# 日本植物生理学会1994年度年会
# および
# 第34回シンポジウム

# 講演要旨集

1994年3月28日（月）～3月30日（水）
筑波大学　第二学群棟

日本植物生理学会

Wako

ニッポンジーン遺伝子工学研究用試薬

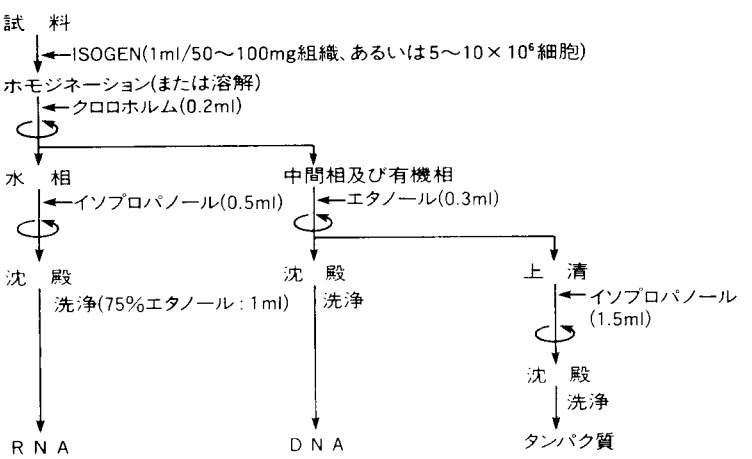
総RNA単離試薬

# ISOGEN（アイソジェン）

## 同一試料からDNA、タンパク質の単離も可能

●フェノールとチオシアン酸グアニジンを主成分とした均一溶液
●組織・培養細胞・細菌から総RNAを単離
（血液・血清からのRNA単離には別タイプがあります。お問い合わせ下さい。）
●一連の操作でDNA、タンパク質の単離も可能
●簡単、迅速（RNA単離時間約1時間）
（DNA：＋2時間、タンパク質：＋2.5時間）
●回収効率が高い

■プロトコル




■総RNAの収量

| 試料 | | 収量(μg RNA/mg tissue or μg RNA/10⁶ cells) |
|---|---|---|
| 組織 | liver | 6～10 |
| | spleen | 6～10 |
| | kidney | 3～ 4 |
| | skeletal muscles | 1～ 1.5 |
| | brain | 1～ 1.5 |
| | placenta | 1～ 4 |
| 培養細胞 | epithelial | 8～15 |
| | fibroblasts | 5～ 7 |

| | | |
|---|---|---|
| 311-02501 | ISOGEN | 100mℓ |

＊資料をご請求下さい。

販売

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

製造

株式会社 ニッポンジーン

〒930 富山市問屋町1－29
電話 (0764)51－6548
本社　〒160 東京都新宿区若葉1－4

## 英国HANSATECH社製

OXYGEN AND FLUORESCENCE MEASURING SYSTEM

### 光合成酸素・蛍光反応システム

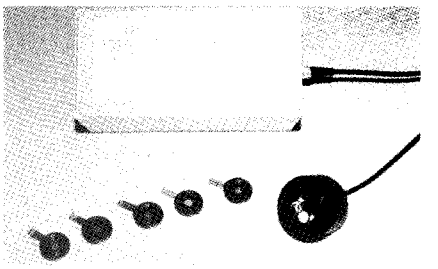
・酸素電極法による光合成の測定
・液相、ガス相型酸素電極
・蛍光と酸素の同時測定が可能
・最大光合成、暗呼吸の測定

PEA PLANT EFFICIENCY ANALYSER

### クロロフィル蛍光反応測定器

蛍光測定に必要なFo,Fv,Fm,Fv/Fmを計算して表示。
1回の測定で立ち上がりから、高分解能でカウッキー効果のグラフ表示可能。 野外携帯型、暗処理クリップ付

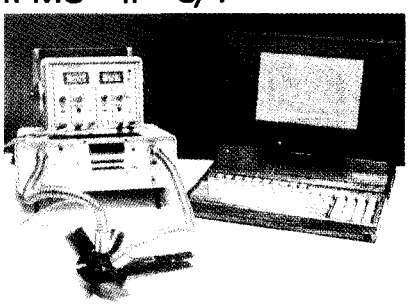
用途 ・環境ストレスの診断・環境耐性の研究
・光合成能力低下の初期段階での検知



## 英国HANSATECH社製

MODULATED FLUORESCENCE SYSTEM

### 変調蛍光測定システム MFMS・II・S/T

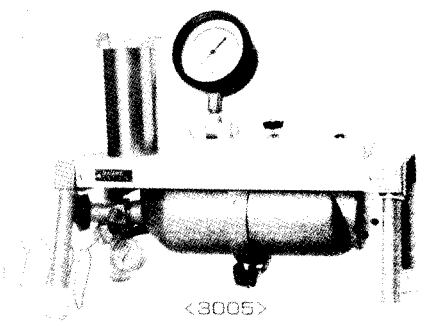


・暗処理の必要なく、
迅速に環境ストレス診断やPS IIのQの状態を推定できます。
・酸素電極に接続し、同時測定も可能です。
・飽和パルス光によるQの酸化動態測定
・P700の測定 ・野外携帯型

## 米国SOILMOISTURE社製

PLANT WATER STATUS CONSOLE

### 圧力式水ポテンシャル測定器



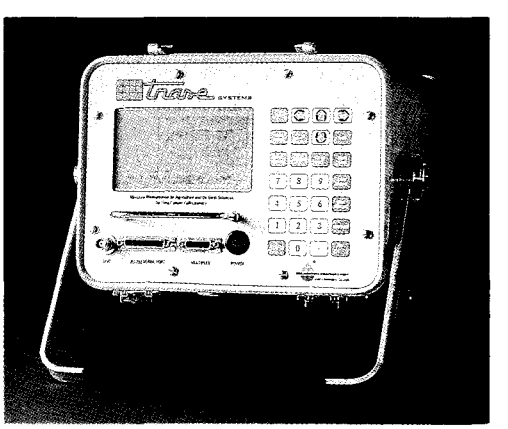

本器は、小型高圧タンク付で、携帯用に設計されており、研究室から屋外まで使用できます。
40BAR,80BARの2種類があり、セットアップも簡単。
他に土壌用水ポテンシャル測定器もあります。

## 米国SOILMOISTURE社製

### 土壌水分計 TRASEシステム

TDR(Time Domain Reflectometry)法による土壌水分計です。
TRASEは、中性子方式の様な放射能に基づく機器装備を使用していないので人体に安全な装置です。
さらに中性子法では難しい自動記録機能があります。
TRASEは,ケーブルテスター、デジタルTDRオシロスコープとデータロガーの優れた点を組み合わせて独自の弾力性の高い水分測定システムを作り上げています。

仕様
電源：バッテリー仕様又は18～24VDC/VAC
パルス(測定)起動時間：200ピコ秒
データ転送ポート：DB25 RS-232C
マルチプレックスポート：DB15
測定範囲：0-100% 容積水分率
精度：2%またはそれ以上
自動記録の読み取り間隔 最小1分、最大1月

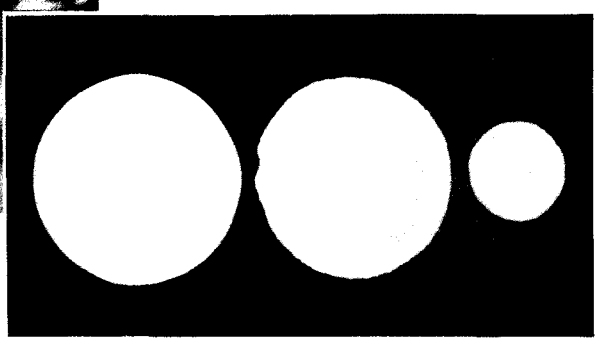



日本総代理店
旭光通商株式会社
〒106 東京都港区東麻布1-5-2 飯倉ビル4F
TEL：03-3586-5251 FAX：03-3589-5992

ビデオ

# 細胞融合から生まれた新しい果樹 オレタチ

「オレタチ」は細胞融合という新しい技術によって作られた、世界で初めての新しい果樹です。オレンジの細胞とカラタチの細胞とをバイオテクノロジーによって一つの細胞にして生まれた植物です。この技術により、ミカン科植物の育種に新たな道が開かれました。



制　作　凸版印刷株式会社・株式会社トータルメディア開発研究所・株式会社プランニングアンドプロダクション
監　修　東京大学　応用微生物研究所　内宮博文教授
企画・販売　キッコーマン株式会社
研究本部研究推進室　〒278 千葉県野田市野田399 TEL.(0471)23-5517
広報部　〒101 東京都千代田区神田錦町1-25 TEL.(03)3233-5511
定　価　4,500円

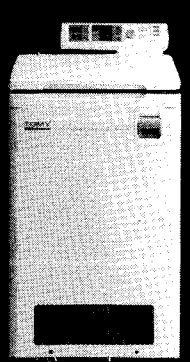
KIKKOman

---

新製品

TOMY

のせれば、わかる…



小型高速冷却遠心機

# SRX-200

HIGH SPEED REFRIGERATED CENTRIFUGE

ローター自動識別システム

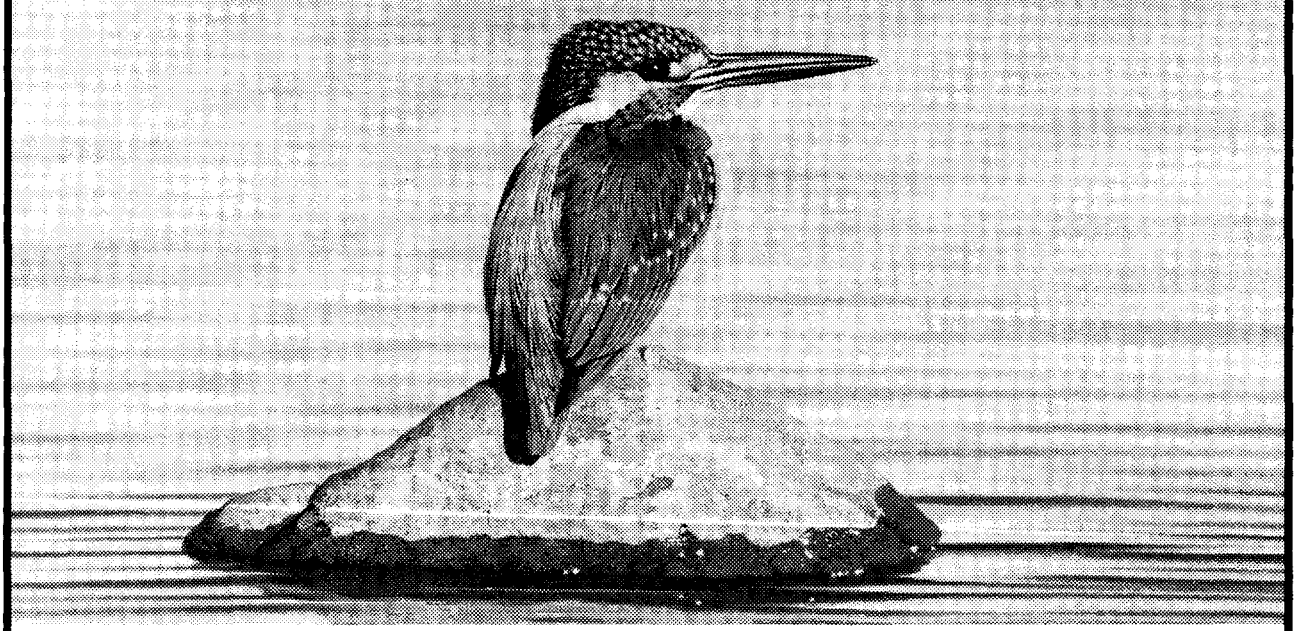
ローターをセットしただけで最高回転数を表示、これを超える設定を自動的に回避し、優れた安全性と操作性を確立。

20,000rpm・44,280G・250mℓ×6本

株式会社トミー精工　本社/東京都練馬区旭町2-2-12　TEL 03(3976)3111　札幌・仙台・つくば・神奈川・大阪・名古屋・福岡・U.S.A.

# Agri-Future 未来農業をめざして。

日産化学は、環境との調和を考え、安全でより効果の高い農薬の研究・開発を続けています。



**日産化学工業株式会社 農薬事業部**

〒100 東京都千代田区神田錦町3-7-1（興和一一橋ビル）



隔月刊

# 植物細胞工学

Plant Cell Technology

植物細胞工学は奇数月10日発売です
定価1,236 円　送料260円

**3月号** (Vol.6 No.2) *発売中*

**特集◎有用物質を作り出す植物**

監修：三川　潮

1. 非糖系甘味物質を含む植物　田中　治（元広島大）
2. 天然食品添加物を含む植物
   合田幸広（国立衛生試験所）
3. 高等植物より得られる抗腫瘍活性物質
   糸川秀治（東京薬科大）
   渋谷雅明（東大薬）
4. 薬用植物成分と医薬品開発　三川　潮（東大薬）

**5月号** (Vol.6 No.3) *5月10日発刊予定*

**特集◎機能解析の進むアラビドプシス遺伝子**（仮題）　監修代表：篠崎一雄

1. 突然変異体を用いた機能遺伝子の単離法
   大隅照子（三井業際植物バイオ研）
   米田好文（東大遺伝子実験施設）
2. 環境応答とシグナル伝達
   松井　南（Yale Univ.）
   篠崎和子（熱帯農業研究センター）
3. 形態形成と細胞分化　後藤弘爾（東大遺伝子実験施設）
   岡田清孝（基礎生物学研究所）

**新刊** **環境問題と植物バイオテクノロジー** *植物細胞工学 別冊*

ー環境ストレス耐性機構と植物改変ー

監修：山田康之（京大農）　3月発行　150頁　予価2,800円

1. 砂漠化防止対策：耐塩性，耐乾燥性，耐低温性
2. 大気汚染防止対策：大気汚染ガス耐性の改変と利用
3. 地球温暖化防止対策：炭酸固定能の改良と利用

**秀潤社**

〒108　東京都港区白金台3-19-1（第31興和ビル6F）
TEL.03-3440-6371（代表）　FAX.03-3444-4092　振替 東京3-7875

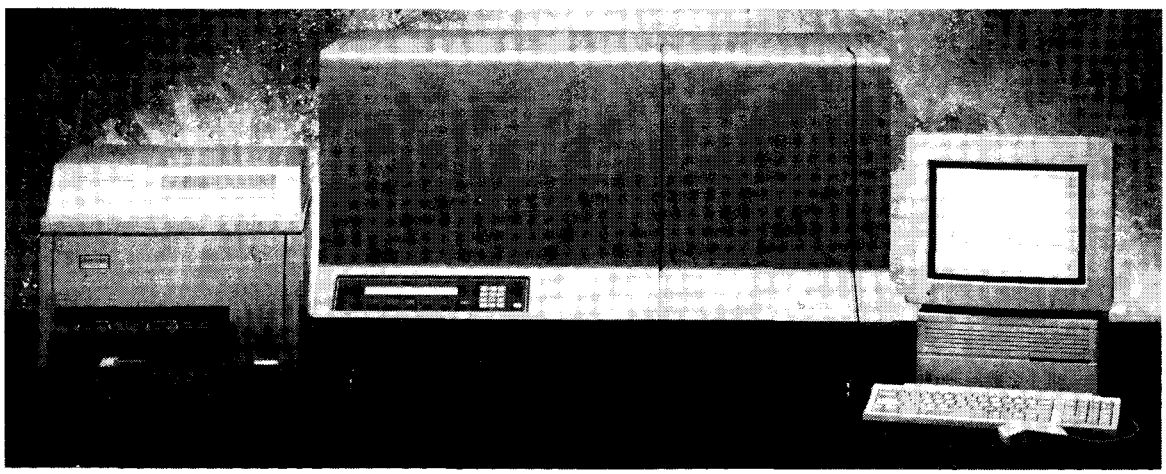
## 未知の領域を拓く最先端技術

*さらに進化した——*

# Model 373A-36
## DNAシーケンサ

NEW

■RIを用いない蛍光ラベル方式(ダイデオキシ法)。
■1レーンに1サンプルロード、最大36サンプルまで同時解析。
■14時間で450baseを平均98.5%の読み取り精度で解析。
■新たに開発したソフトウェア"Base Sprinter™"により、18サンプルを同時に、6時間30分で450baseを平均98.5%の読み取り精度で解析。
■新開発のSequenase™ Dye-Terminator 法をはじめ、豊富なアプリケーションにより、いかなるDNAシーケンシング戦略にも対応。
■GENESCANソフトウェアとの組み合せによりDNAフラグメントのサイズ決定および定量が可能。
■新技術、"可変Well-to-Read"……3通りの長さのゲルを使用可能にし、DNAフラグメントの種々の解析条件に対応します。

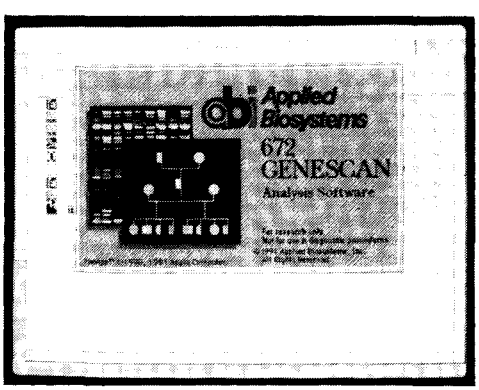


*373A-36との強力な組み合せ——*

# Model 672 GENESCANソフトウェア
## DNAフラグメント解析ソフトウェア

■Model 373A-36 DNAシーケンサと組み合わせることにより、DNAフラグメントの定量およびサイズの決定が可能。
■内部レーンスタンダードを用いた多色蛍光アプローチにより、レーン間の移動度誤差を考慮する必要のない正確なサイズ決定が可能。
■4色蛍光ラベル法により，1枚のゲルで多数の遺伝子座(loci)を分析可能とし、最大108サンプルを同時分析。
■373A-36とその新機能"可変Well-to-Read"、3種類(24cm、12cm、および6cm)の泳動距離の選択により、RAPDマッピング、マイクロサテライトまたはVNTRs等の高精度な分析が可能。

※Sequenase™はUnited Biochemical社の商標です。




※本社は'93年7月より下記住所へ移転しました。カタログ・資料等のご請求は新住所へお願いします。

Applied Biosystems
A Division of Perkin-Elmer Corporation

アプライドバイオシステムズ ジャパン株式会社
本　社●〒279 千葉県浦安市美浜1－9－2 ☎0473(80)8500/FAX 0473(80)8505
名古屋●〒464 愛知県名古屋市千種区池下町2-15 ☎052(764)1201/FAX 052(764)1202
大　阪●〒564 大阪府吹田市豊津町13－18 ☎06 (389)1201/FAX 06 (389)1206
福　岡●〒812 福岡県福岡市東区馬出2-1-7 ☎092(641)2510/FAX 092(641)0886

# 日本植物生理学会1994年度年会

お　よ　び

## 第34回シンポジウム

### シンポジウム

Ⅰ．　環境問題と植物生理学

Ⅱ．　高等植物遺伝子の機能解析研究の展開
——変異体，遺伝子，ゲノムからのアプローチ——

Ⅲ．　細胞壁機能の分子機構

Ⅳ．　植物における信号の受容と伝達

**会期：1994年3月28日（月）～3月30日（水）**

**会場：筑波大学　第二学群棟**

（つくば市）

日本植物生理学会

# 交 通 の 御 案 内

〔年会会場〕

年会会場の筑波大学はJR常磐線上野駅から荒川沖駅（60分）または土浦駅（70分）で下車，両駅からバス（関東鉄道バス）で約40分のところにあります（略図参照）。

○土浦駅―筑波大学：土浦駅西口関鉄バス2番のりば（筑波大学中央行）終点下車または土浦駅東口（筑波北部工業団地行　本数は少ない）筑波大学中央下車，（西口2番のりばから約15分間隔で発車，所要時間約40分，550円），タクシーは筑波大学中央まで25分，約3,500円です。

○荒川沖駅―筑波大学：荒川沖駅東口関鉄バス1番（筑波大学中央行）終点下車（20～30分間隔，約40分，550円）。タクシーは筑波大学中央まで25分，約3,500円です。

○東京駅―高速バス―つくばセンター―筑波大学：東京駅（八重洲南口2番）JR　東日本または関東鉄道の高速バスつくば号でつくばセンターまで65分，つくばセンター―筑波大学中央：センターの関鉄バス1番（筑波大学中央行，大部分は荒川沖駅または土浦駅発）終点下車（約15分，220円）。高速バスつくば号は東京駅6～8時は00，30分，8時以降は00，15，30，45分に出発，料金1,230円（5枚綴り回数券5,100円）。［帰路；つくばセンター発東京行（平日上野駅経由）10～21時は15分間隔，以降21：30（最終）所要時間90～150分］

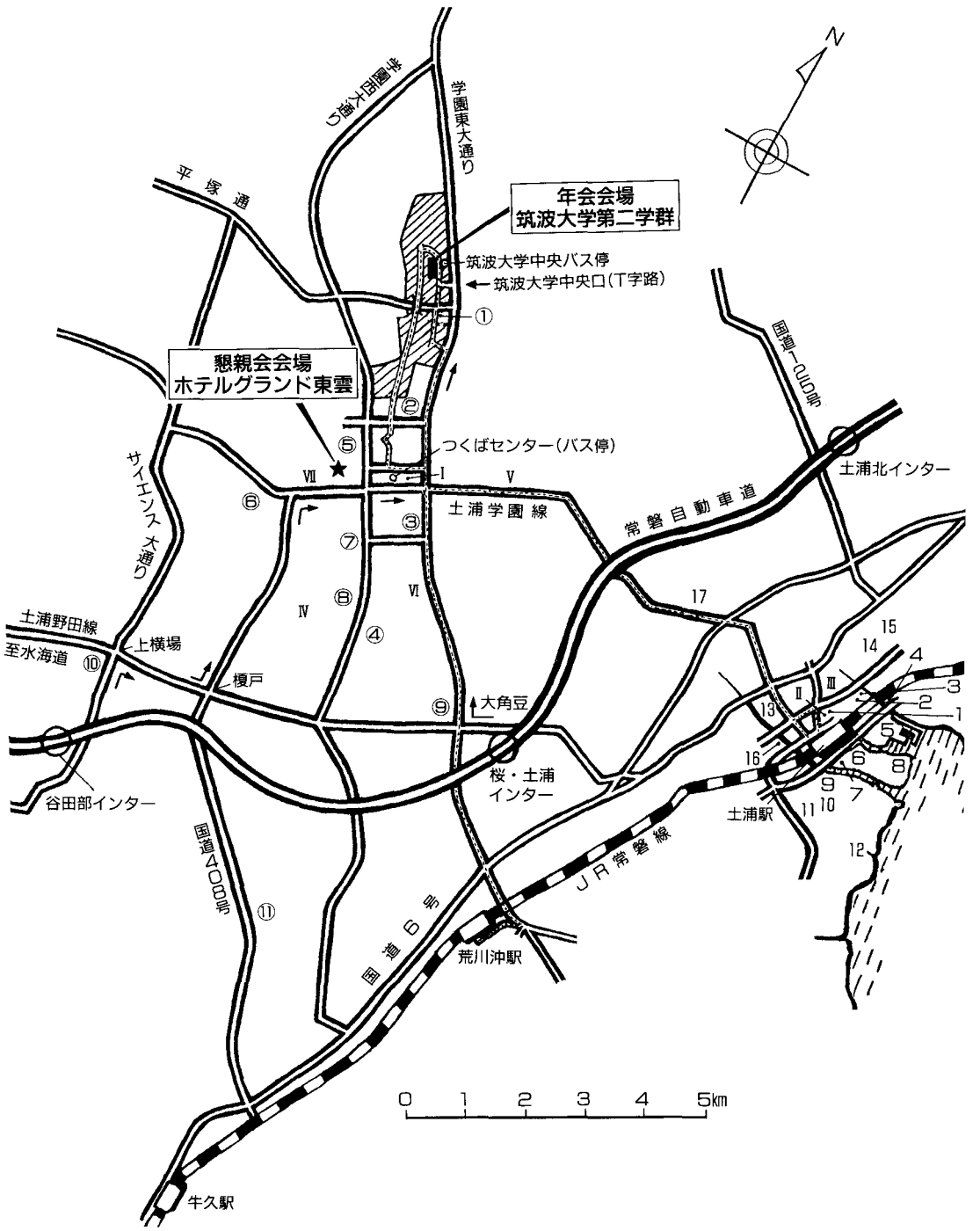
○自家用車利用の場合：常磐自動車道，桜・土浦インターを降り，県道土浦野田線（学園都市方面）に入り，大角豆交差点（2つ目の信号）を右折（もしくは谷田部・学園都市インターを降り，サイエンス大通りに入り，上横場交差点を右折，土浦野田線に入り榎戸交差点で左折，国道408号に入り土浦学園線を経て），学園東大通りに入る。筑波大学グランド口・平塚東交差点を過ぎ，筑波大学中央（T字路，看板あり）で左折し，大学構内に入る。学内地図・案内板に従い北駐車場をご利用下さい（駐車場入口に指定駐車場の表示のある所は利用できません）。

