物生理学会1993年度年会準備委員会

石川県
金沢市
片岡薬品株式会社
小糸工業株式会社
医理化機器株式会社
株式会社　トミー精工
豊饒書館
株式会社　ジム
宝酒造株式会社
株式会社　ニュートリノ
木村科学器械株式会社
株式会社　勝木太郎助商店
中西印刷株式会社
和光純薬工業株式会社
エムエス機器株式会社
アプライド バイオシステムズ ジャパン株式会社
日本バイエル アグロケム株式会社
株式会社　サカタのタネ
北斗科学産業株式会

KOITO
安全と快適を求めて

高性能 多機能 低廉



●ムラのない的確な温度制御が可能です。
●制御状況が見やすく操作は容易です。
●設置スペースが小さくてすみます。

人工光形 グロースキャビネット
コイトトロン・KG-50シリーズ

実験室内寸法(mm)1,200(W)×815(D)×1,840(H)

小糸工業株式会社

東京本部　〒108 東京都港区高輪台3-5-23(日生高輪台ビル) ☎03(3443)9846
札　幌 011(722)5211　仙　台 022(225)7501　大　阪 06(263)6371
九　州 092(431)0838　筑　波 0298(51)2311　沖　縄 098(861)1805

－創る－

Kimura 木村科学器械株式会社
〒920 金沢市石引4丁目2番12号 TEL (0762) 62－5331㈹
FAX (0762) 62－1318

取扱い製品
パーソナルコンピュータ（NEC・Apple・東芝）
複写機・ファクシミリ・ワードプロセッサ
その他周辺機器・サプライ商品
オフィス家具

オフィス空間を創造する
jim 株式会社ジム
〒921 石川県金沢市西金沢3丁目1番地4
TEL (0762)49-7444㈹ FAX (0762)49-7288

HITACHI

himac CP-α・βシリーズ NEW

日立高機能分離用超遠心機

パーソナル・ラインナップ ときめく「性能」

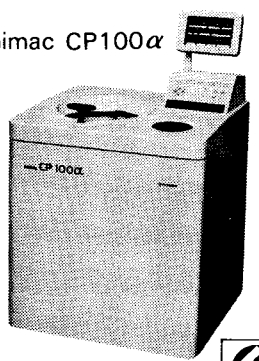
世界最高回転数…100,000rpm
世界最大遠心加速度…800,000×g

CP-αシリーズ 豊富な機能を備えたハイパフォーマンスモデル。

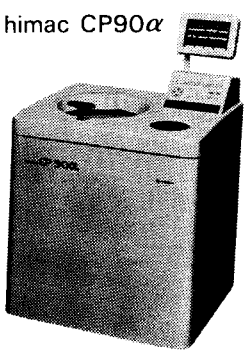
特　長

- ●地球にやさしいフロンレス
- ●周りにやさしい静かな運転音
- ●分析者にやさしい目分量バランス
- ●管理者にやさしいロータ自動寿命管理
- ●オペレータにやさしいログブックレス
- ●初心者にやさしいシミュレーションシステム

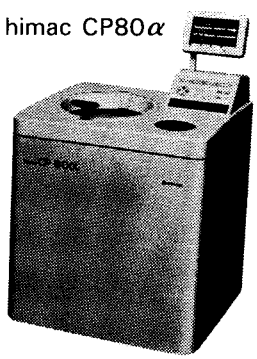
himac CP100α



himac CP90α



himac CP80α



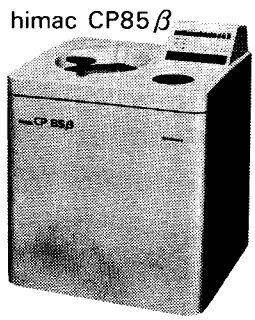
1992年度　機械工業デザイン賞
日本機械デザインセンター賞受賞!!