〔懇親会会場〕

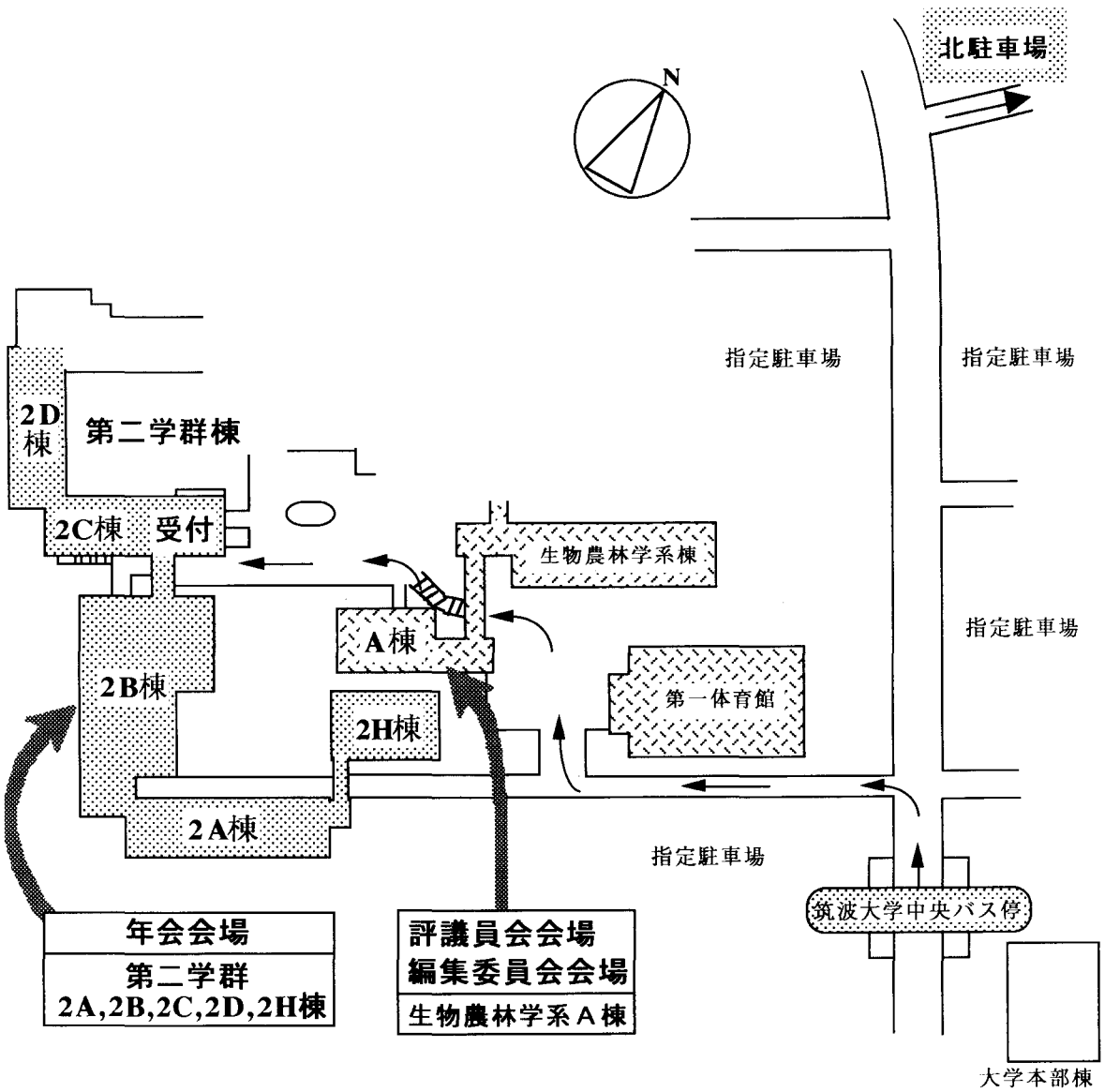
会場のホテルグランド東雲は，つくばセンターバス停留所から徒歩6分です。講演終了後に筑波大学中央バス停留所付近から送迎バスが出発致します。

〔宿泊施設の所在地〕

Ⅰ　筑波第一ホテル
Ⅱ　土浦東武ホテル
Ⅲ　ホテルマロウド筑波
★　ホテルグランド東雲
Ⅳ　ホテルスワ
Ⅴ　ホテルサンルートつくば
Ⅵ　ホテルデイリーイン
Ⅶ　つくばスカイホテル
①　トレモントホテル
②　筑波研修センター
③　ホテルニューたかはし竹園店
④　ビジネスホテルペンション学園
⑤　ビジネスホテル松島
⑥　三愛つくばホテル
⑦　学園桜井ホテル
⑧　旭屋ホテル学園店
⑨　ホテルニュー鷹
⑩　旭屋ホテル本店
⑪　ホテルニューたかはし高野台店
1　ビジネスホテル山崎屋
2　ビジネスホテル浜夕
3　ビジネスホテル東湖
4　ビジネスホテル湖北
5　土浦京成ホテル
6　ホテルアルファ・ザ土浦
7　土浦第一ホテル
8　公立学校共済サンレイク土浦
9　ビジネスホテルトキワ
10　ホテル明建
11　土浦増尾ユースホステル
12　国民宿舎水郷
13　ビジネスホテル小桜館
14　土浦シティホテル
15　ビジネスホテルつくし
16　ホテルあびすや
17　ビジネスホテル和光

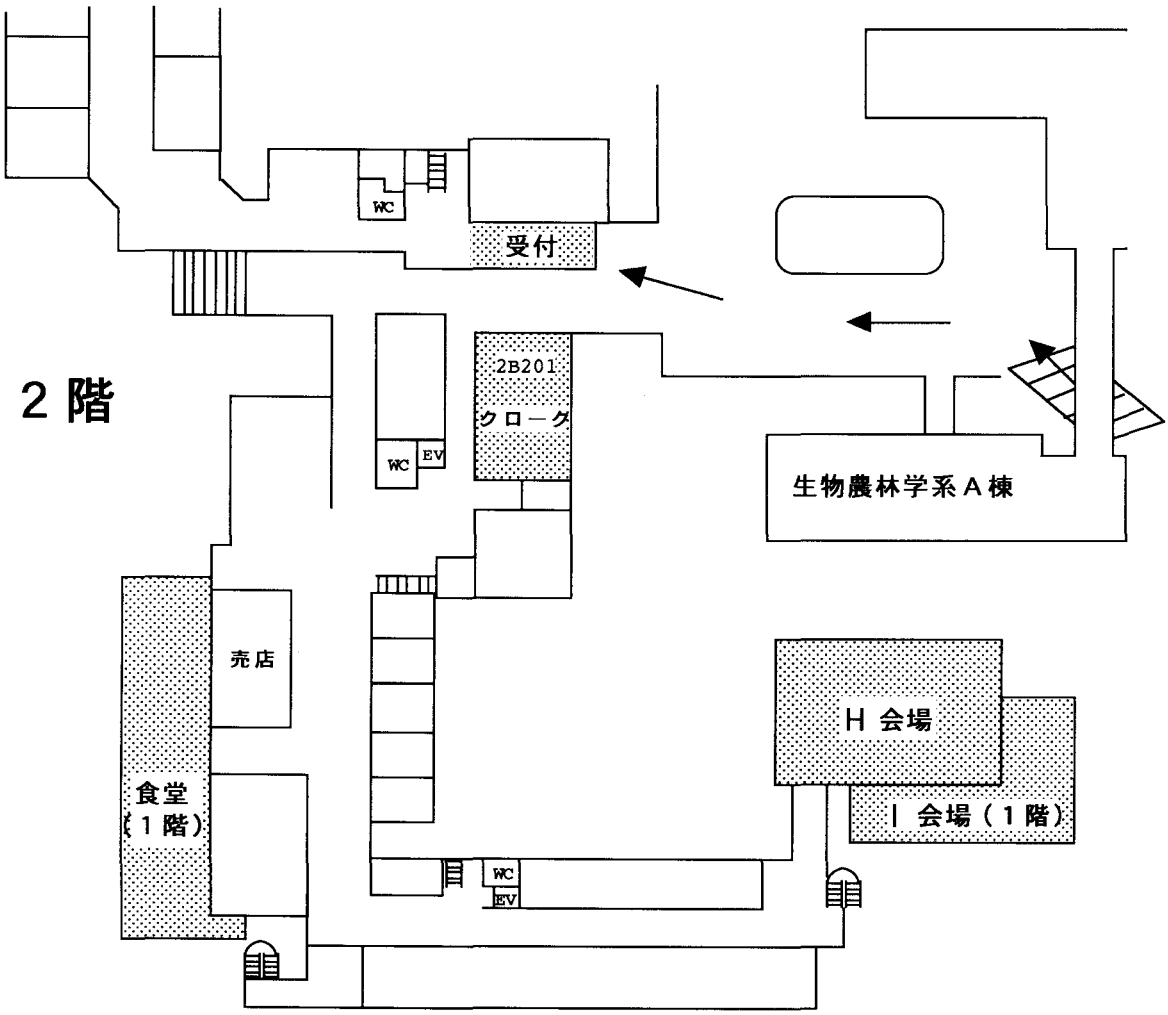

N
学園西大通り
学園東大通り
平塚通
年会会場
筑波大学第二学群
筑波大学中央バス停
←筑波大学中央口(T字路)
①
懇親会会場
ホテルグランド東雲
②
⑤
つくばセンター(バス停)
Ⅶ
Ⅰ
Ⅴ
⑥
③
土浦学園線
⑦
Ⅳ
⑧
Ⅵ
④
サイエンス大通り
土浦野田線
至水海道
⑩
上横場
榎戸
⑨
大角豆
谷田部インター
国道408号
⑪
桜・土浦
インター
国道6号
荒川沖駅
牛久駅
国道125号
土浦北インター
常磐自動車道
17
15
14
4
3
2
1
Ⅱ
Ⅲ
13
5
16
6
8
9
7
11
10
土浦駅
12
JR常磐線
0 1 2 3 4 5km

年 会 会 場 案 内 図


北駐車場
N
指定駐車場
指定駐車場
2D
棟
第二学群棟
2C棟
受付
生物農林学系棟
A棟
指定駐車場
2B棟
2H棟
第一体育館
2A棟
指定駐車場
筑波大学中央バス停
年会会場
第二学群
2A,2B,2C,2D,2H棟
評議員会会場
編集委員会会場
生物農林学系Ａ棟
大学本部棟

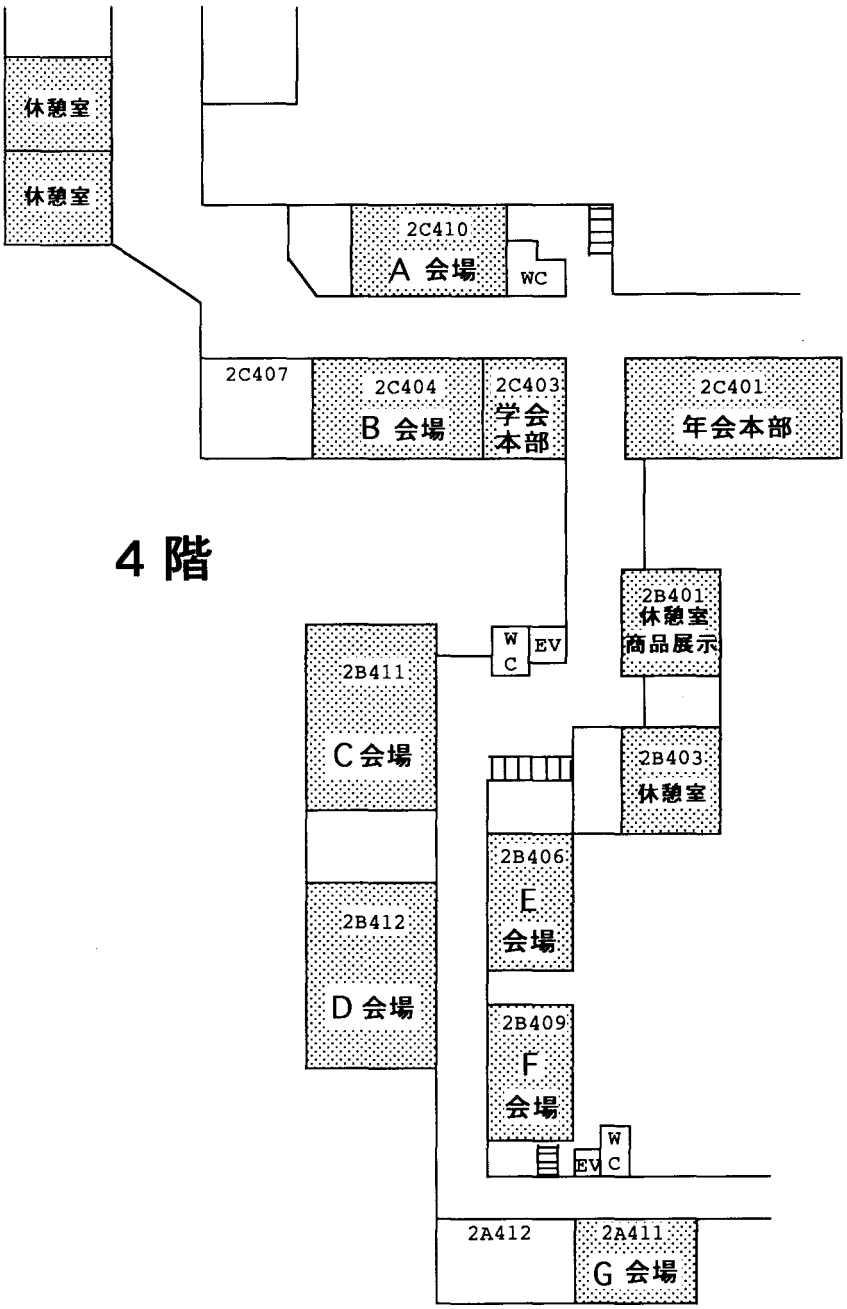
会　場　配　置　図
（2階）

## 第二学群 2A,2B,2C,2D,2H 棟



会　場　配　置　図

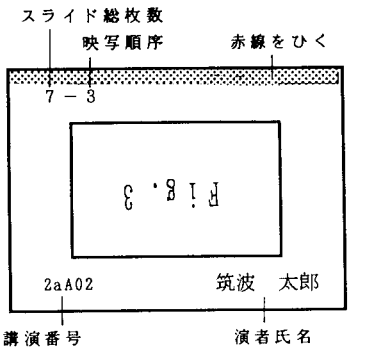
（4階）


休憩室
休憩室
2C410
A 会場
WC
2C407
2C404
B 会場
2C403
学会
本部
2C401
年会本部
4階
2B401
休憩室
商品展示
W
C
EV
2B411
C会場
2B403
休憩室
2B406
E
会場
2B412
D 会場
2B409
F
会場
EV
W
C
2A412
2A411
G 会場

## ◎講演者へのお願い

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

1．一般講演の時間は13分です。時間厳守をお願いします。
2．スライドは会場入口のスライド係に講演30分前までにお渡しください。講演終了後はその日のうちに早めに係からお受け取り下さい。
3．スライドは35ミリに限ります。図のように記号及びマークをお願いします。各会場でプロジェクターは１台しか利用できません。
4．重複して使用するスライドは必ず同じものを必要枚数作り，映写順序に用意して下さい。
5．OHP は準備しません。
6．次に講演する人は必ず「次演者席」に着席願います。
7．一般講演の時間指示は，講演開始後10分で１鈴，13分で２鈴（講演終了），15分で３鈴（討論終了）です。




## ◎参加者へのお願いとお知らせ

1．「受付」で，講演要旨集，名札，懇親会参加券をお受け取りください。
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。
6．２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．昼食は１階の食堂をご利用ください。弁当の販売も食堂にて行います。
8．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：〒305 つくば市天王台1-1-1
筑波大学　生物科学系　植物発生生理学研究室
年会準備委員長　原田　　宏
FAX&TEL: 0298-53-4579

◎関連会議

| | | | |
|---|---|---|---|
| 編集実行委員会 | 3月27日（日）（会期前日） | 16：00～17：00 | 生物農林学系A棟　A 201-2 |
| 編集委員会 | 3月27日（日）（会期前日） | 17：30～21：00 | 生物農林学系A棟　A 201-1 |
| 常任評議員会 | 3月28日（月） | 12：30～13：30 | 生物農林学系A棟　A 201-1 |
| 評議員会 | 3月28日（月） | 18：00～21：00 | 生物農林学系A棟　A 106 |
| 総会 | 3月29日（火） | 12：30～13：30 | A 会場 |

◎懇親会

日　　時　3月29日（火）18：30～20：30

場　　所　ホテルグランド東雲（TEL: 0298-56-2211）

◎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: 0298-53-4848または4857

◎関連集会　　第1日　3月28日（月）午後　　A 会場

## 学術振興会　特別研究員　研究紹介

オーガナイザー　「植物生理若い研究者の会」代表
中嶋　信美（国立環境研・地域環境）

18：00　はじめに
佐藤　　忍（筑波大・生物）

18：05　ミカヅキモの有性生殖に関する細胞間情報伝達機構の解析
関本　弘之（筑波大・生物）

18：50　プラスチドのシャペロニンと Hsp 70
槻木　竜二（基生研・細胞生物）

19：35　高等植物における Acetyl CoA Carboxylase の再発見
小西　智一（京都大・農）

20：20　おわりに
中嶋　信美（国立環境研・地域環境）

◎**授賞式・受賞講演**　　第2日　3月29日（火）午後　　H会場

15：40　授賞式

選考経過報告

賞状授与

16：00　受賞講演

## 日本植物生理学会奨励賞

16：00　小俣　達男（名古屋大学・農学部）

ラン藻の硝酸イオン能動輸送系に関する分子生物学的研究

（受賞研究題目と同じ）

16：30　三村　徹郎（姫路工業大学・理学部）

植物細胞生体膜輸送系に関する生理学的研究

（受賞研究題目と同じ）

## 日本植物生理学会論文賞

17：00　柿本　辰男（大阪大学・理学部）

タバコ培養細胞 BY-2 のフラグモプラストに関する研究

受賞論文

Tatsuo Kakimoto and Hiroh Shibaoka

Synthesis of Polysaccharides in Phragmoplasts Isolated from Tobacco BY-2 Cells

Plant Cell Physiol. 33(4): 353–361 (1992)

17：15　白石　友紀（岡山大学・農学部）

植物の防御応答を制御する病原菌シグナル

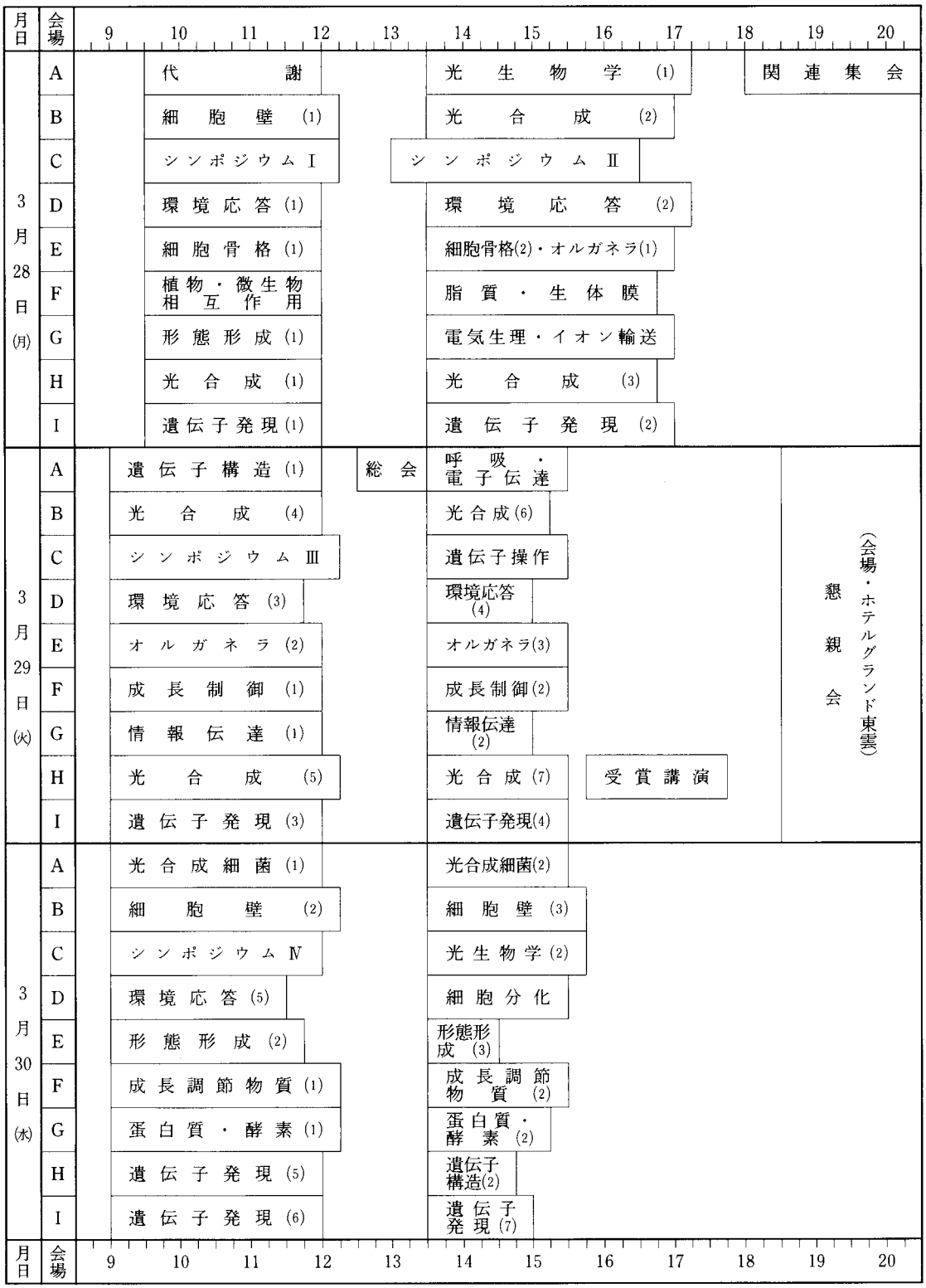
受賞論文

Tomonori Shiraishi, Kohji Saitoh, Hon Mo Kim, Toshiaki Kato, Makoto Tahara, Hachiro Oku, Tetsuji Yamada and Yuki Ichinose

Two Suppressors, Supprescins A and B, Secreted by a Pea Pathogen, *Mycosphaerella pinodes*

Plant Cell Physiol. 33(5): 663–667 (1992)

# 日　　程　　表


月日
会場
9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
3月28日(月)
A 代謝 光生物学(1) 関連集会
B 細胞壁(1) 光合成(2)
C シンポジウムⅠ シンポジウムⅡ
D 環境応答(1) 環境応答(2)
E 細胞骨格(1) 細胞骨格(2)・オルガネラ(1)
F 植物・微生物相互作用 脂質・生体膜
G 形態形成(1) 電気生理・イオン輸送
H 光合成(1) 光合成(3)
I 遺伝子発現(1) 遺伝子発現(2)
3月29日(火)
A 遺伝子構造(1) 総会 呼吸・電子伝達
B 光合成(4) 光合成(6)
C シンポジウムⅢ 遺伝子操作
D 環境応答(3) 環境応答(4)
E オルガネラ(2) オルガネラ(3)
F 成長制御(1) 成長制御(2)
G 情報伝達(1) 情報伝達(2)
H 光合成(5) 光合成(7) 受賞講演
I 遺伝子発現(3) 遺伝子発現(4)
懇親会（会場・ホテルグランド東雲）
3月30日(木)
A 光合成細菌(1) 光合成細菌(2)
B 細胞壁(2) 細胞壁(3)
C シンポジウムⅣ 光生物学(2)
D 環境応答(5) 細胞分化
E 形態形成(2) 形態形成(3)
F 成長調節物質(1) 成長調節物質(2)
G 蛋白質・酵素(1) 蛋白質・酵素(2)
H 遺伝子発現(5) 遺伝子構造(2)
I 遺伝子発現(6) 遺伝子発現(7)
月日
会場
9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

# シンポジウムⅠ　　第1日　3月28日（月）　午前　　C会場

## 「環境問題と植物生理学」

オーガナイザー　近藤　矩朗（国立環境研・地域）
田中　　浄（国立環境研・生物）

9：30　　はじめに　　近藤　矩朗（国立環境研・地域）

座長　近藤　矩朗（国立環境研・地域）

9：35　S1aC1　温室効果気体増加の気候への影響　　野田　　彰（気象庁・気象研）
10：05　S1aC2　温暖化の植物への影響　　清野　　豁（農水省・農環研）
10：35　S1aC3　酸性雨の植物への影響　　野内　　勇（農水省・農環研）

座長　田中　　浄（国立環境研・生物）

11：05　S1aC4　植物の生長に及ぼす紫外線 (UV-B) の影響
竹内　裕一（北海道東海大・工）

11：35　S1aC5　環境ストレスに対する植物スーパーオキシドディスムターゼ遺伝子の発現応答機構
田中　國介，奥村　剛一，角　　一彦
坂本　　敦（京都府大・農・生化）

12：05　総合討論

座長　近藤　矩朗（国立環境研・地域）
田中　　浄（国立環境研・生物）

# シンポジウムII　　第1日　3月28日（月）　午後　　C会場

## 「高等植物遺伝子の機能解析研究の展開」
## —変異体，遺伝子，ゲノムからのアプローチ—

オーガナイザー　篠崎　一雄（理研・筑波センター）
米田　好文（東京大・遺伝子）

13：00　はじめに　篠崎　一雄（理研・筑波センター）

### I　変異体からのアプローチ

座長　篠崎　一雄（理研・筑波センター）

13：05　S1pC1　根の刺激応答変異体の分子遺伝学的解析
岡田　清孝，和田　拓治，小山　時隆，石黒　澄衛
志村　令郎（基生研・遺伝子発現統御）

13：35　S1pC2　光形態形成関連蛋白質 COP1, COP9 とそれに相互作用する蛋白質の解析
松井　　南（Yale University, Dept. of Botany）

14：05　S1pC3　クロモソーマルウォーキングによる高等植物の ω-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のクローニングとその機能解析
射場　　厚（九州大・理・生物）

### II　遺伝子からのアプローチ

座長　米田　好文（東京大・遺伝子）

14：35　S1pC4　乾燥ストレス応答のシグナル伝達関連遺伝子の機能解析
篠崎　一雄（理研・筑波センター）

15：05　S1pC5　アブシジン酸 (ABA) に応答性遺伝子に関わる転写制御因子 VP1 の機能解析
服部　束穂，中川　　仁，浜砂　　聡
寺田　智子（三重大・遺伝子）

### III　ゲノムからのアプローチ

座長　米田　好文（東京大・遺伝子）

15：35　S1pC6　イネゲノム解析研究の現状と展望
美濃部侑三（農水省・生物研・イネゲノム）

16：05　S1pC7　国際協力による Arabidopsis ゲノム解析研究とデータベースの現状
林田　信明（理研・筑波センター）

16：25　おわりに　米田　好文（東京大・遺伝子）

*17：15–18：30　Arabidopsis ゲノムデータベースの実演
（理研・筑波センターにて，講師　林田信明）

# シンポジウムIII　　第2日　3月29日（火）　午前　　C会場

## 「細胞壁機能の分子機構」

オーガナイザー　桜井　直樹（広島大・総合科）
林　　隆久（京都大・木質研）

9：00　　はじめに　　桜井　直樹（広島大・総合科）
座長　森　　仁志（名古屋大・農）

9：05　S2aC1　オーキシンによる伸長成長の分子生物学的研究
山本興太朗（北海道大・地球環境）

9：35　S2aC2　細胞壁ネットワークの構築に関与する新しい遺伝子群，EXT・ファミリー
西谷　和彦（鹿児島大・教養）
座長　三村　徹郎（姫路工大・理）

10：05　S2aC3　ニンジン細胞培養系を用いた細胞壁機能へのアプローチ
佐藤　　忍（筑波大・生物）

10：35　S2aC4　細胞壁由来のエリシターとそのイネ培養細胞における認識・応答
渋谷　直人（農水省・生物研）

11：05　S2aC5　リグニン生合成経路の遺伝子操作
柴田　大輔（三井植物バイオ研）

11：35　　総合討論
座長　林　　隆久（京都大・木質研）

# シンポジウムⅣ　　第3日　3月30日（月）　午前　　C会場

## 「植物における信号の受容と伝達」

オーガナイザー　大森　正之（東京大・教養・生物）
笠毛　邦弘（農水省・食総研）

9：00　はじめに　笠毛　邦弘（農水省・食総研）
座長　武藤　尚志（名古屋大・生物応答センター）

9：05　S3aC1　アラスカエンドウにおける光信号伝達の分子機構
蓮沼　仰嗣，浜田　　徹（横浜市大・木原生研）

9：35　S3aC2　光に応答して発現する低分子量 GTP 結合蛋白質
佐々木幸子，永野　幸生（京都大・農・食品工）
座長　蓮沼　仰嗣（横浜市大・木原生研）

10：05　S3aC3　耐塩性緑藻ドナリエラの浸透圧調節に関与するプロテインキナーゼ
武藤　尚志，湯浅　高志（名古屋大・生物応答センター）

10：35　S3aC4　オーキシンの情報伝達におけるオーキシン結合蛋白質の役割
下村　正二（農水省・生物研）

11：05　S3aC5　プロトンポンプの分子構造と脂質による調節機構
笠毛　邦弘，山西　弘恭[1]（農水省・食総研，[1]農水省・東北農試）

11：35　総合討論
座長　大森　正之（東京大・教養・生物）

# 第1日　3月28日（月）　［午前の部］

## A会場　代　謝

9:30　1aA01　ホウレンソウ培養細胞の硝酸還元酵素と亜硝酸還元酵素の発現調節に対するグルタミンの影響
小川京子，白石斉聖[1]，井田正二[2]，中川弘毅[3]，駒嶺穆（日本女子大・理・物生，[1]ミシガン工科大・生物，[2]京都大・食研，[3]千葉大・園芸・農化）

9:45　1aA02　ハス発芽種子における貯蔵物質の分解
前田ゆり，南川隆雄，徐本美[1]，山内大輔（都立大・理・生物，[1]北京植物園）

10:00　1aA03　*Vigna mungo* 発芽種子における$\alpha$-アミラーゼの発現
種山正登志，山内大輔，南川隆雄（都立大・理・生物）

10:15　1aA04　発芽時のキュウリ子葉における $H_2O_2$ 消去系の消長
丑丸敬史，辻英夫（京都大・理・植物）

10:30　1aA05　キュウリ子葉 11S グロブリンの発芽時における分解機構
山内靖雄，坂田朋子[1]，杉本敏男[1]，王子善清[1]（神戸大・自然科学，[1]神戸大・農・植物栄養）

10:45　1aA06　グルタミン酸・ショ糖を多く蓄積する登熟ダイズ種子の窒素・炭素代謝
増田亮一，蒲地一成[1]（農水省・食総研，[1]厚生省・予研）

11:00　1aA07　イネ *sugary* ミュータントにおけるデンプンの分析とその生化学的要因の解析
中村保典，梅本貴之，高畑康浩，天野悦夫，佐藤光（農水省・生物研，東北農試，九州農試，九州大・農学部）

11:15　1aA08　イネ登熟期胚乳デンプンデブランチングエンザイム（R-エンザイム）の精製と cDNA 構造
中村保典[1]，梅本貴之[2]，大潟直樹[1]（[1]農水省・生物研，[2]東北農試）

11:30　1aA09　ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* における硝酸還元酵素活性の日周変化の調節
中村良子，猪川倫好（筑波大・生物）

11:45　1aA10　光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus fdxN* 上流に位置する2つの窒素固定必須遺伝子 ORF-U2 と ORF-U3 の解析
藤原武志，佐伯和彦，松原央（阪大・理・生物）

## B会場　細胞壁　（1）

9:30　1aB01　ニンジン培養細胞と種子胚に存在する新しい細胞外不溶性タンパク質 (EIP18)
佐藤忍，野尻隆裕，後藤康成（筑波大・生物）

9:45　1aB02　タケノコ細胞壁中に存在するアラビノガラクタンプロテイン
藤井康代，東順一，岡村圭造（京都大・農・林産）

10:00　1aB03　イネ葯に局在し，アラビノガラクタンプロテイン糖鎖のコア構造を持つオリゴ糖について
川口健太郎[1]，渋谷直人[2]（[1]農水省・北海道農試，[2]生物研）

10:15　1aB04　塩基性 7S グロブリンのダイズ子葉における細胞内分布
西澤直子，森敏，渡辺佳宏[1]，平野久[1]（東大・農，[1]農水省生物研）

10:30　1aB05　ホウ素結合性タンパク質の同定
石垣賢一，間藤徹，関谷次郎（京都大・農・農化）

10:45　1aB06　タバコ培養細胞細胞壁の2種類の塩基性糖蛋白質の精製とそのタバコ植物体における分布
武市哲郎，川崎信二（農水省・農業生物資源研）

11:00　1aB07　ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化に特異的なペルオキシダーゼ cDNA の単離
佐藤康，高木尚，杉山宗隆，福田裕穂（東北大・理・生物）

11:15　1aB08　アズキ上胚軸細胞壁結合性ペルオキシダーゼの基質特異性とそれぞれの基質の酸化に対するアスコルビン酸の影響
高浜有明夫（九州歯科大・生物）

11:30　1aB09　ダイコン一次根の $\alpha$-L-フコシルトランスフェラーゼの細胞内局在性と器官の発達過程における酵素活性の変化
三沢宏之，円谷陽一，橋本洋一（埼玉大・理・生化）

11:45　1aB10　ダイコンのアラビノガラクタン—プロテインの糖鎖合成に関わる$\beta$-D-ガラクトシルトランスフェラーゼ

加藤秀明，円谷陽一，橋本洋一（埼玉大・理・生化）

12:00　1aB11　ニホンナシ果実の成熟にともなうα-アラビノフラノシダーゼ活性の変動と果実細胞壁からの精製
立石亮，金山喜則，山木昭平（名古屋大・農・園芸科学）

## D会場　環境応答　（1）

9:30　1aD01　ドナリエラは温度差とカチオン濃度差を感じて泳ぐ
川辺晶子，向畑恭男（名大・理・生物）

9:45　1aD02　イネα-アミラーゼにおける代謝糖による発現調節
下司直美[1]，三ツ井敏明[2]，山口淳二[1,3]（[1]名大・農・生化学制御，[2]新潟大・農・応用生化，[3]名大・生物応答センター）

10:00　1aD03　嫌気発芽条件におけるα-アミラーゼの誘導
Pierdomenico Perata[1]，下司直美，赤沢堯，山口淳二[2]（名大・農・生化学制御，[1]ピザ大学・植物生理，[2]名大・生物応答センター）

10:15　1aD04　低酸素ストレスによるイネ培養細胞の細胞内 pH の変化；液胞膜プロトンポンプ阻害剤の影響
矢崎芳明，坂野勝啓（農水省・生物研）

10:30　1aD05　イネの $Na^+/H^+$ アンチポーター活性
田中喜之，石川隆之[1]，矢崎芳明，小池説夫（農水省・生物研，[1]国際農林水産業研究センター）

10:45　1aD06　オカヒジキ葉液胞膜 Na/H アンチポーター
小池説夫，田中喜之（農水省・生物研）

11:00　1aD07　タバコ培養細胞のカリウム過剰に対する応答
小林優，間藤徹，中野明正，關谷次郎（京都大・農・農化）

11:15　1aD08　コムギ幼植物の塩ストレスによるプロリン蓄積とピロリン-5-カルボン酸レダクターゼ活性
安藤俊哉，真田幸香，和田敬四郎，玉井直人（金沢大・理・生物）

11:30　1aD09　シロイヌナズナのプロリン合成酵素（$\Delta^1$-ピロリン-5-カルボン酸合成酵素）の cDNA クローニングとストレス条件下での遺伝子発現
吉羽洋周[1,2]，清末知宏[1]，篠崎和子[1,4]，片桐健[1]，溝口剛[1]，上田寛子[3]，和田敬四郎[3]，原田義則[2]，篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子，[2]日立・基礎研，[3]金沢大・理，[4]農水省・国際農研）

11:45　1aD10　Molecular cloning of choline oxidase gene from *Arthrobacter globiformis*
Patcharaporn Deshnium, Hidenori Hayashi[1], and Norio Murata[1] (Department of Molecular Biomechanics, The Graduate University for Advanced Studies, [1]National Institute for Basic Biology)

## E会場　細胞骨格　（1）

9:30　1aE01　遠心したホウライシダ原糸体細胞における分裂予定位置での細胞質の集積
村田隆，和田正三[1]（東京大・教養・生物，[1]都立大・理・生物）

9:45　1aE02　シダ原糸体の先端成長にともなう核の移動と細胞骨格
門田明雄，和田正三（都立大・理・生物）

10:00　1aE03　赤色光により誘導される副細胞形成時の核の移動機構
鈴木理恵，杉本慶子，風間晴子（国際基督教大・生物）

10:15　1aE04　気孔閉鎖運動における孔辺細胞微小管の分布変化
姜昌杰，中嶋信美，近藤矩朗（国立環境研究所）

10:30　1aE05　表層微小管の配向と細胞核の変形に及ぼすブラシノライドの影響
関真紀子，勝見允行（国際基督教大・生物）

10:45　1aE06　担子菌ウシグソヒトヨタケの対合分裂における星状体微小管の役割
田部茂，鎌田堯（岡山大・理・生物）

11:00　1aE07　タバコ培養細胞 BY-2 からの細胞膜—表層微小管複合体の単離
園部誠司，山本周史，柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

11:15　1aE08　タバコ培養細胞 BY-2 の表層微小管の単離
山本周史，園部誠司，柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

11:30　1aE09　タバコ培養細胞 BY-2 のフラグモプラスト微小管の単離
松井啓祐，園部誠司（大阪大・理・生物）

11:45　1aE10　125 kDa 微小管モニター蛋白質の部分的分子構造と細胞内局在
浅田哲弘，柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

## F会場　植物・微生物相互作用

9:30　1aF01　種々の根粒中に含まれるポリアミンについて
藤原伸介，阿部浩人[1]，米山忠克[1]（農業研究センター，[1]筑波大）

9:45　1aF02　マメ科植物と根粒菌の感染応答シグナル物質の分離
阿部美紀子，東四郎，内海俊樹（鹿児島大・理・生物）

10:00　1aF03　エンドウ Fix$^-$ 突然変異体に形成される根粒におけるレグヘモグロビンの発現
玉置雅紀，菅沼教生，河内宏[1]（愛知教育大・生命科学，[1]農水省・生物研）

10:15　1aF04　*Bradyrhizobium elkanii* におけるインドールピルビン酸デカルボキシラーゼ活性と，その DNA クローニング
舘野栄司[1]，小川健一郎[1]，福原英之[1]，朝山宗彦[1]，古賀仁一郎[2]，足立尭[3]，南沢究[1]（[1]茨城大・農，[2]植物防御研，[3]明治製菓生物科学研）

10:30　1aF05　イネのいもち病抵抗性遺伝子の精密マッピングとゲノムライブラリー作成の試み
川崎信二[1,2]，佐藤征弥[1,2]，宮本勝[1,3]，安東郁男[4]（[1]農水省・生物研，[2]新技術事業団，[3]茨大・農・農化，[4]農研センター）

10:45　1aF06　糖質性エリシターによるイネ培養細胞の膜電位変化の誘導と情報伝達
朽津和幸，菊山宗弘[1]，渋谷直人（農水省・生物研，[1]放送大・生物）

11:00　1aF07　イネ培養細胞原形質膜に存在する *N*-アセチルキトオリゴ糖エリシター結合部位の性質
恵飛須則明[1]，鎌田芳彰[2]，賀来華江，朽津和幸，渋谷直人（農水省・生物研，[1]沖縄県農試，[2]現ジョンズホプキンス大学）

11:15　1aF08　ブドウ培養細胞におけるサリチル酸によるアントシアニン生成の促進
郡佳世子，作田正明，清水碩（お茶の水大・理・生物）

11:30　1aF09　細胞壁画分 ATPase に対する褐紋病菌サブレッサーの種特異的作用
木場章範，豊田和弘，一瀬勇規，山田哲治，白石友紀（岡山大・農）

11:45　1aF10　*Sclerotinia sclerotiorum* における D-アラビノースからの蓚酸生成
斉藤和実，Frank A. Loewus[1]（京都大・RI センター，[1]ワシントン州立大・生物化学研）

## G会場　形態形成　（1）

9:30　1aG01　アオウキクサの花成誘導物質生成に関与するストレス要因
瀧本敦，貝原純子，横山峰幸[1]（京都生物研，[1]資生堂基礎科学研）

9:45　1aG02　アオウキクサにおける無窒素培養による花成誘導とリジンの花成誘導効果
田中修，江盛浩司，岡本富美，中山善雄[1]，杉野守[1]（甲南大・理・生物，[1]近畿大・農・植生）

10:00　1aG03　アスパラガス胚における花芽誘導
阿部知子，甲村浩之[1]，吉田達[2]，吉田茂男（理研，[1]広島農試，[2]帝京大）

10:15　1aG04　Ri 形質転換体チコリの花芽形成における日長条件の影響
西村英世，猪口雅彦，加藤次郎（岡山理科大・理・生物化学）

10:30　1aG05　カテコールアミン生合成及び生分解阻害剤によるアサガオの短日開花の阻害
井上英子，篠崎真輝（京大・農・応植）

10:45　1aG06　アサガオの花成反応と子葉中のフェニルプロパノイド含量との関係
石丸明恵，竹能清俊，篠崎眞輝[1]（東北大・農・園芸，[1]京大・農・応植）

11:00　1aG07　アサガオ花弁主要タンパク質の単離・同定と花芽分化における発現生理

安部弘，鈴木英明，藤岡昭三，桜井成（理化学研究所・植物生活環制御）

11:15　1aG08　アサガオ子葉のポリアミン合成系酵素活性の光応答
平澤栄次，吉田泉（大阪市大・理・生物）

11:30　1aG09　*acaulis* 変異株を用いた花序形態形成過程の解析
稲塲久美子，瀬下智子[1]，島田敬子，古庄敏行[1]，米田好文（東京大・遺伝子実験施設，[1]杏林大・保健）

11:45　1aG10　アラビドプシス散房花序変異 *erecta* の解析
鳥居啓子，米田好文（東京大・遺伝子実験施設）

## H会場　光合成　（1）

9:30　1aH01　ホウレンソウ葉緑体にはN末端にグルタミン残基をもつ成熟フェレドキシン-NADP 還元酵素が存在する
先浜直子，小幡茂裕[1]，三上覚範，井上千晶，新勝光（神戸大・理・生物，[1]キシダ化学・研究開発グループ）

9:45　1aH02　好熱性ラン色細菌シネココッカスのシトクロム *b6/f* 複合体の単離とその性質
佐藤和彦，小池裕幸，菓子野康浩，西尾暁隆（姫工大・理・生命科学）

10:00　1aH03　緑藻 *Pediastrum boryanum* のプラストシアニンの cDNA クローニング
中村真樹，吉崎文則，杉村康知（東邦大・理・生物）

10:15　1aH04　光化学系1反応中心サブユニット蛋白のクロマトグラフィによる分離と精製
湯本健司，平出恒男[1]，檜山哲夫（埼玉大・理・生化，[1]旭光学工業 KK）

10:30　1aH05　光化学系Ⅰサブユニット Ⅰ遺伝子欠失変異株の作製
仲本準（埼玉大・理・生化）

10:45　1aH06　*Synechocystis* sp. PCC 6803 光化学系Ⅰ複合体サブユニット欠失変異株を用いた研究
仲本準，増村健一，檜山哲夫（埼玉大・理・生化）

11:00　1aH07　ラン藻 *Synechocystis* PCC 6803のチトクロム *c*-550遺伝子のクローニングとその欠失変異株の作製
沈建仁[1,2]，W.F.J. Vermaas[2]，池内昌彦[3]，井上頼直[1]（[1]理研・太陽光科学，[2]Arizona State Univ., Dep. Botany, [3]東京大・教養生物）

11:15　1aH08　電子受容体キノンを異なったキノンで入れ換えた光化学系Ⅰ反応中心での初期電子移動反応
岩城雅代，熊崎茂一[1]，神取秀樹[1]，吉原經太郎[1]，池上勇[2]，伊藤繁（基生研，[1]分子研，[2]帝京大・薬・化学）

11:30　1aH09　2種類のサブユニットからなる緑色イオウ細菌 *C. limicola* の光化学反応中心複合体
亀井正一郎[1]，大岡宏造[1]，角谷佐紀[1]，松原央[1]，岩城雅代[2]，伊藤繁[2]（[1]大阪大・理・生物，[2] 基生研）

11:45　1aH10　β-carotene の $S_2$ 状態の励起寿命測定とエネルギー転移過程の解析
神取秀樹[1]，雀部博之[2]，三室守[3]（[1]京大・理・生物物理，[2]理研，[3]基生研）

## I会場　遺伝子発現　（1）

9:30　1aI01　イネ増殖細胞核抗原 (PCNA) 遺伝子プロモーターの site Ⅱ エレメントに結合する核内因子 RPCF-Ⅱ
小杉俊一，鈴鹿厳，大橋祐子（農水省・生物研）

9:45　1aI02　転写調節因子 HBP-1a (17) の機能ドメインの解析
中山卓哉，岩淵雅樹（京都大・理・植物）

10:00　1aI03　bZIP 型転写因子 HBP-1b によるコムギヒストン H3 遺伝子の転写調節機構
伊藤卓也[1,2]，三上浩司[2]，岩渕雅樹[1,2]（[1]京都大・理・植物，[2]基生研・発生生物）

10:15　1aI04　コムギ G-box 結合転写因子 HBP-1a 遺伝子のトランスジェニック・シロイヌナズナにおける葉特異的発現
三上浩司[1]，桂真昭[1,2]，岡田清孝[3]，志村令郎[3,4]，岩渕雅樹[1,2]（[1]国立基生研・発生生物，[2]京都大・理・分子植物，[3]国立基生研・遺伝子1，[4]京都大・理・生物物理）

10:30　1aI05　タバコ TATA ボックス結合蛋白質の cDNA クローニング
保谷彰彦，森仁志，今関英雅，山崎健一（名古屋大・農・分化遺伝）

10:45　1aI06　タバコ無細胞転写系はトランス活性化を再構成できる

山口雄記，今関英雅，山崎健一（名古屋大・農・分化遺伝制御）

11:00　1aI07　タバコ試験管内転写系を用いた熱ショックプロモーターの転写調節機構の解析
志水佐江，山口雄記，今関英雅，山崎健一（名古屋大・農・分化遺伝）

11:15　1aI08　Accurate *in vitro* transcription of plant promoters with nuclear extracts prepared from tobacco BY-2 cell line
Hao Fan, Masahiro Sugiura (Center for Gene Research, Nagoya University)

11:30　1aI09　タバコ RNA 結合蛋白質 RGP-3 の核酸結合特性と細胞内局在性について
守口和基，杉田護，杉浦昌弘（名古屋大・遺伝子実験施設）

11:45　1aI10　タバコ RNA 結合蛋白質 RZ-1 の細胞内局在性
花野　滋，杉田護，杉浦昌弘（名古屋大・遺伝子実験施設）

第1日　3月28日（月）　［午後の部］

## A会場　光生物学　（1）

13:45　1pA01　光変換に伴う蛍光スペクトル変化を指標としたフィトクロム定量の可能性について
井上康則，田中良征（東理大・理工・応生）

1pA02　講演取り消し

14:00　1pA03　尿素変性によるフィトクロムの色素団，タンパク質間相互作用の解析
廣瀬哲也，中澤美紀，真鍋勝司（横浜市大・文理・生物）

14:15　1pA04　ホウキモロコシアントシアニン形成に Pfr と協同作用する因子σ生成の光受容体
恩田祥子，七條千津子，橋本徹[1]（神戸大・理・生物，[1]神戸女子大・家政）

14:30　1pA05　細胞質運動の光制御と光情報伝達過程の解析
高木慎吾，上妻道成[1]，峰雪芳宣[2]，古谷雅樹[3]（大阪大・教養・生物，[1]日立・計測器，[2]広島大・理・生物科学，[3]日立・基礎研）

14:45　1pA06　ホウライシダ前葉体細胞における核定位運動の光制御
加川貴俊，和田正三（都立大・理・生物）

15:00　1pA07　Photomovements in *Euglena gracilis*: ammonium ion enhances the step-down photophobic reaction
Shigeru Matsunaga, Tetsuo Takahashi[1], Mamoru Kubota[2], Masakatsu Watanabe[2], Michizo Sugai[3] and Terumitsu Hori (Inst. Biol. Sci., The Univ. of Tsukuba, [1]Japan Advanced Institute of Science and Technology, [2]National Institute for Basic Biology, [3]Fac. Biol., Dept. Sci., Toyama Univ.)