CP-βシリーズ シンプルなスタンダードモデル。

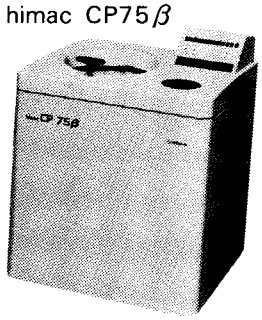
特　長

- ●地球にやさしいフロンレス
- ●周りにやさしい静かな運転音
- ●分析者にやさしい目分量バランス

himac CP85β



himac CP75β



himac CP65β

■仕様

項目＼形名	CP 100α	CP 90α	CP 80α	CP 85β	CP 75β	CP 65β
最高回転数（rpm）	100,000	90,000	80,000	85,000	75,000	65,000
最大遠心加速度（×g）	800,000	700,000	553,000	620,000	505,000	435,000
標準小売価格（円）	12,000,000	11,300,000	10,700,000	9,900,000	9,100,000	8,400,000

注1.）掲載の価格には消費税は含まれておりません。別途申し受けますのでよろしくお願い申し上げます。
注2.）掲載の価格は本体価格です。ロータ、アクセサリー等は含まれておりません。

特約店

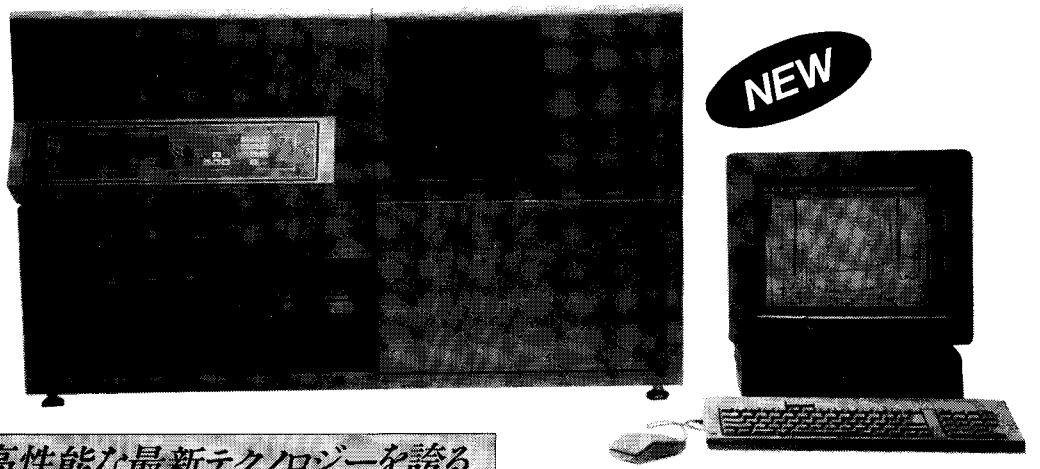
株式会社 勝木太郎助商店

本　　社／〒923　小松市寺町76　TEL 0761(22)6288㈹　FAX 0761(22)6289
小松営業所／〒923　小松市本町2丁目1ノ16　TEL 0761(22)6288㈹　FAX 0761(22)6289
金沢営業所／〒920　金沢市長土塀1丁目1ノ15　TEL 0762(62)5451㈹　FAX 0762(62)5452
富山営業所／〒930　富山市田刈屋町28　TEL 0764(31)8676㈹　FAX 0764(32)9276