15:15　1pA08　クロレラ変異体での硝酸・アンモニア取り込みの青色光制御
神谷明男（帝京大・薬・化学）

15:30　1pA09　数生態型 *Bipolaris oryzae* の胞子形成の光調節反応
木原淳一，熊谷忠（東北大・遺生研）

15:45　1pA10　ゼニゴケ培養細胞の分化における光調節
加藤真司，菅原康剛（埼玉大・理・生体制御）

16:00　1pA11　光によるインゲン胚軸伸長生長抑制機構の解析
長谷川祐康，井上康則（東理大・理工・応生）

16:15　1pA12　フィトクロムBによる茎の伸長制御におけるジベレリンの役割
小林正智，Enrique Lopez-Juez[1], Richard E. Kendrick[1]，神谷勇治[1]，桜井成（理研，[1]理研・フロンティア）

16:30　1pA13　フシナシミドロで同時に現れる垂直と平行の2種の偏光屈性
片岡博尚（東北大・遺伝生態研セ）

16:45　1pA14　オウゴンガジュマルにおける生葉黄金化の光依存性
山崎秀雄，平敷りか，池原規勝（琉球大・理・生物）

17:00　1pA15　*Alternaria* 属菌による tetrahydroanthraquinone 類の光誘導生産
原口博行，小野英俊，岡村信幸[1]，八木晟[1]，橋本研介（福山大・工，[1]薬）

## 第1日　3月28日（月）　［午後の部］

### B会場　光合成　（2）

13:30　1pB01　ユーグレナ光化学系Ⅱ膜表在性 30-kDa タンパク質前駆体の高等植物葉緑体への輸送
重森康司，山本泰（岡山大・理・生物）

13:45　1pB02　キメラ前駆体を用いたユーグレナ酸素発生系 30 kDa タンパク質の葉緑体への輸送の解析
稲垣純子，山本泰，藤田祐一[1]，長谷俊治[1]（岡山大・理・生物，[1]阪大・蛋白研）

14:00　1pB03　葉緑体包膜の電子伝達タンパク質
西條由見子，村田善則，有井康博，高橋正昭（甲南大・理・生物）

14:15　1pB04　マサキ斑入り葉におけるポルフィリン合成系の解析
増田建，高部圭司[1]，太田啓之，塩井祐三，高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構，[1]京大・農・林産工学）

14:30　1pB05　キュウリ NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase (NPR) の cDNA クローニングとその発現様式
黒田浩文，増田建，太田啓之，塩井祐三，高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構）

14:45　1pB06　クロロフィル *b* からクロロフィル *a* への変換系
伊藤寿，大塚達之，田中歩，辻英夫（京大・理・植）

15:00　1pB07　クロロフィライド *b* のフィチル化後に起こるクロロフィル *a* への変換
大塚達之，伊藤寿，田中歩，辻英夫（京大・理・植）

15:15　1pB08　緑色培養細胞におけるキサントフィルサイクルの制御
竹田恵美，犬丸久美子，西井晶子，井田和子（大阪女子大・基礎理）

15:30　1pB09　緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* における PS Ⅰ/Ⅱ 量比の光質による適応的変化
村上明男[1]，相澤克則[1]，大城香[2]，Jeff A. Nemson[3]，中嶋祐二[4]，Anastasios Melis[3]，藤田善彦[1]（[1]基生研，[2]東海大・海洋，[3]California 大・Berkeley 校，[4]三菱重工・基盤研）

15:45　1pB10　光化学系の量的調節とクロロフィル合成の関係：プロトクロロフィライド還元反応の調節
藤田善彦，相澤克則，村上明男（基生研・細胞生物）

16:00　1pB11　光質によるラン藻 PsaA/B ペプチドの翻訳制御
相澤克則，金成俊，藤田善彦（基生研・細胞生物）

16:15　1pB12　クロロフィルアルコール側鎖の還元経路について
新家勝，津山孝人，小林善親（九大・農・林）

16:30　1pB13　クロロフィルアルコール側鎖の還元にともなう緑色植物の光ストレス耐性の獲得について
小林善親，新家勝，津山孝人（九大・農・林）

16:45　1pB14　シロザの葉の老化に伴う葉緑体の数の変化
山崎武信，工藤俊之，上村保麿，加藤栄（東邦大・理・生物）

### D会場　環境応答　（2）

13:30　1pD01　ベタイン合成酵素遺伝子を導入したトランスジェニックタバコの解析
中村敏英，石谷学，高倍鉄子（名古屋大・生物分子応答研究センター，農・生化学制御専攻）

13:45　1pD02　大腸菌由来ベタイン合成系遺伝子のラン藻への導入とその発現
野村美加，高倍昭洋[1]，石谷学，高倍鉄子（名古屋大・生物分子応答研究センター，[1]名城大・理工・化学）

14:00　1pD03　タバコ培養細胞の酸ストレスに対する応答反応
笹田直樹，山本洋子，松本英明（岡山大・資生研）

14:15　1pD04　タバコ懸濁培養細胞におけるアルミニウム毒性の定量的解析
山本洋子，力石早苗，張藝潔，松本英明（岡山大・資生研）

14:30　1pD05　アルミニウム (Al) ストレスで誘導されるタバコ遺伝子のクローニング
江崎文一，山本洋子，松本英明（岡山大・資生研）

14:45　1pD06　カロース（$\beta$-1,3-グルカン）による花粉管生長評価法の確立とその応用
小西茂毅，大本実穂，惣田昱夫[1]（静岡大・農，[1]神奈川県環境科学センター）

15:00　1pD07　鉄欠乏オオムギ根で発現する遺伝子 (*Ids3*) の性質

中西啓仁，坂口圭美，西澤直子，芳野充男，森敏（東京大・農・農化）

15:15　1pD08　鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路の研究　Ⅲ．イネ科植物中のニコチアナミンアミノ基転移酵素の存在
金澤健二，樋口恭子，伏谷眞二[1]，西澤直子，茅野充男，森敏（東京大・農・農化，[1]東北大・薬）

15:30　1pD09　鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路の研究　Ⅳ．ニコチアナミン合成酵素の精製と性質
樋口恭子，金澤健二，西澤直子，茅野充男，森敏（東京大・農・農化）

15:45　1pD10　$^1$H-NMR による植物体の水の動態
井上眞理[1]，賀来章輔（[1]九大・教養・生物）

16:00　1pD11　水ストレスによって引き起こされる生長に伴った水ポテンシャル場の変動によって起こる細胞伸長阻害
野並浩（愛媛大・農）

16:15　1pD12　大気汚染好性植物の育成――スクリーニング，選抜，遺伝子操作――
森川弘道，諫山俊之，神幸夫，田辺稔明[1]，村上邦睦[1]，松井邦夫[2]，藤田耕之助[3]（広島大・理・遺伝子科学，[1]日本製紙㈱，[2]トヨタ自動車㈱，[3]広島大・生物生産）

16:30　1pD13　好 $NO_2$ 木本植物のスクリーニング（2）；環境汚染レベル $NO_2$ 浄化能評価
岡村幸治，松井邦夫，木谷重和，森川弘道[1]（トヨタ自動車㈱，[1]広島大・理・遺伝子科学）

16:45　1pD14　シロイヌナズナ硝酸同化関連酵素遺伝子の $NO_2$ 暴露下での発現応答
入船浩平，田中俊憲，澤崎達也，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

17:00　1pD15　サブトラクション法を用いた $NO_2$ 暴露により誘導される遺伝子の単離
澤崎達也，神幸夫，入船浩平，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

## E会場　細胞骨格　（2），オルガネラ　（1）

13:30　1pE01　Plasma membrane から分離した，tubulin を含む顆粒による多糖合成
水野孝一（大阪大・理・生物）

13:45　1pE02　タバコ培養細胞 BY-2 の核表面 MT0C に存在する 50 kDa タンパク質について
武居郁，水野孝一（大阪大・理・生物）

14:00　1pE03　タバコ懸濁培養細胞 BY-2 における表層微小管構築を担うタンパク質の解析
熊谷史，高橋陽介，馳澤盛一郎，長田敏行（東京大・理学系研究科）

14:15　1pE04　ミトコンドリアの分裂装置（MD リング）
黒岩常祥[1]，鈴木邦律[1]，黒岩晴子[2]（[1]東大・大学院理学系研究科・植物，[2]共立女子短大・生物）

14:30　1pE05　タバコ培養細胞のオルガネラ DNA ポリメラーゼ
佐藤久美，福田裕穂（東北大・理・生物）

14:45　1pE06　抗 DNA 抗体—免疫電顕法による同調培養ユーグレナの巨大ミトコンドリアの観察
江原友子，長舩哲齊，長谷榮二[1]（東京医大・微生物，[1]帝京大・医・化学）

15:00　1pE07　シロイヌナズナ茎頂におけるオルガネラ DNA 量の増減と転写産物量の変化
藤江誠，河野重行[1]，黒岩晴子[2]，黒岩常祥（東大・理・植物，[1]東大・理・広域理学，[2]共立女子短大・生物）

15:15　1pE08　高等植物の細胞質分裂におけるゴルジ体の役割に関するテクノビット包埋蛍光染色法による解析
河津維，河野重行，黒岩常祥（東大・理・植物）

15:30　1pE09　ヤエナリ核膜の 49 kD 糖タンパク質について
大平万里，前島正義（北海道大学・低温科学研究所）

15:45　1pE10　Properties of the nuclei in protonemata of *Adiantum capillus-veneris* after longterm basipetal centrifugation
Christian Wunsch, Masamitsu Wada (Dept. Biol., Tokyo Metropolitan Univ.)

16:00　1pE11　原始紅藻類のオルガネラゲノムの解析
太田にじ[1]，黒岩常祥[2]（[1]早大・人間科学，[2]東大・理・植物）

16:15　1pE12　クラミドモナスの接合直後に発現される遺伝子群と葉緑体の母性遺伝との相関についての解析
内田英伸，河津維，黒岩晴子[1]，河野重行，黒岩常祥（東大・大学院理学系研究科・植物，[1]共立女子短大・生物）

16:30　1pE13　タバコ培養細胞から単離した原色素体核の *in vitro* DNA 合成能

酒井敦，鈴木健史，河野重行，黒岩常祥（東大・理・植）

16:45　1pE14　超微量組織スロットブロット法による根端分裂組織における選択的オルガネラ DNA 合成の解析とその生理学的意義
鈴木健史，酒井敦，河野重行，黒岩常祥（東大・理・植物）

## F会場　脂質・生体膜

13:30　1pF01　ヤエナリ (*Vigna radiata* L.) 胚軸より単離した液胞膜のバナジン酸感受性 ATPase について
山西弘恭，笠毛邦弘[1]，加藤忠司（農水省・東北農業試験場，[1]農水省・食総研）

13:45　1pF02　塩ストレス感受性の異なるイネ培養細胞の液胞膜 $H^+$-PPase におよぼす塩ストレスの影響
榊原祥清，鈴村麻理子[1]，笠毛邦弘（農水省・食総研，[1]日本女子大・家政）

14:00　1pF03　低温処理による低温感受性イネ細胞の液胞膜における ATP 依存プロトン輸送低下の機構解明
笠毛邦弘（農水省・食総研・分子情報解析研）

14:15　1pF04　オオムギ根原形質膜小胞の $H^+$ 輸送活性に対するイオン輸送体阻害剤の効果
山下耕生，山本洋子，松本英明（岡山大・資生研）

14:30　1pF05　Separation and purification of guard cell protoplasts from adaxial epidermis of *Vicia faba* leaves
Chang-Hyo Goh[1], Tatsuo Oku[1], Ken-Ichiro Shimazaki[2] ([1]Biophys. Lab., Dept. Forestry, Fac. Agr., Kyushu Univ., [2]Biol. Lab., Coll. of Gen. Edu., Kyushu Univ.)

14:45　1pF06　気孔孔辺細胞ミクロソームにおけるバナジン酸感受性プロトン輸送活性に対する $Ca^{2+}$ の影響
木下俊則，西村光雄，島崎研一郎[1]（九州大・理・生物，[1]九州大・教養・生物）

15:00　1pF07　葉緑体局在 ω-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を導入した形質転換タバコにおける低温耐性能力の向上
児玉浩明，濱田達朗，堀口吾朗，西村光雄，射場厚（九大・理・生物）

15:15　1pF08　タバコ ω-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の単離
濱田達朗，児玉浩明，西村光雄，射場厚（九州大・理・生物）

15:30　1pF09　コムギの根における温度環境と成長に対応した脂肪酸多不飽和化
堀口吾朗，岩川洋隆，児玉浩明，川上直人[1]，西村光雄，射場厚（九大・理・生物，[1]横浜市立大・木原生物学研究所）

15:45　1pF10　膜脂質不飽和脂肪酸のシアノバクテリアの凍結耐性に及ぼす影響
野口勝三[1,2]，渡辺正勝[1,2]，村田紀夫[1,2]（[1]基礎生物学研究所，[2]総合研究大学院大学・生命科学）

16:00　1pF11　ラン藻の Δ9 位脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子
坂本敏夫[1,2]，和田元[3]，西田生郎[1,2]，大森正之[4]，村田紀夫[1,2]（[1]総合研究大学院大，[2]基礎生物学研究所，[3]九州大・教養，[4]東京大・教養）

16:15　1pF12　葉緑体膜糖脂質合成酵素の精製とその性質
下嶋美恵，太田啓之，増田建，塩井祐三，高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構）

16:30　1pF13　葉緑体膜糖脂質合成酵素の活性発現に必要な膜脂質
荒井健之，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）

## G会場　電気生理・イオン輸送

13:30　1pG01　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の硝酸イオン輸送体サブユニット NrtC の C 末端ドメインの機能に関する研究
小俣達男，小林正樹，堀江宣行，澤木弘道，鈴木石根（名古屋大・農・応用生物科学）

13:45　1pG02　タバコ培養細胞 *Nicotiana tabacum* BY-2 の原形質膜リン酸輸送活性：リン酸飢餓による高親和型輸送の誘導
下河原浩介，臼田秀明（帝京大・医学部・化学）

14:00　1pG03　ニチニチソウ細胞によるリン酸吸収
坂野勝啓，沖原清司，三村徹郎[1]，矢崎芳明，清田誠一郎（農水省・生物研，[1]姫路工大・生命）

14:15　1pG04　蛍光試薬を用いた細胞膜リン酸輸送担体同定への試み
沖原清司，清田誠一郎，三村徹郎[1]，坂野勝啓（農水省・生物研，[1]姫路工大・生命）

14:30　1pG05　ニチニチソウ培養細胞における親和性の異なる2種類のリン酸取り込み成分の性質

降旗敬，直井由紀，桜井英博（早稲田大・教育・生物）

14:45　1pG06　ニチニチソウ緑葉のホスファターゼの精製とその諸性質
今井宏，佐藤康之，城市篤，桜井英博（早稲田大・教育・生物）

15:00　1pG07　タバコ培養細胞 (BY-2) の原形質膜のイオン透過性と選択性に及ぼす $Ca^{2+}$ の効果
村田芳行，吉橋学，小尾一郎，角谷忠昭，池田篤治（京都大・農・農化）

15:15　1pG08　濃厚 $Ca^{2+}$-塩溶液中での *Chara* 節間細胞の原形質流動に及ぼす光と低温処理
清沢桂太郎（大阪大・基礎工・生物工学）

15:30　1pG09　原形質流動の光誘発には細胞膜 $H^+$ ポンプが関与している
原田明子，高木慎吾，永井玲子（大阪大・教養・生物）

15:45　1pG10　汽水産藻類シラタマモ節間細胞の低張処理に伴う細胞質 pH および液胞 pH の変化
岡崎芳次，岩崎尚彦（大阪医大・教養・生物）

16:00　1pG11　フラスモの興奮におけるカルシウムの役割
菊山宗弘，島田希代，新免輝男[1]（放送大・生物，[1]姫路工大・理・生命科学）

16:15　1pG12　シャジクモ節間細胞興奮の閾値電圧について
大川和秋，筒井泉雄[1]，野坂修一[2]（阪大・教養・生物，[1]岡崎生理研・生体膜，[2]滋賀医大・麻酔）

16:30　1pG13　オオムラサキツユクサ生葉の $CO_2$ ストレス応答解析
斉藤美佳子，本間知夫，根本泰行，松岡英明（東京農工大・工・応用生物）

16:45　1pG14　マメ科植物幼根の生長に伴う電位分布及びイオン濃度変化
渡邊由美，竹内賢，池澤泰成，高村勉（立教大・理・化）

## H会場　光合成　（3）

13:30　1pH01　電子伝達鎖中でのチトクローム *c'* 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[1]，岡田輝之，和田正徳（鳥取大・工・物質工，[1]京大・人間環境）

13:45　1pH02　P 700の抽出再構成は可能か？
池上勇，仲村亮正[1]，渡辺正[1]（帝京大・薬，[1]東大・生産研）

14:00　1pH03　光阻害条件下におけるシトクローム *b*-559 の酸化還元電位の変化
岩崎郁子，田村典明[1]，岡山繁樹（九大・教養・生物，[1]福岡女子大・家庭理学・植物）

14:15　1pH04　The unsaturation of membrane lipids accelerates the recovery of photosynthesis from photoinhibition
Byoung Yong Moon, Sho-Ichi Higashi, Norio Murata (Department of Regulation Biology, National Institute for Basic Biology)

14:30　1pH05　低温においてキュウリの葉に光を照射すると光化学系Ⅱではなく光化学系Ⅰが傷み，それが光合成失活の原因となる
寺島一郎，舟山幸子，園池公毅（東大・理・植物）

14:45　1pH06　キュウリの葉における光化学系Ⅰ光阻害のメカニズム
園池公毅，寺島一郎（東大・理・植物）

15:00　1pH07　光化学系Ⅱの表在性 18-kDa タンパク質の大腸菌による発現
竹内麻里子，本多修三，中嶋信美[1]，近藤矩朗[1]，桑原朋彦（筑波大・生物，[1]国立環境研）

15:15　1pH08　ホウレンソウ光化学系Ⅱ膜から精製したプロリルエンドプロテイナーゼの基質特異性
桑原朋彦，鈴木恒平（筑波大・生物）

15:30　1pH09　光化学系Ⅱの表在性 23-kDa タンパク質に作用するアスパルティックプロテアーゼ
鈴木恒平，桑原朋彦（筑波大・生物）

15:45　1pH10　ゼンマイ緑色胞子の発芽時に消失する葉緑体 20 kD 蛋白の性質とその分解
井上弘，高野篤生（富山大・理・生物）

16:00　1pH11　光化学系Ⅱカタラーゼ反応の陰イオンによる阻害
真野純一，川本邦男，G. Charles Dismukes[1]，浅田浩二（京都大・食研，[1]Princeton 大・化学）

16:15　1pH12　アジドイオンによる光化学系Ⅱ膜の電子伝達阻害
川本邦男，真野純一，浅田浩二（京都大・食研）

16:30　1pH13　マトリックス ENDOR からみたマンガンクラスター周辺の構造変化

## 第1日　3月28日（月）　[午後の部]　第2日　3月29日（火）　[午前の部]

三野広幸，河盛阿佐子（関西学院大・理）

### I会場　遺伝子発現　（2）

13:30　1pI01　*Arabidopsis thaliana* のホメオボックス (HB) を持つ遺伝子の cDNA クローンの単離と発現解析
古金谷敏之，田坂昌生，藤澤久雄（京大・理・植物）

13:45　1pI02　ニンジンのホメオボックス配列をもつ cDNA のクローニング
川原良一，駒嶺穆[1]，福田裕穂（東北大・理・生物，[1]日本女子大・理・物質生物科学）

14:00　1pI03　イネホメオボックス遺伝子 *OSH1* の発現と形質転換植物の形態変化の関係
松岡信，村上（嘉納）ゆり子[1]（生物研，[1]果樹試）

14:15　1pI04　イネの MADS ボックスのクローニング
木村貴志，永田俊文，田中正美[1]，森昌樹（農水省・九州農試，[1]熊本農研センター）

14:30　1pI05　ペチュニアの花器官特異的遺伝子群の単離とその発現様式の解析
山下博史，高野博嘉，河野重行，黒岩常祥（東京大学・理・植物）

14:45　1pI06　ヤナギ科植物にみられるヒト *SRY* に類似した DNA 塩基配列とその発現特性
篠原健司（森林総研）

15:00　1pI07　イネのエネルギー代謝関連遺伝子群の冠水ストレスに対する発現応答
梅田正明，内宮博文（東大・分生研）

15:15　1pI08　イネ Nucleoside Diphosphate Kinase の発現解析
矢野明，サマラジーワ，内宮博文（東大・分生研）

15:30　1pI09　トウモロコシ，プラスチド型グルタミン合成酵素遺伝子の発現調節機構の解析
榊原均，小林香子，杉山達夫（名古屋大・農）

15:45　1pI10　トウモロコシのグルタミン酸脱水素酵素 (GDH) cDNA のクローニングとその発現様式の解析
藤井和俊，榊原均，杉山達夫（名古屋大・農・応用生物科学）

16:00　1pI11　トウモロコシの炭素同化系と窒素同化系遺伝子発現におけるクロストーク機構の解析
榊原均，S. C. Huber[1]，鈴木石根，出路篤，杉山達夫（名古屋大・農，[1]North Carolina State Univ.）

16:15　1pI12　β-コングリシニン遺伝子を利用した植物のイオウ栄養に応答した遺伝子発現制御機構の解析
藤原徹，平井優美，松井章房，茅野充男，Philip A. Lessard[1], Roger N. Beachy[2]，内藤哲[3]（東大・農・農化，[1]Monsanto, [2]Scripps 研，[3]北大・農・応生）

16:30　1pI13　ダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子発現のイオウ栄養応答
平井（横田）優美，藤原徹，内藤哲[1]，茅野充男（東大・農・農化，[1]北大・農・応用生命科学）

16:45　1pI14　トウモロコシ亜硫酸還元酵素のタバコでの発現
米倉圭子，芦刈俊彦，久住高章，井手口隆司[1]，明石哲行[1]，長谷俊治[1]（サントリー基礎研究所，[1]大阪大・蛋白研）

## 第2日　3月29日（火）　[午前の部]

### A会場　遺伝子構造　（1）

9:00　2aA01　アラビドプシス染色体の領域特異的な cDNA ライブラリーの作製法の開発
林田信明，鷲見芳輝[1]，和田忠士[1]，半田宏[1]，篠崎一雄（理研・植物分子生物，[1]東工大・生命理工）

9:15　2aA02　シロイヌナズナのサイクロフィリン／ペプチジル-プロリルイソメラーゼ遺伝子のクローニングと構造解析
中川強，斉藤武[1]，芦田裕之，川向誠[1]，落合英夫[1]，松田英幸[1]（島根大・遺伝子，[1]島根大・農・応用生物機能）

9:30　2aA03　ジャスモン酸メチルによって誘導されるサツマイモのタンパク質イポメリンの構造と遺伝子発現
今西俊介，中村研三（名大・農・生化）

9:45　2aA04　ニセアカシアレクチン遺伝子のクローニング

吉田和正，田崎清（農水省・森林総研）

10:00　2aA05　アサガオの絞り模様形成に関与する易変性遺伝子 *a-3$^f$* の構造
久富恵世，稲垣善茂[1]，飯田滋（東理大・基礎工，[1]東大・薬）

10:15　2aA06　アサガオのアントシアニン色素遺伝子 DFR-B の構造
高橋咲子，稲垣善茂[1]，浅野正寛，飯田滋（東理大・基礎工・生物工，[1]東大・薬）

10:30　2aA07　アサガオの易変性遺伝子 *a-3$^f$* 中に見出されたトランスポゾン *Tpn1* の構造
星野敦，稲垣善茂[1]，飯田滋（東理大・基礎工，[1]東大・薬）

10:45　2aA08　キュウリ子葉からの *hemA* 遺伝子のクローニング
田中亮一，中屋敷徹[1]，増田建[2]，井口八郎[1]，辻英夫（京大・理・植物，[1]生物物理，[2]東工大・生命理工・生体機構）

11:00　2aA09　イネの ADP リボシル化因子ホモログ cDNA の単離と構造解析
肥後健一，肥後ひろみ，岸本直己，斎藤彰[1]（農水省・生物資源研，[1]農水省・九州農試・作物開発部）

11:15　2aA10　イネ Ferredoxin-NADP$^+$ reductase の器官特異的 cDNA 及びその核遺伝子の構造解析
青木秀之，土山直美，田中國介[1]，井田正二（京都大・食研，[1]京都府大・農・農化）

11:30　2aA11　イネ器官特異的フェレドキシン cDNA とその遺伝子のクローニング
土山直美，梶原寛之，大森健司，井田正二，田中國介[1]（京大・食研，[1]京都府大・農化）

11:45　2aA12　イネ科植物ミトコンドリアゲノムの葉緑体配列の変動性
渡辺奈津，中園幹生，堤伸浩，平井篤志（東京大・農・農業生物）

## B会場　光合成　（4）

9:00　2aB01　RuBisCO が示す fallover の可逆反応解析とそのモデルによる検証
村山寛[2]，和田野晃[2]，横田明穂[1]（[1]地球環境研 RITE，[2]大阪府大・農化）

9:15　2aB02　ラン藻光合成の $CO_2$ 濃度変化に対する調節機構について
佐藤良平，姫野道夫，和田野晃（大阪府大・農・農化）

9:30　2aB03　藻類の光合成 $CO_2$ 固定関連チオール酵素の活性調節機構
武田徹，岡本剛，石川孝博，重岡成，平山修（近畿大・農・食栄）

9:45　2aB04　トウモロコシ葉における凍結融解により誘引されるホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼとリブロース1,5-ジリン酸カルボキシラーゼの不活性化と分解について
臼田秀明，下河原浩介（帝京大・医）

10:00　2aB05　*Spartina anglica* および *Zoysia japonica* のホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼの精製と性質
松葉恭一，今泉信之，鮫島宗明[1]，金子誠二，大杉立[1]（ジャパンターフグラス，[1]農水省・生物研）

10:15　2aB06　クラミドモナスのホスホグリコール酸ホスファターゼ欠損突然変異株を用いた光合成能の改善
鈴木健策（農水省・東北農試・生理生態）

10:30　2aB07　トウモロコシ葉肉細胞葉緑体への $H^+$/ピルビン酸共輸送における PEP の役割
青木直大，大西純一，金井龍二（埼玉大・理・生化）

10:45　2aB08　円石藻 *Emiliania huxleyi* の光合成および $CaCO_3$ 生成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）

11:00　2aB09　溶存炭酸ガス測定法の開発とその方法を用いた葉緑体の炭酸ガス取り込みの測定
高橋正昭，島津一樹（甲南大・理・生物）

11:15　2aB10　ラン藻の無機炭素濃縮機構のキネティックス
和田野晃，松島好見（大阪府立大・農・農芸化学）

11:30　2aB11　A gene (*ccmA*) required for carboxysome formation in *Synechocystis* PCC6803
Teruo Ogawa, Eduardo Marco[1], M. Isabel Orus[1] (Solar Energy Research Group, The Inst. of Phys. & Chem. Res. (Riken), [1]Dept. Biol., Faculty Sci., Univ. Autonoma de Madrid)

11:45　2aB12　*Eleocharis vivipara* における炭酸固定酵素遺伝子の発現とクランツ構造の形態形成との関連性
内野彰，石井龍一，松岡信[1]（東大・農，[1]農水省・生物研）

## 第2日　3月29日（火）　［午前の部］

### D会場　環境応答　（3）

9:00　2aD01　活性酸素ストレスによるグルタチオン還元酵素の遺伝子発現
田中浄，五十嵐隆夫，李増周，別府敏夫[1]，青野光子，久保明弘（国立環境研究所・生物，[1]西東京科学大学）

9:15　2aD02　ホウレンソウチラコイド膜での CuZn-スーパーオキシドジスムターゼの免疫金標識法による検出
小川健一，金松澄雄[1]，浅田浩二[2]（京大・理・植物，[1]南九州大・食品工，[2]京大・食研）

9:30　2aD03　フタバネゼニゴケ培養細胞の細胞質型 Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD) の不活性化
田中克幸，滝尾進，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

9:45　2aD04　無傷ホウレンソウ葉緑体でのモノデヒドロアスコルビン酸ラジカルの光による生成及び消去
多田孝清，三宅親弘，U. Schreiber[1]，浅田浩二（京大・食研，[1]Würzburg 大）

10:00　2aD05　アスコルビン酸非存在下でのアスコルビン酸ペルオキシダーゼの失活機構
三宅親弘，浅田浩二（京都大・食研）

10:15　2aD06　イネ ascorbate peroxidase の組織局在性および水中芽生えの酸素適応時の消長
丑丸敬史，小柴共一[1]，辻英夫（京都大・理・植物，[1]都立大・理・生物）

10:30　2aD07　イネカタラーゼ cDNA の単離と酸素適応過程におけるその発現
森田重人，田坂昌生，藤澤久雄，丑丸敬史，辻英夫（京都大・理・植物）

10:45　2aD08　亜硝酸共存下でのペルオキシダーゼ反応によるクロロフィルの分解
山下澄子，河野泰久[1]，柴田均（島根大・農・応用生物機能学，[1]鳥取大・医・細菌）

11:00　2aD09　ラン藻 *Synechococcus* PCC 7942 の亜硝酸還元酵素活性の $CO_2$ 制限条件下における不活性化
鈴木石根，杉山達夫，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

11:15　2aD10　*Chlamydomonas reinhardtii* による $H_2SO_3$ 取り込みと光阻害
桜井英博，Supreeya Pomprasirt（早稲田大・教育・生物）

11:30　2aD11　リン酸化・脱リン酸化によるコマツナ葉硝酸還元酵素の光環境応答
小島道子，杉本敏男，南森隆司，王子善清（神戸大・農・植物栄養）

### E会場　オルガネラ　（2）

9:00　2aE01　タバコ培養細胞の分子量 69 kDa 原色素体 DNA 結合タンパク質の cDNA クローニング
本間知夫，清水紀男，松岡英明，根本泰行，高橋陽介[1]，長田敏行[1]（東京農工大・工・応用生物工学，[1]東京大・理・植物）

9:15　2aE02　タバコ培養細胞 BY-2 の原色素体 DNA 結合タンパク質と色素体 DNA の結合
白石達哉，本間知夫，松岡英明，根本泰行（東京農工大・工・応用生物工学）

9:30　2aE03　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の *secA* 遺伝子の単離と発現産物の細胞内局在部位の解析
野原哲矢，中井正人，杉田大悟，遠藤斗志也（名大・理・化学）

9:45　2aE04　トウモロコシ・フェレドキシン前駆体の葉緑体への輸送解析
廣橋利哉，藤田祐一，長谷俊治（阪大・蛋白研）

10:00　2aE05　葉緑体包膜に含まれる DNA 結合タンパク質の分析
佐藤直樹，吉田真琴，J. Joyard[1]，R. Douce[1]（東京学芸大・生命科学，[1]CENG・フランス）

10:15　2aE06　苔類培養細胞の葉緑体 DNA のメチル化部位の同定
生田和江，滝尾進，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

10:30　2aE07　タバコ緑色培養細胞における葉緑体核様体の新規 DNA 結合性タンパク質の cDNA クローニング
中野雄司，秋月岳，佐藤文彦，山田康之（京大・農・農化）

10:45　2aE08　ワラビ葉緑体ゲノム上の accD 相同配列の構造と発現——シダ葉緑体における RNA editing の可能性——
江尻成美，山田恭司（富山大・理・生物）

11:00　2aE09　クロマツ葉緑体における RNA エディティング
若杉達也，広瀬哲郎，續伯彦[1]，Hans Kössel[2]，杉浦昌弘（名大・遺伝子，[1]愛知学院大，[2]フライブルグ大・生物研）

11:15　2aE10　進化的に保存された高等植物色素体の RNA エディッティング部位の解析

広瀬哲郎，若杉達也，続伯彦[1]，Hans Kössel[2]，杉浦昌弘（名大・遺伝子，[1]愛知学院大，[2]フライブルグ大・生物研）

11:30　2aE11　緑化過程におけるオオムギプラスチドリボソームタンパク質のコピー数の変動
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）

11:45　2aE12　イネ種子貯蔵タンパク質の集積に対するシグナル配列の役割
増村威宏，高橋一恵，中氏恵美，田中國介（京府大・農・農化）

## F会場　成長制御　（1）

9:00　2aF01　種子休眠を失ったコムギ突然変異系統の種子胚で失われたタンパク質とmRNA
川上直人，野田和彦（横浜市大・木原生研）

9:15　2aF02　コムギの1回結実性老化を制御する内生因子について
幸田泰則，木下浩司，高橋肇[1]，喜久田嘉郎（北大・農・植物，[1]作物）

9:30　2aF03　ダイズ下胚軸切片におけるオーキシン誘導性遺伝子の単離
橋本博支，山本興太朗[1]（北大・理・植物，[1]北大・地球環境科学・環境分子生物）

9:45　2aF04　先端成長細胞における RGD ペプチドの効果
野末一成，和田正三（都立大・理・生物）

10:00　2aF05　酸生長下の水輸送
加藤潔，水野暁子[1]（名大・情報文化・自然情報，[1]日本福祉大）

10:15　2aF06　圧力ジャンプ法によるトウモロコシ中胚軸，成長パラメーターの解析
小川幹弘，岡本尚（横浜市大・文理・生物）

10:30　2aF07　しだれ性のサクラおよびモモにおける，枝の屈曲と細胞壁成分におよぼす $GA_3$, $GA_4$ の影響
中村輝子，早乙女真紀，足立香織，荻原恵美子，尾見知子，武輝美，横山敏孝[1]（日本女子大・理，[1]森林総研・多摩）

10:45　2aF08　ヤマザクラの低温湿層処理および発芽過程における IAA と IAM の存在と作用
早乙女真紀，中村輝子（日本女子大・理）

11:00　2aF09　トウモロコシ細胞壁蛋白質の代謝・成長調節機能
井上雅裕，ネビンス・ドナルド[1]（愛媛大・理・生物，[1]カリフォルニア大・デイビス校・ベジタブルクロプス）

11:15　2aF10　インゲン (*Phaseolus vulgaris* L.) の茎の空洞化現象におよぼす接触刺激とジベレリンの影響
高野守，高橋秀幸，菅洋（東北大・遺伝生態研究センター）

11:30　2aF11　無傷トウモロコシ幼葉鞘における成長制御：オーキシン濃度によるオーキシン輸送フィードバック制御の関与
飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

11:45　2aF12　栄養成長期に節間伸長をおこなうイネの突然変異体に特異的なタンパク質の検出
青木俊夫，亀谷七七子，中村郁郎（岩手生物工学研究センター）

## G会場　情報伝達　（1）

9:00　2aG01　ヒメフラスモの細胞質水和による細胞内 $Ca^{2+}$ 動員
田沢仁，菊山宗弘[1]，島田希代[1]（福井工大・応用理化，[1]放送大）

9:15　2aG02　黄化アサガオ胚軸膜タンパク質のリン酸化とカルモデュリンについて
坂本光，柴田幸子（北里大・薬）

9:30　2aG03　大腸菌 K-12 株由来 L 型菌 NC-7 の増殖における $Ca^{2+}$ とカルモデュリン阻害剤の効果について
賀屋秀隆，小野田哲夫，大島朗伸（島根大・理・生物）

9:45　2aG04　ニンジン培養細胞における cAMP の代謝と cAMP 感受性カチオンチャンネルの制御
無城博，黒崎文也，西荒介（富山医科薬科大・薬）

10:00　2aG05　藍藻 *Anabaena cylindrica* のアデニル酸シクラーゼ遺伝子の単離
片山光徳，和田洋，大森正之（東大・教養・生物）

## 第2日　3月29日（火）　［午前の部］

10:15　2aG06　高速液体クロマトグラフィーを用いたホスホリパーゼCにより分解されたイノシトールリン酸の分析
Gerhard A. De Ruiter，田中敬一（農水省・果樹試）

10:30　2aG07　アカパンカビにおいて青色光によりリン酸化されるタンパク質 ps15 の解析——二次元電気泳動による解析と部分精製
小田和司，市村和也，府川幹典，蓮沼仰嗣（横浜市大・木原生研）

10:45　2aG08　イネ培養細胞における糖質性エリシターシグナルの伝達とタンパク質リン酸化反応
朽津和幸，小松節子，平野久，渋谷直人（農水省・生物研）

11:00　2aG09　タバコ培養細胞におけるプロテインキナーゼによるエリシターシグナル伝達機構の解析
鈴木馨，進士秀明（工技院・生命研・植物分子生物）

11:15　2aG10　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(CDPK)：精製酵素の自己リン酸化および cDNA のクローニング
湯浅高志[1,2]，高橋宏二[1,2]，武藤尚志[2,3]（[1]東京大・理学系研究科，[2]名大・農学研究科，[3]名大・生物分子応答研究センター）

11:30　2aG11　傷により活性化されるタバコ 46-kDa キナーゼの解析
宇佐美昭二，坂野弘美，町田泰則（名大・理・生物）

11:45　2aG12　サイトカイニンに応答するプロテインキナーゼ
佐野浩，Youssefian Shohab，工藤まり子（秋田県立農短大・生工研）

## H会場　光合成　（5）

9:00　2aH01　FT-IR による酸素発生系の構造の解析：Mn-カルボキシル基-Ca 架橋構造の存在
野口巧，小野高明，井上頼直（理研・太陽光科学）

9:15　2aH02　光合成酸素発生，反応中間状態の X 線吸収法による研究
小野高明，野口巧，井上頼直，楠正美[1]，山口博隆[2]，大柳宏之[2]（理研・太陽光科学，[1] 明大・理工，[2]電総研）

9:30　2aH03　酸素発生標品の表在性蛋白の固定化による Mn や Ca の安定化
榎並勲，加藤栄[1]（東理大・理・生物，[1]東邦大・理・生物）

9:45　2aH04　熱処理による酸素発生の失活と系Ⅱ膜標品の会合に及ぼす表在性蛋白の固定化，膜標品の濃度，$CaCl_2$ およびジギトニンの影響
榎並勲，太田尚孝，加藤栄[1]（東理大・理・生物，[1]東邦大・理・生物）

10:00　2aH05　新しいパルス EPR 法による光化学系Ⅱの常磁性種間の距離決定
河盛阿佐子，小寺義男，原英之，Sergei A. Dzuba[1]（関西学院大・理，[1]ロシア科学アカデミー）

10:15　2aH06　シアノバクテリア *Synechococcus* PCC7002 の酸素発生の熱安定性におけるシトクロム *c*-550 の役割
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）

10:30　2aH07　トリス処理光化学系Ⅱ粒子・酸素発生系の光再活性化に伴うチトクロム *b*-559 の光酸化還元特性の変化
水澤直樹，長友武彦，山下巍（筑波大・生物）

10:45　2aH08　水分解複合体の光活性化に対する化学修飾剤の効果
田村典明，野見山香，小河亜紀子（福岡女子大・生物）

11:00　2aH09　暗所で生育されたトウヒにおける光化学系Ⅱ酸化側の光阻害
蒲池浩之，奥達雄，田村典明[1]（九大・農・林，[1]福岡女子大・生物）

11:15　2aH10　遺伝子組換型 Mn 安定化蛋白質の産生とその性質
平野昌彦，元木章裕，岡本元一，小方久美子，金井正三，加藤栄[1]（東レリサーチセンター，[1]東邦大・理・生物）

11:30　2aH11　系Ⅱ膜標品での系Ⅱタンパク質の分解
池内昌彦（東京大・教養・生物）

11:45　2aH12　光化学系Ⅱ還元側の光障害に対する電子伝達系阻害剤の効果
中島芳浩[1]，小野高明[2]，吉田茂男[3]，井上頼直[1,2]（[1]埼玉大学大学院・理工学研究科，[2]理化学研究所・太陽光エネルギー科学研究グループ，[3]植物機能研究室）

12:00　2aH13　L タンパク質による PSⅡ 第一キノン電子受容体 $Q_A$ の活性化機構——L タンパク質の作用部位と光リン酸

## 第2日　3月29日（火）　［午前の部］　［午後の部］

化——

小澤真一郎，北村晃司，豊島喜則（京大大学院・人間・環境学）

### I会場　遺伝子発現　（3）

9:00　2aI01　Regulation of the expression of the cyanobacterial desaturase gene by membrane fluidity
Dmitry A. Los, Laszlo Vigh, Norio Murata (National Institure for Basic Biology)

9:15　2aI02　タバコの脂質転移タンパク質遺伝子をセンス方向で組み込んだ形質転換タバコの解析
山田晃弘，榊剛，江原友子[1]，長舩哲斉[1]，増田税[2]，小岩井晃[2]（北海道東海大・工・生物工，[1]東京医大・微生物，[2]日本たばこ・生命研）

9:30　2aI03　トランスジェニックアラビドプシスを用いた植物メタロチオネイン様タンパク質遺伝子の発現解析
堀口達矢，高橋啓史郎，藤原徹，森敏，茅野充男（東大・農・農化）

9:45　2aI04　酵母変異株，及び形質転換シロイヌナズナを利用した植物メタロチオネイン様遺伝子の解析
赤星英一，高橋啓史郎，森敏，藤原徹，茅野充男（東大・農・農芸化学・植物栄養肥料）

10:00　2aI05　コムギO-アセチルセリン（チオール）リアーゼ遺伝子を導入したタバコの硫化水素抵抗性
ユーセフィアン・ショハブ，中村道美，佐野浩（秋田県立農業短期大・生物工学研究所）

10:15　2aI06　シロイヌナズナ rd22 遺伝子の乾燥による誘導に必要な制御領域の解析
岩崎俊介[1]，篠崎和子[1,2]，篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子生物，[2]農水省・国際農研）

10:30　2aI07　乾燥応答に関与する転写因子 ATMYB2 のリン酸化・脱リン酸化による DNA 結合活性の制御
浦尾剛[1,2]，溝口剛[1,3]，篠崎和子[4]，篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子生物，[2]大同ほくさん・中研，[3]筑波大・生物，[4]農水省・国際農研）

10:45　2aI08　アラビドプシスにおける桂皮酸 4 水酸化活性をもつ P450 と NADPH-CytP450 還元酵素の発現制御
水谷正治[1]，Eric Ward[2]，太田大策[1]，佐藤了[1]（[1]日本チバガイギー国際科学研究所，[2]Agricultural Biotechnology Research Unit, Ciba-Geigy Corp. USA）

11:00　2aI09　*Ipomoea leucancha* 花弁で発現するヘリックス・ループ・ヘリックス (bHLH) 型転写因子 cDNA のクローニング
服部束穂，保浦徳昇，森上敦[1]（三重大・遺伝子，[1]名大・農・生化）

11:15　2aI10　ハツカダイコン懸濁培養系における細胞質局在型グルタミン合成酵素遺伝子の発現制御機構の解析
渡辺明夫，高木規子，渡辺昭[1,2]（名大・農・生化学制御専攻，[1]生物分子応答研究センター，[2]現・東大・理・植物）

11:30　2aI11　セネッセンス時に発現するハツカダイコン細胞質局在型グルタミン合成酵素遺伝子のタバコへの導入
上口（田中）美弥子，渡辺昭[1]（名大・農・生化学制御，[1]現・東大・理・植物）

11:45　2aI12　ハツカダイコンの老化特異遺伝子 *din*1 の暗処理誘導に必要なシス配列の解析
安積良隆，三浦正明，鈴木秀穂（神奈川大・理・応用生物）

## 第2日　3月29日（火）　［午後の部］

### A会場　呼吸・電子伝達

13:30　2pA01　プラストシアニンの acidic patch の site directed mutagenesis
Lee Byung Hyun[1]，日比野隆，高倍昭洋（名城大・理工・化学，[1]名古屋大・生物分子応答センター）

13:45　2pA02　プラストシアニンの銅配位子メチオニン残基の site directed mutagenesis
日比野隆，Lee Byung Hyun[1]，高倍昭洋（名城大・理工・化学，[1]名古屋大・生物分子応答センター）

14:00　2pA03　トウモロコシ・フェレドキシンイソ蛋白質の cDNA クローニングと構造及び機能解析
松村智裕，長谷俊治，村田博，高尾敏文，下西康嗣（阪大・蛋白研）

14:15　2pA04　塩ストレスによる光化学系Ⅰの循環的電子伝達系の活性化
日比野隆，加藤彰[1]，高倍鉄子[1]，高倍昭洋（名城大・理工・化，[1]名古屋大・生物分子応答センター）

## 第2日　3月29日（火）　［午後の部］

14:30　2pA05　$C_3$ および $C_4$ 植物でのフェレドキシン依存循環的電子伝達
三宅親弘，Henning Hormann[1]，Ulrich Schreiber[1]，浅田浩二（京都大・食研，[1]Würzburg Univ.）

14:45　2pA06　*Synechocystis* 6803のチラコイド膜での NDH に依存する電子伝達系
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 大，[2]理研・太陽光科学）

15:00　2pA07　緑藻，ラン藻でのクロロレスピレイションの環境応答
遠藤剛，米華玲，U. Schreiber[1]，浅田浩二（京都大・食研，[1]Universität Würzburg）

15:15　2pA08　植物チラコイド膜プラストキノンへの NADPH からの電子供与
三宅親弘，小川健一[1]，Ulrich Schreiber[2]，浅田浩二（京都大・食研，[1]京都大・理・植物，[2]Würzburg Univ.）

## B会場　光合成　（6）

13:30　2pB01　*Synechococcus* PCC7942 株におけるカーボニックアンヒドラーゼ活性の調節
鈴木英治（茨城大・理・生物）

13:45　2pB02　単細胞性紅藻 *Porphyridium purpureum* のカーボニックアンヒドラーゼの cDNA cloning
三橋敏，宮地重遠（海洋バイオテクノロジー研究所）

14:00　2pB03　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 炭酸脱水酵素遺伝子上流域の機能解析
福澤秀哉，植村康一，大山莞爾（京大・農化）

14:15　2pB04　ダイズ植物個体に於ける光合成 source-sink 機構に関する研究
沢田信一，戸津高明，榎本聡堤，葛西身延（弘前大・理・生）

14:30　2pB05　イネ葉の高 $CO_2$ 分圧条件下における光合成速度の律速因子について
日出間純[1]，牧野周，佐藤一志，小島邦彦，前忠彦（[1]東北大・遺生研，東北大・農・農化）

14:45　2pB06　In vitro 培養された完全寄生植物ネナシカズラの光合成能
古橋勝久，三宅博[1]，柴田優[2]，山田恭司[2]（新潟大・理・生物，[1]名古屋大・農・生物資源，[2]富山大・理・生物）

15:00　2pB07　葉の濡れによる光合成の不可逆的な阻害およびその解析
石橋百枝，寺島一郎（東大・理・植物）

## C会場　遺伝子操作

13:30　2pC01　酵母 *Saccharomyces exiguus* に対して高い形質転換能を有する DNA 断片の機能解析
久冨泰資，和田裕，壷井基夫（福山大・工・生物工学）

13:45　2pC02　パーティクルガン法により得られた形質転換体の染色体 DNA における外来遺伝子組込み部位の塩基配列の決定と解析（1）
清水克哉，川上茂樹，山田隆[1]，五島直樹[2]，田中俊憲，入船浩平，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学，[1]広島大・工，[2]京都薬大・生命研）

14:00　2pC03　パーティクルガン法により得られた形質転換体の染色体 DNA における外来遺伝子組込み部位の塩基配列の決定と解析（2）
川上茂樹，清水克哉，田中俊憲，入船浩平，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

14:15　2pC04　苗条原基形成を利用したユーカリの形質転換
河津哲，伊藤一弥，土肥敬悟，辻真理子，園田哲也，柴田勝（新王子製紙・林木育種研究所）

14:30　2pC05　酵母から植物細胞への直接的な DNA 導入法の確立
初山慶道，寿永七月男，土生芳樹，石川雅之，川本伸一，内藤哲，大野哮司（北大・農・応用生命科学）

14:45　2pC06　ヘアピン型リボザイムを用いた遺伝子発現抑制法の開発の試み
久松伸[1,2]，其木茂則[1]，菊池洋[2]（[1]麻布大・環境保健，[2]三菱化成・生命研）

15:00　2pC07　シロイヌナズナ及び小麦イミダゾールグリセロールリン酸デヒドラターゼ cDNA の単離と構造解析
多田幸代，Sandra Volrath[1]，David Guyer[1]，Alfred Scheidegger，John Ryals[1]，太田大策，Eric

Ward[1]（日本チバガイギー㈱国際科学研究所，[1]Ciba-Geigy Corp., U.S.A.）

15:15　2pC08　植物のイミダゾールグリセロールリン酸デヒドラターゼのバキュロウイルス発現系による大量発現
多田幸代，波多野美香，Sandra Volrath[1]，Eric Ward[1]，太田大策（日本チバガイギー㈱国際科学研究所，[1]Ciba-Geigy Corp., U.S.A.）

## D会場　環境応答　（4）

13:30　2pD01　*N. sylvestris* オスモチン様タンパク質遺伝子の発現制御領域の解析
佐藤文彦，北島サキト，小岩尚志，山田康之（京都大・農・農化）

13:45　2pD02　トマト Lipid transfer protein 遺伝子の発生段階および環境に制御された発現
今井亮三[1,2]，Meena, S. Moses[1]，高木正道[2]，Elizabeth A. Bray[1]（[1]Botany Dept., U. C. Riverside, [2]東大・農・農化）