未知の領域を拓く最先端技術のABI

PROTEIN/PEPTIDE

Model 476A
プロテイン シーケンサ

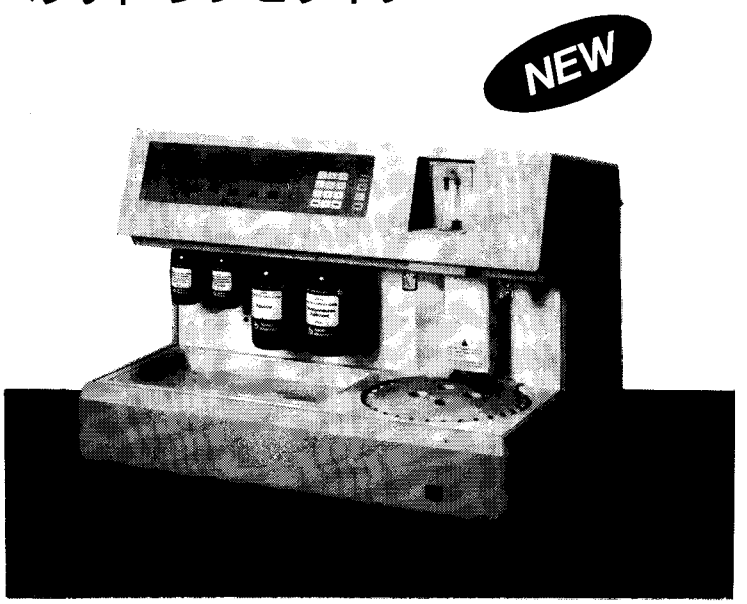


高性能な最新テクノロジーを誇る

■新しいテクノロジーを用いた最新の装置で、高効率かつ高速性を高めながら、操作性の簡易さを誇ります。
■パルスドリキッド法およびガスフェーズ法の両者を自由に組み合わせたエドマン反応を行うことができます。
■データ解析は、Macintosh™コンピュータによる多様な情報を高速で処理。

PROTEIN/PEPTIDE

Model 432A SYNERGY™
ペプチド シンセサイザ



ちいさなボディと
優しい操作性

■高反応効率、反応時間の短い最新FastMoc™ケミストリー専用。
■スタートレジンは、既に封入ずみのカラム方式。
■スタート時にはカラムを取り付け、そのまますぐ合成開始。
■小さなボディと、初めての人にも優しい操作性。
■0.025mmolスケールで、低いランニングコストを実現。

Applied Biosystems

アプライド バイオシステムズ ジャパン株式会社

東京●〒136 東京都江東区南砂3−3−6 ☎03(3699)0700/FAX03(3699)0733
大阪●〒564 大阪府吹田市豊津町13−18 ☎06 (389)1201/FAX06 (389)1206
福岡●〒812 福岡県福岡市東区馬出2-1-7 ☎092(641)2510/FAX092(641)0886

Applied Biosystems　アプライド バイオシステムズ ジャパン株式会社

御注文は、北斗科学産業株式会社へ

TaKaRa BIOMEDICALS

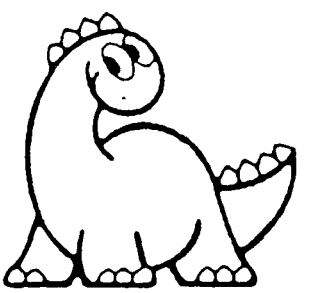
宝酒造株式会社

東京事務所 バイオ販売課　TEL.03-3271-8553　大阪支店 バイオ販売課　TEL.06-374-1685

からだの生化学　田川邦夫（大阪大学医学部教授）著

本書はヒトの運動生理や健康上あるいは栄養学上の現実的な問題が、生化学でどのように説明されるかについて興味を抱いている人や生化学を習ったり自分で学習しているが、抽象的であまり理解できないと思っている人のための書物である。理解しやすいよう220余りの図表を掲載した。

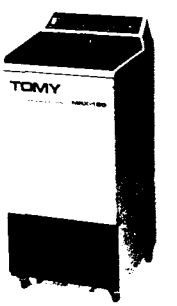
エムエス機器株式会社



■東　京　〒112 東京都文京区春日1丁目10番1号　TEL(03)3816-6541(代)　FAX(03)3813-3306
■大　阪　〒532 大阪市淀川区三国本町2丁目12番4号　TEL(06) 396-0501(代)　FAX(06) 395-2588
■福　岡　〒812 福岡市東区馬出1丁目2番21号　TEL(092)631-1012(代)　FAX(092)641-1285

株式会社・トミー精工

本社 東京　東京都練馬区旭町2－2－12　〒179
TEL (03) 3976－3111　FAX (03) 3930－7010



北斗科学産業株式会社

本　社　〒930　富山市田刈屋298－18　TEL (0764) 41－2367
金沢営業所　〒920　石川県金沢市大手町11－31　TEL (0762) 23－7741
大阪営業所　〒595　大阪府泉大津市汐見町21－33　TEL (06) 446－6016