14:00　2pD03　短時間の乾燥ストレスにより誘導されるシロイヌナズナ遺伝子群 cDNA (ERD10, 11, 13, 14) の解析
清末知宏，篠崎和子[1]，篠崎一雄（理研・植物分子生物，[1]農水省・国際農研）

14:15　2pD04　好熱性ランソウの熱ショック蛋白について
檜山哲夫，藤正則，椙谷康一，市川久詞，仲本準（埼玉大・理・生化）

14:30　2pD05　好熱性ランソウ Synechococcus vulcanus の熱ショックタンパク質遺伝子
仲本準，田中直樹，檜山哲夫（埼玉大・理・生化）

14:45　2pD06　ラン藻の熱ショックタンパク質遺伝子の解析およびその形質転換体の作成
林秀則，村田紀夫（基生研）

## E会場　オルガネラ　（3）

13:30　2pE01　サツマイモ β-アミラーゼの細胞内局在部位
松岡健[1]，佐藤豊[1]，高木規子[1]，武内由佳[2]，西村いく子[2]，西村幹夫[2]，中村研三[1]（[1]名大・農・生化，[2]基生研・細胞機構）

13:45　2pE02　サツマイモ培養細胞における液胞内蛋白質 (VP24) の発現とアントシアニン集積における役割
野末雅之，久保浩義，山田健志，近藤真紀[1]，林誠[1]，西村幹夫[1]，安田齊（信州大・理・生，[1]基生研・細胞生物）

14:00　2pE03　カボチャ種子プロテインボディの膜貫通型タンパク質
井上香織[1,2]，武内由佳[1]，西村いくこ[1]，西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物，[2]総研大・生命科学）

14:15　2pE04　発芽カボチャ子葉で発現されるアコニターゼの機能
林誠，西村幹夫（基生研・細胞生物）

14:30　2pE05　ヒマ種子の液胞プロセシング酵素の構造と活性化機構
西村いくこ，西村幹夫（基生研・細胞生物）

14:45　2pE06　ヒマ種子にみられる酵母プロテイナーゼ A 様のカルボキシルプロテアーゼ
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・生命科学）

15:00　2pE07　酵母の液胞膜融合過程に関与する Vam3p の機能
和田洋，大隅良典（東大・教養・生物）

15:15　2pE08　リン酸代謝における液胞の生理機能の解析
白浜佳苗[1]，矢崎芳明[2]，朽津和幸[2]，坂野勝啓[2]，大隅良典[1]（[1]東大・教養・生物，[2]農水省・生物研）

## F会場　成長制御　（2）

13:30　2pF01　水中並びに気中培養イネ幼葉鞘の成長とアブシジン酸含量
保尊隆享，増田芳雄[1]，P. E. Pilet[2]（大阪市大・理・生物，[1]帝塚山短大・食品，[2]ローザンヌ大）

13:45　2pF02　アカパンカビの原形質流動速度におよぼすオーキシン，ジベレリンおよびサイトカイニンの作用
富田香織，鈴木美香[1]，高城陽子[1]，中村卓造，中村輝子[1]（昭和薬大・生物，[1]日女大・理・物生）

14:00　2pF03　エンドウ芽生えの茎伸長部域におけるジベレリンによる糖蓄積促進とインベルターゼ活性の上昇

——インベルターゼの精製——
宮本健助，居原秀，上田純一，神阪盛一郎[1]（大阪府立大・総科・生命，[1]大阪市大・理・生物）

14:15　2pF04　トウモロコシ芽生え葉のインベルターゼ活性の発現とジベレリンとの関係
三橋渉，神谷勇治（理研・フロンティア・ホルモン機能）

14:30　2pF05　イネ由来インベルターゼのモノクローナル抗体の作製
石沢公明（東北大・理・生物）

14:45　2pF06　ダイコン胚軸における重力屈性の感知機構
三田高志，三好泰博[1]（静岡県立大・食品栄養，[1]静岡県立大・国際関係）

15:00　2pF07　シロイヌナズナの茎の重力屈性反応の解析
深城英弘，田坂昌生，藤澤久雄（京大・理・植物）

15:15　2pF08　シロイヌナズナの茎の重力屈性異常突然変異株の単離
深城英弘，田坂昌生，藤澤久雄（京大・理・植物）

## G会場　情報伝達　（2）

13:30　2pG01　乾燥により誘導されるシロイヌナズナのカルシウム依存性プロテインキナーゼのクローニングと機能解析
片桐健[1,2]，浦尾剛[1,3]，溝口剛[1,4]，篠崎和子[1,5]，林田信明[1]，平山隆志[1]，遠藤織太郎[2]，篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子，[2]筑波大・農林，[3]大同ほくさん，[4]筑波大・生物，[5]農水省・国際農研）

13:45　2pG02　葉緑体 ribonucleoprotein (RNP)-mRNA 複合体の生理機能調節におけるカゼインキナーゼII (CK-II) の果たす役割
金勝一樹，道家建二郎，宗像浩[1]，川上一茂[2]，大槻健蔵[2]（北里大・教養・生物，[1] 東北大・医化二，[2]北里大・衛生・遺伝生化）

14:00　2pG03　*Arabidopsis* MAP kinase family の解析
溝口剛[1,2]，林田信明[1]，篠崎和子[1,3]，鎌田博[2]，篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子，[2]筑波大・生物，[3]農水省・国際農研）

14:15　2pG04　イネ由来の低分子量 GTP 結合タンパク質遺伝子導入タバコで観察される傷ストレス異常応答
瀬尾茂美[1]，佐野浩[2]，S. Youssefian[2]，大島正弘[3]，仁木智哉[3]，石塚皓造[1]，大橋祐子[3]（[1]筑波大・応生化，[2]秋田県立農短大・生工研，[3]農水省・生物研）

14:30　2pG05　シロイヌナズナ低分子量 GTP 結合タンパク質の生化学的特徴
穴井豊昭，エバロル・T・アスプリア[1]，松井南[2]，内宮博文[1]（北大・理・植物，[1]東大・分生研・細胞機能，[2]日本医大・老研・分子生物）

14:45　2pG06　原形質連絡を通じた植物細胞間の核酸，タンパク質の移動
藤原徹，Donna Giesman-Cookmeyer[1]，Steven Lommel[1]，Biao Ding[2]，William J. Lucas[2]（東大・農・農化，[1]NCSU，[2]UCD）

## H会場　光合成　（7）

13:30　2pH01　光阻害光化学系II (PSII) に対する還元側電子伝達系の再活性化
星田尚司，豊島喜則（京大大学院・人間・環境学）

13:45　2pH02　クラミドモナス葉緑体遺伝子 *psbA* の部位特異的形質転換；光化学系II反応中心タンパク D1 の C 末切断部位のアミノ酸置換
内海恵一郎[1]，高橋裕一郎[1,2]，佐藤公行[2]（[1]岡山大・自然科学研究科，[2]岡山大・理・生物）

14:00　2pH03　架橋反応を利用した光化学系II反応中心 D1・D2 タンパク質の接触部位の解析
鞆達也，佐藤公行（基生研，岡山大・理・生物）

14:15　2pH04　合成オリゴペプチドを用いる D1 蛋白質 C 末プロセッシング酵素の作用機構の解析
田口富美子[1]，山本由弥子[1]，山下光治[1]，佐藤公行[1,2]（[1]岡山大・理・生物，[2]基生研）

14:30　2pH05　D1 タンパク質前駆体 C 末端プロセッシング酵素の精製
稲垣言要[1]，松本哲[2]，山本由弥子[2]，佐藤公行[1,2]（[1]基生研，[2]岡山大学・理・生物）

14:45　2pH06　エンドウ単離葉緑体を用いた D1 タンパク質合成の光による制御機構の解析

黒田洋詩，悴山博之[1]，佐藤公行[1,2]（岡山大・自然科学，[1]岡山大・理・生物，[2]基生研）

15:00　2pH07　過酸化水素による光化学系II D1蛋白質の暗所での分解
徳富光恵（農水省・生物資源研）

15:15　2pH08　光化学系IIから種々のベンゾキノン誘導体への電子伝達反応の解析
小池裕幸，大橋美保，菓子野康浩，佐藤和彦（姫工大・理・生命科学）

## I会場　遺伝子発現　（4）

13:30　2pI01　ヒャクニチソウ管状要素分化に関連した植物ホルモン誘導遺伝子単離の試み
高橋真人，中平洋一，出村拓，福田裕穂（東北大・理・生物）

13:45　2pI02　*arcA* 遺伝子の BY-2 における発現とオーキシン応答領域の同定
石田さらみ，高橋陽介，長田敏行（東京大学大学院・理学系研究科）

14:00　2pI03　オーキシンによって誘導される遺伝子 *parC* の転写に関わるシス領域の解析
酒井達也，高橋陽介，長田敏行（東京大学大学院・理学系研究科）

14:15　2pI04　*parB* 遺伝子のオーキシンに関するシス領域の決定とタバコ植物体での発現
高橋陽介，長田敏行（東京大学大学院・理学系）

14:30　2pI05　シカクマメ・プロテアーゼインヒビター遺伝子5′上流領域に存在する MAR の解析
南昌宏，飯哲夫，岩淵雅樹（京都大・理・植物）

14:45　2pI06　シカクマメ Kunitz 型キモトリプシンインヒビター遺伝子の発現制御機構の解析
福島久代[1]，坂田洋一[1]，船田良[2]，安部久[2]，土生芳樹[1]，内藤哲[1]（[1]北大・農・応用生命科学，[2]北大・農・森林科学）

15:00　2pI07　イネ種子発芽時におけるセリンカルボキシペプチダーゼ遺伝子の組織特異的発現
鷲尾健司，石川鑛（北大・地球環境科学・環境分子生物）

15:15　2pI08　倍数性の異なるコムギにおける Wx 遺伝子のドースと結合型デンプン合成酵素活性の関係
藤田直子，和田野晃[1]，平知明（大阪府立大・農・園農，[1]農化）



## A会場　光合成細菌　（1）

9:00　3aA01　*Rhodobacter sulfidophilus* 光捕集性色素蛋白質複合体の分光学的特徴
土井道生，岡山繁樹（九大・教養・生物）

9:15　3aA02　緑色硫黄光合成細菌 *Chlorobium tepidum* 反応中心粒子の分光学的研究
楠元範明，井上和仁[1]，富岡厚，桜井英博（早稲田大・教育・生物，[1]神奈川大・理・応用生物）

9:30　3aA03　EMS 処理によって得られた *Roseobacter denitrificans* 突然変異株の性質
高宮建一郎，倉屋芳樹，島田裕士，塩井祐三（東工大・生命理工）

9:45　3aA04　光合成細菌ロドシュードモナスピリディスのクロマトホアのカロチノイドの電場依存性バンドシフト
原正之，C. C. Moser[1]，P. L. Dutton[1]（通産省・工技院・生命工学工業技術研究所，[1]ペンシルバニア大・医）

10:00　3aA05　嫌気及び好気培養した光合成細菌 *Rubrivivax gelatinosus* の色素蛋白複合体 (LH1 と LH2) の色素組成
高市真一，嶋田敬三[1]（日本医大・生物，[1]都立大・理・生物）

10:15　3aA06　*Chloroflexus* 属の新種 *Chloroflexus aggregans* の性質とその特異的バクテリアルマット様クラスター形成
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）

10:30　3aA07　ヘキサノール処理クロロソームを用いたバクテリオクロロフィル *c* 高次構造再構成の時間経過
松浦克美，広田雅光，三室守[1]，M. Miller[2]，R. Cox[2]（都立大・理・生物，[1]基生研，[2]Odense Univ., Biochem. Inst.）

10:45　3aA08　緑色光合成細菌のクロロソームの構造と機能におけるカロチノイドの役割
辻公博，高市真一[1]，松浦克美，嶋田敬三（都立大・理・生物，[1]日本医科大・生物）

## 第3日　3月30日（水）　［午前の部］

11:00　3aA09　紅色光合成細菌の光化学反応中心複合体遺伝子の PCR 法を用いたクローニングと一次構造に基づく系統解析
永島賢治，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）

11:15　3aA10　スフェロイデンのシス-トランス異性体の $S_0$ ラマンスペクトル
河内直美，大橋直人，姜月順，九鬼導隆[1]，小山泰（関西学院大・理，[1]神戸高専・応用化学）

11:30　3aA11　Spheroidene 単量体と会合体の蛍光スペクトル
渡辺泰堂，輝吉栄治，加嶋睦之，姜月順，小山泰（関西学院大・理）

11:45　3aA12　NMR 分光法によるバクテリオクロロフィルC (BChl c) の溶媒効果
溝口正，Leenawaty Limantara, 栗本宣孝[1]，古川憲治[1]，小山泰（関西学院大・理，[1]コベルコ科研）

## B会場　細胞壁　（2）

9:00　3aB01　イネ幼葉鞘の成長と細胞壁に対するケイ皮酸誘導体の影響
鄔偉男，若林和幸，保尊隆享，神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

9:15　3aB02　コムギ幼葉鞘細胞壁結合性フェルラ酸及びジフェルラ酸量に対する水ストレスの影響
若林和幸，保尊隆享，神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

9:30　3aB03　イネ幼葉鞘の気中における成長抑制と細胞壁変化
河村幸男，若林和幸，保尊隆享，神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

9:45　3aB04　イネ幼葉鞘切片のオーキシン誘導成長と（1→3），(1→4)-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，増田芳雄[1]（大阪市大・理・生物，[1]帝塚山短大・食品）

10:00　3aB05　しだれ性のサクラの $GA_3$ による屈曲阻止における組織学的変化
馬場啓一[1]，足立香織[2]，武輝美[2]，伊東隆夫[1]，中村輝子[2]（[1]京大・木研，[2]日本女子大・理）

10:15　3aB06　フェルロイルオリゴ糖の成長阻害作用
石井忠，西島隆明[1]，掛川弘一，枝重有祐（農水省・森林総研，[1]野菜・茶試）

10:30　3aB07　カボチャの根の力学的性質と細胞壁多糖類に対するアルミニウムの影響
Hoa Le Van, 桜井直樹（広島大・総科・自然）

10:45　3aB08　カボチャとトウモロコシの根が分泌する多糖類の糖組成と土壌微生物に対する影響
黒田華織，櫻井直樹，堀越孝雄（広島大・総科・自然環境）

11:00　3aB09　タケノコ細胞壁からの（1→3，1→4）-β-D-Glucan の単離
枝重有祐，石井忠（農水省・森林総合研究所）

11:15　3aB10　形態形成能力/細胞接着性の異なるニンジン培養細胞におけるペクチン多糖の構造
菊池彰，佐藤忍，枝重有祐[1]，石井忠[1]，藤伊正（筑波大・生物，[1]農水省・森林総研）

11:30　3aB11　低温グリセリン処理ササゲ胚軸中空円筒細胞壁の，pH 依存性臨界降伏張力 (y)
岡本尚，岡本朱根（横浜市大・総合理学・分子認識）

11:45　3aB12　グリセリン処理ササゲ胚軸の細胞壁における伸長成長パラメーターに対する熱処理の効果
岡本朱根，岡本尚（横浜市大・総合理学・分子認識）

12:00　3aB13　オクラ下胚軸切片における水の移動のシミュレーション
山本良一（帝塚山短大・食品）

## D会場　環境応答　（5）

9:00　3aD01　低温誘導性転写因子をコードするトウモロコシ遺伝子
菅原和幸，Thomas Berberich, 鈴木信弘，Kripamoy Aguan, 草野友延（秋田農短大・生工研）

9:15　3aD02　ABA を含む培地で培養したコムギ培養細胞の耐凍性と凍結障害
斉藤孝之，菅原康剛（埼玉大・理・生体制御）

9:30　3aD03　コムギ懸濁培養細胞のアブシジン酸による耐凍性誘導と細胞膜タンパク質の組成変化
小池倫也，荒川圭太，吉田静夫（北大・低温研）

9:45　3aD04　低温によるヤエナリ培養細胞の液胞 pH の変化

吉田静夫（北大・低温研）

10:00　3aD05　低温耐性型液胞膜 $H^+$-ATPase の存在
母坪研已，吉田静夫（北大・低温研）

10:15　3aD06　In Vitro 実験系を用いた凍結傷害機構に関する研究
I. P. Efremov[1]，吉田静夫（[1]Yakutsk Inst. Biology, 北大・低温研）

10:30　3aD07　越冬中の小麦の耐寒性と水の物性との関係：$^1$H-NMR による研究
吉田みどり，阿部二朗，森山真久，中村義男[1]（農水省・北海道農試，[1]北大・理・液体化学）

10:45　3aD08　低温下での葉のクロロフィル蛍光と酸素発生速度の変化
大川原良次，金子誠二（㈱ジャパンターフグラス）

11:00　3aD09　フラボノイド合成関連遺伝子とダイズの耐冷性
高橋良二（北海道農業試験場）

11:15　3aD10　クロレラのハードニングによるカロチノイド含量の変化
松川治，吉元誠，波多野昌二（九州大・農・食化工）

## E会場　形態形成　（2）

9:00　3aE01　シロイヌナズナプロトプラストからの個体再生
山藤誠司，後藤伸治（宮城教育大・生物）

9:15　3aE02　シロイヌナズナの器官再分化に対するブロモデオキシウリジンの効果
杉山宗隆（東北大・理・生物）

9:30　3aE03　シロイヌナズナにおける葉身の変異株 *angustifolia* を用いた葉形態形成の解析
柘植知彦，塚谷裕一，内宮博文（東京大・分子細胞生物学研）

9:45　3aE04　シロイヌナズナのサイトカイニン高感受性突然変異体およびオーキシン高感受性突然変異体の分離の試み
柿本辰男，久保稔，佐藤圭祐，柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

10:00　3aE05　ニンジン肥大根からのカルス誘導および植物体再生
水江由佳，保田浩，増田宏志（帯広畜大・生物資源化学）

10:15　3aE06　ニンジン胚軸切片における不定胚形成について
大橋伸一，水江由佳，増田宏志（帯広畜大・生物資源化学）

10:30　3aE07　ニンジン胚軸の不定胚形成における colchicine と Con A の影響
得字圭彦，増田宏志（帯広畜産大・生物資源化学）

10:45　3aE08　ニンジン培養細胞における不定胚形成能と IAA 代謝の関係
佐々木和生，下村講一郎[1]，鎌田博，原田宏（筑波大・生物，[1]国立衛試・筑波）

11:00　3aE09　ニンジンの不定胚形成能獲得とタンパク質のリン酸化
タン・センキー，鎌田博，原田宏（筑波大・生物）

11:15　3aE10　アブラナ属種間キメラにおける形態形成
金谷潔，野口貴[1]，平田豊（農工大・一般教育，[1]東京農試）

11:30　3aE11　新たな突起形成不能株の単離とその解析
頼藤徹也，大隅良典（東大・教養・生物）

## F会場　成長調節物質　（1）

9:00　3aF01　イネにおけるポリアミン，IAA, ABA の師管転流
横田孝雄，中山真義，原沢泉，佐藤守[1]，且原真木[1]，阿部暹[1]（帝京大・理工・バイオ，[1]蚕糸昆虫研）

9:15　3aF02　シロイヌナズナを用いた種子登熱過程の遺伝学的解析
南原英司[1,2]，Kallie Keith[3]，Peter McCourt[3]，内藤哲[2]（[1]名古屋大・農・生化学制御，[2]北海道大・農・応用生命科学，[3]トロント大・植物）

9:30　3aF03　メロン果実の成熟初期過程のエチレン生成について
山本光章，石木康史，平林哲夫[1]，中川弘毅，佐藤隆英（千葉大園芸，[1]園芸生産研）

## 第3日　3月30日（水）　［午前の部］

9:45　3aF04　cDNA Cloning for auxin-inducible ACC synthase from mungbean seedlings
I. S. Yoon, H. Mori, B. G. Kang[1] and H. Imaseki (Sch. Agr. Sci., Nagoya Univ., [1]Dept. Biol. Sci., Yonsei Univ.)

10:00　3aF05　短半減期の反応機構依存性不活性化反応を受ける ACC 合成酵素のトマト緑色組織における存在
佐藤茂（東北大・農・生物生産）

10:15　3aF06　キュウリのサイトカイニン抑制遺伝子 *CR9* と *CR20* の発現：いくつかの特徴とその比較
寺本陽彦，遠山知子，竹葉剛[1]，辻英夫（京都大・理・植物，[1]京都府大・生活科学・応用生物）

10:30　3aF07　サイトカイニン処理2時間で抑制される遺伝子のクローニング
遠山知子，寺本陽彦，竹葉剛[1]，辻英夫（京都大・理・植物，[1]京都府大・生活科学・応用生物）

10:45　3aF08　サイトカイニンレセプターとみられる高親和性サイトカイニン特異的結合蛋白
永田龍二，橋本祐一[1]，首藤紘一（東大・薬，[1]東大・分生研）

11:00　3aF09　タバコのサイトカイニン結合蛋白質の構造と局在
三井真一，若杉達也，杉浦昌弘（名大・遺伝子）

11:15　3aF10　トウモロコシ (*Zea mays* L.) 幼葉鞘先端における L-トリプトファンからのインドール-3-酢酸の生合成
小柴共一，神谷勇治[1]，飯野盛利[2]（都立大・理・生物，[1]理研・フロンティア・ホルモン機能，[2]大阪市大・理・植物園）

11:30　3aF11　矮性と正常オオムギのインドール酢酸の合成・分解系酵素の活性比較
鶴崎健一，村田靖雄，桜井直樹（広島大・総科・自然）

11:45　3aF12　イネカルスよりインドールアセトアミドヒドロラーゼの精製とその性質について
荒井嘉貴，生田安喜良[1]，川口正代司[2]，庄野邦彦[2]（東理大・基礎工・生物工，[1]東理大・生命研，[2]東大・教養・基礎科学）

12:00　3aF13　*Nicotiana tabacum* 培養細胞における核内プロテインキナーゼ活性のオーキシンによる制御
北川峰丈，酒井慎吾（筑波大・生物）

## G会場　蛋白質・酵素　（1）

9:00　3aG01　スギの針葉および雄花におけるリポキシゲナーゼ活性の季節変化
小塩海平，高橋久光，太田保夫（東京農大・農・国際農業開発）

9:15　3aG02　キュウリ実生リポキシゲナーゼ発現制御機構の解析
松井健二，津留英治，梶原忠彦，畑中顯和，長谷俊治[1]（山口大・農・応生化，[1]大阪大・蛋白研）

9:30　3aG03　病害抵抗性発現時にジャスモン酸合成が光によって制御されている可能性について
白野由美子，柴田大輔（三井植物バイオ研究所）

9:45　3aG04　L-ガラクトノ-γ-ラクトンデヒドロゲナーゼの精製と性質
大羽和子，中野淳子（名古屋女大・家政）

10:00　3aG05　イネ篩管液に存在するチオレドキシンの解析
石渡裕，中村進一，林浩昭，森敏，茅野充男（東大・農・農化）

10:15　3aG06　ニンジン培養細胞からの DAHP synthase-Co の精製
鈴木菜穂，作田正明，清水碩（お茶の水大・理・生物）

10:30　3aG07　イネ穎果におけるグルタミン酸合成酵素群の組織内分布
早川俊彦，中村貞二[1]，山谷知行（東北大・農・細胞生化学，[1]東北大・農・作物学）

10:45　3aG08　トウモロコシ葉 PEP カルボキシラーゼをリン酸化するプロテインキナーゼの部分精製とその分子的性質
藪田尚弘，小川紀之，泉井桂（京都大・農・農生）

11:00　3aG09　トマト果実におけるフェレドキシン-アイソプロテインの蓄積の制御
青木考，和田敬四郎（金沢大・理・生物）

11:15　3aG10　キュウリアスコルビン酸ペルオキシダーゼの cDNA クローニング
尼子克己，佐野智，三宅親弘，曹婉紅，浅田浩二（京都大・食研）

11:30　3aG11　大腸菌で発現させたキュウリモノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼの性質
佐野智，浅田浩二[1]（RITE，[1]京都大・食研）

11:45　3aG12　エンドウ aspartate kinase の cDNA クローニング

清田誠一郎，坂野勝啓（農水省・生物研）

12:00　3aG13　*Rhodobacter capsulatus* 7鉄フェレドキシンの3鉄クラスター保持に関与するCys間配置の変換とその効果
末次由実，佐伯和彦，松原央（阪大・理・生物）

## H会場　遺伝子発現　（5）

9:00　3aH01　コムギ葉緑体psbD/C遺伝子クラスターの光応答プロモーターに作用する転写活性化因子
角山雄一，中平洋一，椎名隆，豊島喜則（京都大・人間・環境学）

9:15　3aH02　A developmentally-regulated *atpE*-specific transcript arises from a promoter within the coding region of *atpB* gene in tobacco chloroplasts
Sanjay Kapoor, Masahiro Sugiura (Center for Gene Research, Nagoya University)

9:30　3aH03　A novel RNA gene in the tobacco plastid genome: its possible role in the maturation of 16S rRNA
Antonio Vera, Masahiro Sugiura (Center for Gene Research, Nagoya University)

9:45　3aH04　タバコ光化学系I核遺伝子群のグリーニング過程での発現
近藤由希子，山本義治，中邨真之，小保方潤一（北大・地球環境・生態遺伝）

10:00　3aH05　タバコの光化学系I遺伝子 *psaDb* の転写，転写後，翻訳レベルでの光制御について
山本義治[1,2]，辻英夫[2]，近藤由希子[1]，小保方潤一[1]（[1]北大・地球環境・生態遺伝，[2]京大・理・植物）

10:15　3aH06　タバコの光化学系I核遺伝子群に結合するタンパク質因子の解析
中邨真之，山本義治，近藤由希子，小保方潤一（北大・地球環境・生態遺伝）

10:30　3aH07　$C_3$ 植物にも $C_4$ 型類似PPDK遺伝子は存在する
今泉信之，石原邦[1]，鮫島宗明[2]，松岡信[2]（ジャパンターフグラス，[1]東京農工大学・農，[2]農水省・生物研）

10:45　3aH08　イネ（$C_3$ 植物）の $C_4$ 類似型PPDK遺伝子はトウモロコシ（$C_4$ 植物）内で $C_4$ 的発現をしない
松岡信，今泉信之[1]，大和陽一（生物研，[1]ジャパンターフグラス）

11:00　3aH09　$C_3$ 植物，$C_4$ 植物PPDK遺伝子は共通のシス領域を持つか
村上（嘉納）ゆり子，大和陽一[1]，今泉信之[2]，松岡信[1]（農水省果樹試，[1]生物研，[2]ジャパンターフグラス）

11:15　3aH10　トウモロコシ $C_4$-型PEPカルボキシラーゼ遺伝子の5′上流域に結合するDNA結合タンパク質-MNF1-の解析
森島明，柳澤修一[1]，泉井桂（京都大・農・農林生物，[1]東大・教養）

11:30　3aH11　トウモロコシの $C_4$ 型PEPカルボキシラーゼ遺伝子発現の光調節とサーカディアンリズムの関与について
吉田和市，森島明，森康夫，泉井桂（京都大・農・農林生物）

11:45　3aH12　マツの集光性クロロフィル蛋白質遺伝子プロモーターによるルシフェラーゼ遺伝子の光非依存的，葉器官特異的発現
山本直樹（生物研）

## I会場　遺伝子発現　（6）

9:00　3aI01　ダイズサイクリン遺伝子のcDNAクローニングとその発現様式
河内宏[1]，前田美紀[1]，関根政実[2]，畑信吾[3]（[1]農水省・生物研，[2]阪大・工，[3]姫路工大・理）

9:15　3aI02　タバコのサイクリンcDNAのクローニング
Y. Y. Setiady，関根政実，山本拓生，新名惇彦（大阪大・工・応用生物工学）

9:30　3aI03　タバコのプロテインホスファターゼcDNAのクローニング
高橋浩一郎，関根政実，新名惇彦（阪大・工・応用生物）

9:45　3aI04　タバコ培養細胞BY-2において $G_2$/M期に特異的に発現される遺伝子の検索
横井崇秀，柿本辰男，柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

10:00　3aI05　タバコ培養細胞形質転換体を用いた高等植物における細胞周期特異的遺伝子のプロモーター解析
伊藤正樹，渡辺昭[1]（名古屋大・生物分子応答研究センター，[1]現東京大・理・植物）

10:15　3aI06　アラビドプシスのβ-アミラーゼ遺伝子の糖応答性に関わる変異株 *hba1*

三田悟，村野信仁，赤池美紀子，中村研三（名大・農・生化）

10:30　3aI07　タバコの 54 kD のカルシウム依存性プロテインキナーゼは葉のショ糖処理によって増加する
大藤雅章，中村研三（名大・農・生化）

10:45　3aI08　ショ糖によって誘導されるサツマイモの Calcium-dependent protein kinase (CDPK) cDNA
真野昌二，大藤雅章，中村研三（名大・農・生化）

11:00　3aI09　サツマイモ塊根主要タンパク質遺伝子の発現；ショ糖およびポリガラクツロン酸による誘導とプロテインホスファターゼ（タイプ1，2A）特異的阻害剤によるその抑制
武田真，真野昌二，大藤雅章，中村研三（名古屋大・農・生化）

11:15　3aI10　スポラミン遺伝子のショ糖誘導に関わるシス制御配列
森上敦，田中芳実，中村研三（名大・農・生化）

11:30　3aI11　チャ *Camellia sinensis* CHS mRNA の糖に対する応答
竹内敦子，松元哲，早津雅仁（農水省・野菜茶試）

11:45　3aI12　糖質によるイネ α-アミラーゼ遺伝子の転写調節機構の解明
光永伸一郎，Raymond L. Rodriguez[1]，山口淳二[2]（上越教育大・生活健康系，[1]カリフォルニア大・デイビス校，[2]名古屋大・生物分子応答研究センター）

## 第3日　3月30日（水）　[午後の部]

### A会場　光合成細菌　（2）

13:30　3pA01　クロロフィル b の励起三重項の共鳴ラマンスペクトル
佐島徳武，西澤栄一，小山泰（関西学院大・理）

13:45　3pA02　バクテリオクロロフィル a のサブマイクロ秒過渡吸収スペクトルの溶媒効果
小山泰，西澤榮一（関西学院大・理・化学）

14:00　3pA03　Isolation and characterization of the subunits of the light-harvesting complexes from *Rhodobacter sphaeroides* R-26 and R-26.1
Leenawaty Limantara[1], Tomisaburo Kakuno[2], Richard J. Cogdell[3] and Yasushi Koyama[1] ([1]Fac. Sci., Kwansei Gakuin Univ., [2]M & S Technosystem, [3]Dept. Botany, Univ. Glasgow)

14:15　3pA04　光合成細菌 *R. viridis* の光反応中心での電子伝達反応におけるアミノ酸側鎖の役割
中川博之，岡田孝[1]，小山泰（関学大・理・化学，[1]関学大・情報処理研究センター）

14:30　3pA05　光合成細菌のウレアーゼはアルギニンと酸素で誘導される
高桑進，山口和也[1]，鈴木晋一郎[1]（京都女子大・家政，[1]大阪大・教養）

14:45　3pA06　光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* の *puf* オペロン上流域結合タンパク質の解析と精製
島田裕士，和田忠士，太田啓之，増田建，塩井祐三，半田宏，高宮建一郎（東工大・生命理工）

15:00　3pA07　光合成細菌のモリブデンコファクター欠損株のベリブラズムにおける DMSO 還元酵素活性構造の形成
桝井秀雄，草野元，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

15:15　3pA08　光合成細菌の DMSO 呼吸系遺伝子群
宇治家武史，山本勇，山崎素直[1]，佐藤敏生（広島大・理・生物科学，[1]東京大・農・農化）

### B会場　細胞壁　（3）

13:30　3pB01　ポプラ培養細胞の壁結合型エンド-1,4-β-グルカナーゼの精製と性質
大宮泰徳，中村信吾，酒井冨久美，林隆久（京都大・木質研）

13:45　3pB02　ポプラ培養細胞の培地に分泌されるエンド-1,4-β-グルカナーゼの cDNA クローニング
中村信吾，森仁志[1]，酒井富久美，林隆久（京都大・木質研，[1]名古屋大・農・生化学制御）

14:00　3pB03　矮性および正常オオムギ幼葉鞘の β-グルカナーゼ活性の比較
渡辺竜五，中川直樹，桜井直樹（広島大・総科・自然）

14:15　3pB04　発芽期のイネで活性が増大する細胞壁結合 β-グルコシダーゼの性質

秋山高（農水省・北海道農試）

14:30　3pb05　ポプラ培養細胞におけるエンドキシログルカントランスグルコシラーゼ活性の性質
竹田匠，三石安[1]，酒井富久美，林隆久（京都大・木質研，[1]工技院・生命研）

14:45　3pB06　アズキ上胚軸細胞壁のキシログルカン分解酵素
田渕彰，保尊隆享，神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

15:00　3pB07　エンド型キシログルカン転移酵素の遺伝子発現
冨田英津子，岡本繁久，西谷和彦（鹿児島大・教養）

15:15　3pB08　エンド型キシログルカン転移酵素 (EXT) 及び EXT 様タンパク質のアズキ植物内での分布
牛ノ浜孝，岡本繁久，冨田英津子，岡澤一秀[1]，浅田起代蔵[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）

15:30　3pB09　エンド型キシログルカン転移酵素のタバコ培養細胞 BY-2 における発現
木下剛，岡本繁久，上舞哲也，加藤郁之進[1]，西谷和彦（鹿児島大・教養，[1]宝酒造バイオ研）

## C会場　光生物学　（2）

13:30　3pC01　マメ科植物による near-UV に対する生理学的応答
手塚修文，山口文子[1]，安藤由香[1]，服部郁子[1]（名古屋大・情報文化・自然情報，[1]名古屋大・農・園芸）

13:45　3pC02　シロイヌナズナ普通葉におけるクロロフィル減少に対する紫外線の効果
八田洋，木立真敏，井上康則，榎並勲[1]（東理大・理工・応生，[1]東理大・理・生物）

14:00　3pC03　UV-B 照射の紅色酵母 *Rhodotorula* 細胞膜機能への影響
秦恵，多田幹郎[1]（神戸大・理・生物，[1]岡山大・農・細胞）

14:15　3pC04　長波長紫外光 (NUV) による酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 細胞膜の損傷とその回復
荒見真一郎，秦恵，村田芳行，多田幹郎（岡山大・農）

14:30　3pC05　ホウレン草に対する近紫外線照射の効果／$H_2O_2$ の生成と $H_2O_2$ 消去系酵素の誘導について
安達浩司，柴田均（島根大・農・応用生物機能学）

14:45　3pC06　ナスの芽生えにおけるフラボノイドと紫外線の防御
武田幸作，東近由紀子，深沢利江子（東京学芸大・生物）

15:00　3pC07　ニンジンの pal-10 は波長の異なる UV-B 光により enhance される 2 つの enhancer 領域を持つ
竹田淳子，吉田和市[1]，小関良宏[2]（京大・農化，[1]京大・農生，[2]東大・教養）

15:15　3pC08　紫外線 UVC 照射イネ実生苗の成長度と DNA 損傷
今泉和光，米倉博子，戸塚良宣，小田茂，松本英樹[1]，大西武雄[1]（PL学園女子短大・植物研，[1]奈良県立医大）

15:30　3pC09　近紫外照射時におけるラン藻 *Synechococcus* PCC7942 での GroEL の発現
野田哲治，柴田均（島根大・農・応用生物機能学）

## D会場　細胞分化

13:30　3pD01　ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換に対するブロモデオキシウリジンの阻害効果
庄司雄一，杉山宗隆[1]，駒嶺穆[1,2]（東北電力・応技研，[1]東北大・理・生物，[2]現：日本女子大・理・物質生物科学）

13:45　3pD02　ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化において一過的かつ特異的に発現するシステインプロテアーゼ
南淳，福田裕穂（東北大・理・生物）

14:00　3pD03　ヒャクニチソウ管状要素分化過程における NADPH:quinone oxidoreductase 活性
出村拓，渡辺誠幸，福田裕穂（東北大・理・生物）

14:15　3pD04　ヒャクニチソウ管状要素分化における TED2 タンパク質発現の免疫学的な解析
渡辺誠幸，出村拓，福田裕穂（東北大・理・生物）

14:30　3pD05　DDRT-PCR 法によるナスの不定胚誘導時に特異的に発現する遺伝子の解析
萱野暁明，岡本潔，田部井豊，宮尾安藝雄，美濃部侑三，西村繁夫（農水省・農業生物資源研究所）

## 第3日　3月30日（水）　［午後の部］

14:45　3pD06　タバコプロトプラストにオーキシン非要求性を与える遺伝子 AXI1 のダイズ，イネからの単離
大野広道[1]，藤巻秀，中林一彦，Rick Walden[2]，森敏，林浩昭，茅野充男（東京大・農・農芸化学，[1]栗田工業，[2]Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln, Germany）

15:00　3pD07　ユリの雄性配偶子核特異的 H2B ヒストンと豊富 H1 ヒストンの免疫学的検出
上田健治，田中一朗（横浜市大・文理・生物）

15:15　3pD08　カボチャ子葉のセネッセンスにおけるプラスチッドの変動
西村幹夫，武内由佳，加藤朗，林誠（基生研・細胞生物）

## E会場　形態形成　（3）

13:30　3pE01　アカパンカビの光による位相変化過程でのカルモジュリンの関与
定金豊，鈴木さくら，中島秀明（岡山大学・理・生物）

13:45　3pE02　アカパンカビを用いた概日リズムの宇宙実験
三好泰博，森安裕二，伊関峰生（静岡県立大・国際関係・教養）

14:00　3pE03　藍色細菌の生物時計の突然変異体
近藤孝男，石浦正寛（基礎生物学研究所）

14:15　3pE04　単細胞性藍色細菌 *Synechocistis* PCC6803 におけるヒートショック蛋白質遺伝子 *dnaK* の概日性発現リズム
青木摂之，近藤孝男[1]，石浦正寛[1]（京都大・生態学研究センター，[1]基礎生物学研究所）

## F会場　成長調節物質　（2）

13:30　3pF01　Function of the *GA1* gene in *Arabidopsis*
Yuji Kamiya, Tamio Saito, Tai-ping Sun[1] (Frontier Research Program, RIKEN, [1]Dept. Botany, Duke Univ.)

13:45　3pF02　Gibberellins act early in pea seed development
Stephen M. Swain[1,2], John J. Ross[1], Yuji Kamiya[2] and James B. Reid[1] ([1]Dept Plant Science, University of Tasmania, [2]Plant Hormone Function, RIKEN)

14:00　3pF03　濾紙およびその抽出液による植物種子根伸長の促進
市村一雄，小田雅行（農水省・野菜茶試）

14:15　3pF04　ジャスモン酸によるバレイショ塊茎組織の細胞肥大
高橋淳，藤野介延，喜久田嘉郎，幸田泰則（北大・農・植物）

14:30　3pF05　ミカヅキモの有性生殖に機能する性フェロモン (PR-IP) の cDNA クローニングとその遺伝子発現制御
関本弘之，曽根裕，藤伊正（筑波大・生物科学）

14:45　3pF06　ミカヅキモ性フェロモン (PR-IP Inducer) の精製と解析
野尻隆裕，藤伊正，関本弘之（筑波大・生物科学）

15:00　3pF07　アレロパシー物質・ソルゴレオンの酸化還元電位
柴田和恵，辻野義雄[1]，大堺利行[2]，鶴見誠二[1]（神戸大・理・生物，[1]神戸大・自然科学，[2]神戸大・理・化学）

15:15　3pF08　レピジモイドの植物界における分布
塩家仙子，小瀬村誠治[1]，山村庄亮[1]，長谷川宏司[2,3]（筑波大・バイオシステム研究科，[1]慶応大・理工，[2]筑波大・応生化，[3]植物情報研究センター）

## G会場　蛋白質・酵素　（2）

13:30　3pG01　Acetyl-CoA carboxylase の subunit の1つは chloroplast genome にコードされている
佐々木幸子，袴田一彦，須天由貴子，永野幸生，古沢巌，松野隆一（京大・農）

13:45　3pG02　高等植物のアセチル CoA カルボキシラーゼの種類と局在
小西智一，佐々木幸子（京都大・農）

14:00　3pG03　リンゴ果実のソルビトール脱水素酵素の精製及び性質

山口秀明，金山喜則，山木昭平（名古屋大・農・園芸科学）

14:15　3pG04　ゼニゴケ培養細胞から精製した酸性フォスファターゼの性質
樽井裕，飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

14:30　3pG05　モヤシマメ幼根液胞膜の ATP 依存 $H^+$ ポンプにおける pH の影響
武田裕一[1]，笠毛邦弘[2]，太田英二[1]（[1]慶応大・理工，[2]食総研・分子情報）

14:45　3pG06　Effects of processing history on enzyme hydrolysis of sago starch
Andrew D. Powell[1], Wen Jia Wang[2] and Christopher G. Oates[2] ([1]Dept of Botany, [2]Dept of Biochemistry, National University of Singapore)

15:00　3pG07　Cotyledonary proteins of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jackfruit)
Andrew D. Powell[1], Michael Brown[2], Prakash P. Kumar[1] and C. J. Goh[1] ([1]Botany Dept., National University of Singapore, Kent Ridge, Singapore. [2]Botany Dept., Universty of Guelph)

## H会場　遺伝子構造　（2）

13:30　3pH01　大腸菌のモリブデン輸送系遺伝子
鍛宏典，佐藤敏生，山本勇（広島大・理・生物科学）

13:45　3pH02　ラン藻 *Synechococcus* 6301 *rpsA* 遺伝子の構造と染色体ゲノム上の位置
杉田護，杉田千恵子，金子貴一[1]，松林徹[1]，杉浦昌弘（名古屋大・遺伝子実験施設，[1]かずさディー・エヌ・エー研究所）

14:00　3pH03　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の *nirA* オペロン上流域に位置する CRP 型転写因子と ABC 型膜輸送体サブユニットをコードする遺伝子の構造と機能の解析
堀江宣行，菊池裕之，鈴木石根，杉山達夫，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

14:15　3pH04　ラン藻 *Plectonema boryanum* の *chlL-chlN*（プロトクロロフィリド還元酵素遺伝子）周辺の遺伝子解析
三上亜希，藤田祐一[1]，高橋康弘，長谷俊治[1]，松原央（大阪大・理・生物，[1]大阪大・蛋白研）

14:30　3pH05　単細胞緑藻クロレラ C-27 株 (*Chlorella ellipsoidea* C-27) 葉緑体ゲノムの物理地図と遺伝子構成
永井俊幸，Meenu Kapoor，若杉達也，杉浦昌弘，伊藤万理[1]，續順子[1]，中嶋けい子[1]，堀畑真希[2]，佐藤公行[2]，岩崎真幸[3]，浜田玲[3]，井戸由樹[3]，稲村篤[3]，北脇靖子[3]，吉永光一[3]（名古屋大・遺伝子，[1]椙山女学園大・生活科学，[2]岡山大・理・生物，[3]静岡大・理・化学）

## I会場　遺伝子発現　（7）

13:30　3pI01　植物ミトコンドリア $F_1$-ATPase 核支配サブユニット遺伝子の発現制御の解析
前尾健一郎，森上敦，中村研三（名大・農・生化）

13:45　3pI02　*tmr* 遺伝子プロモーター発現に対する植物ホルモンの影響
亀田卓二，猪口雅彦，加藤次郎（岡山理科大・理・生物化学）

14:00　3pI03　Ri アグロピン合成酵素遺伝子の組織特異的発現の解析
岡真理子，猪口雅彦，加藤次郎（岡山理科大・理・生物化学）

14:15　3pI04　ニンジン組織培養系を用いた不定胚形成過程における *rolC* プロモーターの発現調節領域の解析
藤井伸治，横山隆亮[1]，内宮博文（東大・分生研，[1]北大・理）

14:30　3pI05　タバコ遺伝的腫瘍誘導過程における Ng *rolB*-GUS の発現様式
永田典子，古園さおり[1]，関根政実[1]，新名惇彦[1]，庄野邦彦（東大・教養・基礎科，[1]阪大・工・応用生物工学）

14:45　3pI06　アブラナ科植物の形質転換とS糖タンパク質に関する研究
柴博史，山川清栄，真鍋麻里，塩沢秀幸，磯貝彰，鳥山欽也[1]，渡辺正夫[1]，日向康吉[1]，鈴木昭憲（東大・農化，[1]東北大・農）

# 座 長 表

| 日 | 時 | 講演番号 | 座 長 |
|---|---|---|---|
| | | 1aA01～03 | 王子 善清 |
| | | 1aA04～06 | 中村 保典 |
| | | 1aA07～10 | 山内 大輔 |
| | | 1aB01～04 | 高浜有明夫 |
| | | 1aB05～08 | 円谷 陽一 |
| | | 1aB09～11 | 神阪盛一郎 |
| | | 1aD01～03 | 田中 喜之 |
| | | 1aD04～06 | 和田 雅人 |
| | 午 | 1aD07～10 | 山口 淳二 |
| | | 1aE01～03 | 園部 誠司 |
| | | 1aE04～07 | 風間 晴子 |
| | | 1aE08～10 | 和田 正三 |
| | | 1aF01～03 | 上田 純一 |
| | | 1aF04～06 | 笠毛 邦弘 |
| | | 1aF07～10 | 川崎 信二 |
| 3 | 前 | 1aG01～03 | 竹能 清俊 |
| | | 1aG04～06 | 吉田 茂男 |
| | | 1aG07～10 | 田中 修 |
| 月 | | 1aH01～04 | 稲垣 言要 |
| | | 1aH05～07 | 小川 晃男 |
| | | 1aH08～10 | 岡田 光正 |
| 28 | | 1aI01～04 | 杉田 護 |
| | | 1aI05～07 | 三上 浩司 |
| | | 1aI08～10 | 今関 英雅 |
| 日 | | 1pA01～04 | 門田 明雄 |
| | | 1pA05～08 | 井上 康則 |
| | | 1pA09～12 | 片岡 博尚 |
| (月) | | 1pA13～15 | 山本興太朗 |
| | | 1pB01～04 | 村上 明男 |
| | | 1pB05～08 | 高橋 正昭 |
| | | 1pB09～11 | 塩井 祐三 |
| | 午 | 1pB12～14 | 大城 香 |
| | | 1pD01～04 | 西澤 直子 |
| | | 1pD05～08 | 野並 浩 |
| | | 1pD09～11 | 朽津 和幸 |
| | | 1pD12～15 | 竹内 裕一 |
| | | 1pE01～04 | 村田 隆 |
| | 後 | 1pE05～08 | 水野 孝一 |
| | | 1pE09～11 | 馳澤盛一郎 |
| | | 1pE12～14 | 伊藤 正樹 |
| | | 1pF01～04 | 三村 徹郎 |
| | | 1pF05～08 | 和田 元 |
| | | 1pF09～13 | 島崎研一郎 |
| | | 1pG01～04 | 井上 弘 |
| | | 1pG05～08 | 菊山 宗弘 |
| | | 1pG09～11 | 坂野 勝啓 |

| 日 | 時 | 講演番号 | 座 長 |
|---|---|---|---|
| | | 1pG12～14 | 清沢桂太郎 |
| 3 | | 1pH01～04 | 高市 真一 |
| 月 | 午 | 1pH05～08 | 徳富 光恵 |
| 28 | | 1pH09～13 | 小野 高明 |
| 日 | | 1pI01～04 | 森上 敦 |
| (月) | 後 | 1pI05～08 | 久保 明弘 |
| | | 1pI09～11 | 松岡 信 |
| | | 1pI12～14 | 南川 隆雄 |
| | | 2aA01～04 | 平井 篤志 |
| | | 2aA05～08 | 林田 信明 |
| | | 2aA09～12 | 中川 強 |
| | | 2aB01～04 | 大西 純一 |
| | | 2aB05～08 | 臼田 秀明 |
| | | 2aB09～12 | 鈴木 健策 |
| | | 2aD01～04 | 小俣 達男 |
| | | 2aD05～08 | 真野 純一 |
| | 午 | 2aD09～11 | 小柴 共一 |
| | | 2aE01～04 | 若杉 達也 |
| | | 2aE05～08 | 増村 威宏 |
| 3 | | 2aE09～12 | 高橋裕一郎 |
| 月 | | 2aF01～04 | 大屋 俊英 |
| | | 2aF05～08 | 若林 和幸 |
| | | 2aF09～12 | 安部 弘 |
| | 前 | 2aG01～04 | 松本 英明 |
| | | 2aG05～08 | 武藤 尚志 |
| 29 | | 2aG09～12 | 篠崎 一雄 |
| | | 2aH01～04 | 小林 善親 |
| | | 2aH05～08 | 池上 勇 |
| 日 | | 2aH09～13 | 山下 魏 |
| | | 2aI01～04 | 森川 弘道 |
| | | 2aI05～08 | 安積 良隆 |
| (火) | | 2aI09～12 | 川上 直人 |
| | | 2pA01～04 | 遠藤 剛 |
| | | 2pA05～08 | 高倍 昭洋 |
| | | 2pB01～04 | 都筑 幹夫 |
| | 午 | 2pB05～07 | 鈴木 英治 |
| | | 2pC01～04 | 金谷 潔 |
| | | 2pC05～08 | 杉浦 昌弘 |
| | | 2pD01～03 | 檜山 哲夫 |
| | | 2pD04～06 | 徳富 哲 |
| | | 2pE01～04 | 森 仁志 |
| | 後 | 2pE05～08 | 篠原 健司 |
| | | 2pF01～04 | 横田 孝雄 |
| | | 2pF05～08 | 三橋 渉 |
| | | 2pG01～03 | 佐藤 忍 |
| | | 2pG04～06 | 佐々木幸子 |

| 日 | 時 | 講演番号 | 座 長 |
|---|---|---|---|
| | | 2pH01～04 | 伊藤 繁 |
| | 午 | 2pH05～08 | 滝尾 進 |
| | | 2pI01～04 | 岩淵 雅樹 |
| | 後 | 2pI05～08 | 長田 敏行 |
| | | 3aA01～04 | 嶋田 敬三 |
| | | 3aA05～08 | 高桑 進 |
| | | 3Aa09～12 | 三室 守 |
| | | 3aB01～04 | 林 隆久 |
| | | 3aB05～08 | 保尊 隆享 |
| | | 3aB09～13 | 中川 直樹 |
| | | 3aD01～03 | 佐治 光 |
| | 午 | 3aD04～07 | 佐藤 直樹 |
| | | 3aD08～10 | 桜井 英博 |
| | | 3aE01～04 | 鎌田 博 |
| | | 3aE05～08 | 大隅 良典 |
| | | 3aE09～11 | 猪口 雅彦 |
| 3 | | 3aF01～04 | 佐藤 茂 |
| | | 3aF05～08 | 佐藤 隆英 |
| | | 3aF09～13 | 桜井 成 |
| 月 | | 3aG01～04 | 作田 正明 |
| | 前 | 3aG05～08 | 柴田 大輔 |
| | | 3aG09～13 | 池内 昌彦 |
| 30 | | 3aH01～04 | 桑原 朋彦 |
| | | 3aH05～08 | 村上（嘉納）ゆり子 |
| | | 3aH09～12 | 小保方潤一 |
| 日 | | 3aI01～04 | 大橋 祐子 |
| | | 3aI05～08 | 山崎 健一 |
| | | 3aI09～12 | 中嶋 信美 |
| (水) | | 3pA01～04 | 松浦 克美 |
| | | 3pA05～08 | 小山 泰 |
| | | 3pB01～04 | 西谷 和彦 |
| | | 3pB05～09 | 桜井 直樹 |
| | | 3pC01～04 | 竹田 淳子 |
| | 午 | 3pC05～09 | 手塚 修文 |
| | | 3pD01～04 | 西村 幹夫 |
| | | 3pD05～08 | 福田 裕穂 |
| | | 3pE01～04 | 蓮沼 仰嗣 |
| | | 3pF01～04 | 大森 正之 |
| | 後 | 3pF05～08 | 神谷 勇治 |
| | | 3pG01～04 | 田中 浄 |
| | | 3pG05～07 | 飯野 盛利 |
| | | 3pH01～05 | 福澤 秀哉 |
| | | 3pI01～03 | 高橋 陽介 |
| | | 3pI04～06 | 松岡 健 |

# シンポジウム

## S1aC1

温室効果気体増加の気候への影響

野田彰（気象研・気候）

3次元気候モデルを用いて得られた地球温暖化予測研究の現状について報告する。

二酸化炭素濃度の増加は全球一様でも、その効果は、地理的に一様に現れない。海氷のフィードバック効果により冬期の高緯度の地表付近での昇温が著しいことが予測されている。しかし、最近、大気大循環と海洋大循環の相互作用をきちんと取り入れた、大気海洋結合モデルによる計算の結果、海流による深層への熱輸送の効果によって、北大西洋北部や、南極大陸の周辺海域では、温暖化が遅れることも予測されている。

気候モデルにおける雲の取り扱いには改良すべき点が多く残されており、このことは、気候変化予測に最も大きな不確実性を与えている要因になっている。現在の気候モデルにおいて、雲は、温暖化を強めるフィードバック効果を持つが、雲粒子の生成機構に関する研究からは、種々の負のフィードバック効果が指摘されている。

政治的、社会的に最も関心の深く、かつ、最も気候変化予測として期待されているのは、地域的な気候変化であるが、現在の計算機の能力では、数百キロのスケールが限界であり、大きな不確実性を含んでいる。生態系への影響を評価する上で重要な陸面の水文過程については、バケツモデルから、生物圏モデルへと開発が進められている段階である。

以上、気候変化予測の研究には、解決すべき問題が多く残されており、いまは、気候変動のメカニズムについて、より深い理解が求められている段階にあるといる。

## S1aC2

温暖化の植物への影響

清野　豁（農業環境技術研究所）

人間活動による大気中の温室効果ガス濃度の増加は地球規模の温暖化をもたらすと予想されている。温暖化の植物への影響は、大きく三つに分けることができる。それは、①大気中の二酸化炭素濃度の上昇による植物への直接的影響と、②温暖化に伴う気候変化による間接的な影響、及び③温暖化に伴う海水位の上昇による影響である。

①の影響としては、植物の光合成活動の活発化に伴う生産力の増大及び水利用効率の向上があげられ、いずれも植物の生長にとっては有利な条件といえる。一方、②の影響は、気温上昇と降水パターンの変化によってその影響は複雑である。気温上昇に伴って、生育可能期間の拡大、蒸発量の増大、積雪期間の短縮などによって植物固体の生長への影響や生態系の攪乱などの影響などがある。降水パターンの変化、とくに対流性降雨の増加は土壌水分の不足を招くと考えられる。③は、沿岸低地の浸水、海岸の侵食、地下水中の塩分濃度の上昇などを通して植物に影響する。

## S1aC3

酸性雨の植物への影響

野内　勇（農水省農業環境技術研究所）

酸性降水は現在の主要な世界の環境問題であり，陸上生態系への酸性降水の影響に関する多くの研究が報告されている。多くの人工酸性降雨実験によると，多くの農作物やある種の感受性の樹木の可視被害発現の pH は，それぞれ 3.5と 3.0以下であり，また，農作物や樹木苗木の生長の低下は，pH 3.0以下ではじめて生じるとされている。わが国の降水の年平均値は pH 4.7 前後であるので，現在の降水が農作物の生長に影響を及ぼすことはないと考えられる。しかし，酸性雨は森林地帯の樹木には，土壌の酸性化とそれに伴う植物毒性の強いアルミニウムイオンの溶出，葉からの体内成分のリーチングの増加や土壌からの養分のリーチングの増加などの様々な部分で影響を及ぼす可能性がある。そのため，酸性雨は森林衰退に関与する多くの環境ストレスの一つであるかもしれない。しかし，ヨーロッパや北米に見られるような森林衰退と同様に，わが国での森林衰退の原因もはっきりしていない。

## S1aC4

植物の生長に及ぼす紫外線（UV-B）の影響

竹内裕一（北海道東海大・工・生物工学）

近年フロンガスなどの大気中への放出により、成層圏のオゾン層の破壊が進行していることが世界的に注目されている。成層圏のオゾン濃度の低下は、波長 290 ～ 320 nm の UV-B と呼ばれる紫外線の地表面に到達する量を増加させる。多くの植物種において、UV-B 照射は植物の生長を阻害することが報告されているが、その阻害機構は不明の点が多い。

われわれはキュウリの芽生えを用いて、子葉の生長が環境レベルのUV-B 照射により阻害されること、その阻害が光合成活性の低下によることなどを報告した。また、暗所で生育させたキュウリの黄化芽生えから切り取った子葉の in vitro 培養系を用いて、300 nm 以下のUV-B と 300 ～ 320 nm の UV-B では生長阻害の機構が異なること、阻害の度合いは生育温度に依存することなどを明らかにした。

これらの結果とともに、オゾン層が破壊された場合に予想される農業や陸上生態系への影響について現在までに明らかにされている知見について紹介する。

## S1aC5

環境ストレスに対する植物スーパーオキシドディスムターゼ遺伝子の発現応答機構

田中國介, 奥村剛一, 角 一彦, 坂本 敦
(京府大, 農, 生化)

植物のスーパーオキシドディスムターゼ (SOD; EC1.15.1.1)には，マンガン型アイソザイム，銅・亜鉛型アイソザイム(プラスチド局在型，細胞質局在型が存在)があり，現在は鉄型アイソザイムの存在も確認されている。我々は、SOD遺伝子がどのようなシグナルを介し発現誘導を受るかを明らかにすることを目的とし研究を行っている。既に構造解析を済ましている２種類のイネ細胞質局在銅・亜鉛型SOD(*sodC1; sodCc,Os,1, sodC2; sodCc,Os,2*) 遺伝子をモデル遺伝子として，それぞれに対する特異的プローブを用いてノーザンブロットを行った結果，*sodC1*はパラコート，金属イオンに対して転写誘導がかかることが明かとなった。また，*sodC2*のプロモーター領域を、大腸菌の$\beta$-グルクロニターゼ (GUS)遺伝子と融合したキメラ遺伝子を構築した。この遺伝子をイネ・プロトプラストに形質転換し、各種化学物質存在下での遺伝子発現について調べた結果、*sodC2*のプロモーター領域を導入したプロトプラストをアブシジン酸(ABA)で処理したものは非常に高いGUS活性を示した。塩基配列の解析から*sodC2*遺伝子の上流にはABAに応答するコンセンサス配列(ABRE)が存在した。これらのことより、*sodC2*遺伝子がABAにより発現調節を受けていると考えられる。他の各種アイソザイムについての同様の実験も行っており、他の研究グループによる結果も含め環境ストレスにたいするSOD遺伝子の発現応答機構について述べる。

## S1pC1

根の刺激応答変異体の分子遺伝学的解析

岡田清孝、和田拓治、小山時隆、石黒澄衛、志村令郎（基礎生物学研究所・遺伝子第一）

根は比較的簡単な構造を持つ植物器官であるが、植物体内および体外の環境の変化に鋭敏に反応して、その成長の速度や方向を変化させる。我々は、根が様々な物理的刺激に応答する遺伝的制御機構を解析するために、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)から様々な突然変異体を分離して解析している。

根が重力や光の方向変化を察知して伸長方向を変化させる屈性については、既に多数の突然変異体が得られているが、遺伝子構造があきらかになったものはまだ少ない。我々は、T-DNAの挿入突然変異体の中から、重力屈性、光屈性、接触刺激応答、などの反応に異常を示す変異体を捜し、解析している。また、根毛の成長がストレスによって変化する機構についても突然変異体の解析を進めている。さらに、根の形態が異常になったために、屈曲反応や根毛の成長が異常になるものについても調べている。

このような解析の結果を総合して、根における刺激応答機構の制御システムを明らかにしたいと考えている。

## S1pC2

光形態形成関連タンパク質COP1、COP9とそれに相互作用するタンパク質の解析

松井南 (Dept. of Biology, Yale University, Conn., USA)

*cop1*、*cop9*は、光形態形成の変異として単離されたシロイヌナズナの変異株で、暗闇中で子葉が開き、子葉細胞内に色素体の発達が見られる。さらに光誘導性の遺伝子発現が暗闇中で見られる。*COP1*遺伝子はT-DNAの挿入した*cop1*アレルから単離された。COP1タンパク質は74kDaタンパク質でN末付近にZnフィンガー様の領域とC末付近に三量体のGタンパク質の$\beta$サブユニットに見られるようなWD40モチーフがある。*cop1*、*cop9*及び*det1*は形態的に似た変異であり、これらは全て劣性変異であることからこれらの変異に対応するタンパク質は、形態形成においてリプレッサーとして働くのではないかと考えられ、複合体のような互いに近い位置関係を持っていることが示唆される。COPタンパク質と相互作用するタンパク質を単離するため、我々は、COPタンパク質をビオチンまたは、$^{32}$Pで標識したプローブとして、far-western法によってcDNAライブラリーをスクリーニングした。その結果、いくつかのクローンを単離した。そのうち１つのクローンにコードされるタンパク質はコイルドコイル構造を持っており、COP1タンパク質の2つの領域の間の領域と相互作用した。COP1のこの領域も構造解析の結果、コイルドコイル構造をとることが分かった。さらにその領域は、rice、spinachのCOP1でも保存されていることからなんらかの機能ドメインとして働くことが示唆された。このタンパク質の機能については現在解析している。ほかのクローンについても解析が進んだものについて報告する。

## S1pC3

クロモソーマルウォーキングによる高等植物の $\omega$-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のクローニングとその機能解析

射場 厚（九大・理・生物）

クロモソーマルウォーキング法はターゲット遺伝子の突然変異を染色体地図上にマップし，その近傍に存在するＲＦＬＰなどのゲノムＤＮＡマーカーからコンティグを行なうことによってクローニングする方法である。したがって，ターゲット遺伝子に関する表現型が遺伝的にマップできれば，その遺伝子のクローニングは原理的に可能である。シロイヌナズナ（Arabidopsis thaliana）は植物体が小さく，世代時間が短いなど遺伝学の研究材料として適していることに加え，ゲノムサイズも小さく，反復配列が極めて少ない特徴を持っている。このため，クロモソーマルウォーキング法に有利な植物であると考えられている。また，これまでにＲＦＬＰ連鎖地図やウォーキングのためのＹＡＣゲノムライブラリーも作製されている。

$\omega$-3 脂肪酸不飽和化酵素は植物膜脂質の特徴である脂肪酸の多不飽和化に関わるキーエンザイムであるが，膜結合性蛋白質のためにこれまで生化学的手法による解析が困難とされてきた。本講演においては，クロモソーマルウォーキング法による同酵素遺伝子のクローニングと，高等植物の環境適応におけるその生理的役割について述べる。

## S1pC4

乾燥ストレス応答のシグナル伝達関連遺伝子の機能解析

篠崎一雄（理化学研究所、植物分子生物）

乾燥ストレスにより植物は遺伝子発現レベルでも応答していることが明かにされ、乾燥ストレスによって誘導される遺伝子が数多くクローニングされ、それらの機能及び発現の解析が進められている。また、乾燥ストレスのシグナル伝達系は複数存在することが示され、植物ホルモンABA以外のシグナル伝達因子の同定が現在の主要な課題となっている。我々は乾燥ストレスによる遺伝子応答を研究するために、（1）乾燥ストレス誘導性の遺伝子、（2）乾燥ストレス応答に関与すると予想されるシグナル伝達関連遺伝子を多数単離し、それらの発現制御や機能解析を行うことによって植物の乾燥ストレス応答の全体像を分子レベルで明かにすることを目的に研究を進めている。

乾燥ストレスを与えた植物を用いて作成したcDNAライブラリーをスクリーニングし、乾燥ストレスにより誘導される転写制御因子のmyb相同性遺伝子やカルシウム依存性プロテインキナーゼ(CDPK)のcDNAを単離した。本講演ではこれらの遺伝子の乾燥ストレス応答における機能解析及び発現に関して報告し、乾燥時のシグナル伝達における役割について検討する。

## S1pC5

アブシジン酸（ＡＢＡ）応答性遺伝子発現に関わる転写制御因子ＶＰ１の機能解析

服部束穂，中川仁，浜砂聡，寺田智子（三重大・遺伝子）

トウモロコシ*viviparous-1* (*vp1*)遺伝子座は種子成熟期のABA感受性に関与し，その変異体は穂発芽を示すと同時にアントシアニンの蓄積が阻害されている．*vp1*変異体と野性型を比較したノーザン解析により，*Vp1*は*Em*などのLEA遺伝子群やアントシアンニン制御遺伝子*C1*の発現を制御していることが示されている．Mccartyらは，この遺伝子をトランスポゾンタギングを用いてクローニングした．*Vp1*遺伝子産物(VP1)のアミノ酸配列からの機能推定は困難であったが，プロトプラストにおけるトランジエント発現系を用いて，酵母GAL4やヘルペスウイルスVP16などの既知の転写活性化因子との間でのドメイン交換実験を行うことにより，VP1がABA応答性遺伝子の発現に関わる転写活性化因子であることが明らかとなった．我々はイネ*Vp1*遺伝子(*Osvp1*)をクローニングし，その標的遺伝子の一つ，*Osem*のOSVP1による制御に関わるシス配列(VPRE)の解析をイネ培養細胞Ocを用いて進めてきた．その結果，VPREは，これまで他のABA応答性遺伝子について同定されていた，b-ZIP型DNA結合タンパク質の標的配列，ACGTGを含むABA応答シス配列(ABRE)と一致するという興味深い結論を得た．また，我々は，*Osvp1*がOc細胞において，転写産物および翻訳産物レベルで発現していることを見い出し，この細胞系を用いて，さらに詳細なVP1の機能様式の解析を進めようとしている．本講演では，上述のような培養細胞，特にトランジエント発現系を用いた解析を中心に*Vp1* (*Osvp1*)の機能に関する研究を紹介したい．

## S1pC6

イネゲノム解析研究の現状と展望

美濃部術三、生物研・イネゲノム研究チーム

イネゲノム研究チーム（RGP)は１９９１年１０月イネゲノム解析の中核的な組織として編制された。イネは農業上の重要性やゲノムサイズが小さいことなどから植物ゲノム研究の分野では最も魅力的な対象であり、その研究の進展に関心が寄せられている。

RGPは最終的にはイネで発現する全ての遺伝子を解析することを目標にしているが当面、遺伝学と分子生物学の接点となる基盤的なデータの蓄積を進めている。

この２年間にｃＤＮＡクローンの大量解析を進め既におよそ１０、０００クローンの部分的な塩基配列を解析した。このクローンのなかにはこれまでアイソザイム解析によってマッピングされてきた酵素の遺伝子と推定される沢山のクローン例えばアルコール脱水素酵素、GOT 、ｶﾀﾗｰｾﾞなどが含まれていた。

ｃＤＮＡマッピングの結果はアイソザイム解析の結果と一致するものもみられた。

現在までに既に１ｃＭ間隔の高密度でＲＦＬＰマーカーを設定している。このマーカーを用いた物理地図の作成を進めている。

## S1pC7

国際協力による*Arabidopsis*ゲノム解析研究とデータベースの現状

林田信明（理研・植物分子生物）

モデル植物である*Arabidopsis*を材料として、国際協力によるゲノムプロジェクトが展開されている。その中から産み出された各種の変異体やクローン、シークエンスデータや染色体地図、文献などの成果を今後の研究のための有用な資源として活用するために、一方では変異株や野生型の系統やクローン等の実験材料の収集・保存・配布組織としてＡＢＲＣやＮＡＳＣなどのストックセンターが設立され、他方ではゲノムや遺伝子の情報を集めたAAtDBやAIMSといったデータベースが構築されている。また世界中の研究者間の情報交換の場としてコンピューター通信のネットワークグループが形成されている。これらの研究資源の整備はいずれも1990年にNSFに提出された「国際協力によるアラビドプシスのゲノムプロジェクト（the Multinational coordinated *Arabidopsis thaliana* genome Research Project）」で示された提案に沿って実行されている。ここでは、ゲノム研究の概要とデータベースに収録されている情報について紹介する。また、シンポジウム後理研においてデータベースの実演を行う予定である。参考文献）林田信明、篠崎一雄：「アラビドプシス研究へのアプローチ」植物細胞工学5, 195-201 (1993)

## S2aC1

オーキシンによる伸長成長の分子生物学的研究

山本興太朗　(北海道大・地球環境科学・環境分子生物)

黄化ヤエナリ下はい軸切片をIAA処理すると処理開始20分以内にARG1遺伝子のmRNA量が増加する(Yamamoto et al., 1992)。ARG1は小胞体のω3脂肪酸不飽和化酵素をコードしていたので(Yamamoto, 1993)、オーキシンが引き起こす伸長成長における脂肪酸不飽和化反応の意義を、同反応の阻害剤を用いて検討した。阻害剤になりうる可能性のある薬剤をスクリーニングしたところ、ピリダジノン誘導体であるノルフルラゾン(NF)とBASF13-338がIAAによる伸長成長を阻害した。そこで、10 μM IAAおよびフシコッキン(FC)による伸長成長反応と外液の酸性化反応に対する、これら薬剤の効果を調べた。その結果、0.1 - 0.3 mM NFは、IAAとFCによる伸長成長を各々70%、40%阻害した。IAAとFCによる外液の酸性化に対しては各々100%、20%阻害した。4 mM BASFは、IAAとFCによる伸長成長を各々50%、40%阻害し、外液の酸性化に対しては各々80%、0%阻害した。以上のことから、これら薬剤はFCよりもIAAが引き起こす反応の方をより効果的に阻害すること、このIAAに対する特異性は特に酸性化反応で著しいことが分かった。これら薬剤の伸長阻害作用は、IAAによる酸性化反応の阻害が原因であることが示唆される。以上の生理学的結果を、これら薬剤の脂肪酸不飽和化反応に対する生化学的効果と共に考察する。

## S2aC2

細胞壁ネットワークの構築に関与する新しい遺伝子群、EXT ファミリー

西谷和彦　(鹿児島大・教養)

細胞成長は植物の成長・分化に最も特徴的で、且つ重要な制御過程のひとつである。この過程が細胞壁の伸展過程を通して制御されていることは過去半世紀近くにも亘る様々な研究により明らかにされてきた。その結果、（1）細胞壁はセルロース微繊維とキシログルカン分子から成るネットワーク状の超分子構造を基本構造とすること、（2）このネットワーク構造の何らかの変化が細胞成長の律速過程の一つであること、が明らかとなった。しかしながら、その分子過程や、それに関与する遺伝子は不明であった。

近年になって演者らは細胞壁ネットワークの構築に於て主役を演じていると思われる新規酵素をアズキの上胚軸より単離しエンド型キシログルカン転移酵素(略称 EXT)と名付け、その機能を解析した。更に EXT のcDNA を 5 種の植物よりクローニングし、EXTが植物界に普遍的に存在することを明らかにした。更に EXT-cDNA や抗 EXT抗体 を用いた解析により、上胚軸以外の組織では EXTとは異なる EXT 様の蛋白質が発現していることを明らかにした。これらの知見を基にして、細胞壁構築における EXTファミリーの働きについて考察する。

## S2aC3

ニンジン細胞培養系を用いた細胞壁機能へのアプローチ

佐藤忍　(筑波大・生物)

懸濁培養を行ったニンジン細胞は、オーキシンを含まない培地に移植することにより高頻度で不定胚を生じさせることができることから、接合子胚発生のすぐれたモデルとして生理生化学的研究に用いられてきた。本講演では、胚発生における細胞壁物質の機能を明らかにすることを目的として、近年我々がニンジン培養細胞を材料として行ってきた、1)培地中へ分泌される２種類のタンパク質、と 2)細胞接着に関わる多糖、に関する研究を紹介したい。1）カルスが培地中へ分泌する57Daの糖タンパク質は、不定胚には存在しないが、種子中では胚と胚乳の間隙にのみ蓄積する。一方、植物体では根の皮組織の細胞壁中に局在する。酸性プロテアーゼの触媒部位と弱い相同性が見出だされるとともに、傷害誘導性の遺伝子発現が見られることから、防御機構への関与が考えられるが、一方インシュリン様ペプチドとの結合性も明らかになっている。2）カルスが培地中に分泌する18kDa のタンパク質は単独で不溶化する糖鎖を持たない細胞壁タンパク質で、HRGPやGRP のファミリーには属さない。不定胚における存在量は少ないが植物体では種子中の胚と胚乳の最内層壁に蓄積される。3）ソマクローナル変異の結果生じた細胞接着性が弱く不定胚形成能力を失った細胞株のペクチン多糖は、不定胚形成能力を持つ普通の細胞に比べ中性糖含量が少ないとともに、そこに含まれるアラビノース含量も少ない。細胞接着には、ペクチン多糖の中性糖、特にアラビノース側鎖が重要であると考えられる。

## S2aC4

細胞壁由来のエリシターとそのイネ培養細胞における認識・応答

渋谷直人（農水省生物研）

病原菌あるいは宿主植物の細胞壁から生成するオリゴ糖の中には、強いエリシター活性を示すものが知られている。このことは細胞壁を構成する多糖の構造中に、生物的に重要な意味を持つ情報が内包されていることを示しており、細胞壁の化学構造の複雑さのもつ生物的な意義の一端を示唆するものとなっている。筆者らは最近、こうしたエリシター系の解析が遅れていた単子葉植物のイネ培養細胞系を用い、ファイトアレキシン誘導活性を指標としてエリシターの検索を行った結果、キチン系、βグルカン系の２種類の多糖から誘導される特定のオリゴ糖が極めて強い活性を示すことを見出した[1, 2]。イネ培養細胞におけるこれらのエリシターの認識は極めて厳密であり、またいずれの型のオリゴ糖もnMオーダーという低濃度域で種々の生体防御反応を誘導した。一方、これらのオリゴ糖はダイズ子葉細胞に対しては活性を示さず、その反対にダイズの系で強いエリシター活性を示すヘプタβグルコシドはイネの系では活性を示さなかった。これらの結果は植物種によるエリシターの認識系の差異を示すとともに、イネ培養細胞にはこれらのエリシターに対する特異的なレセプターが存在することを示唆している。[1,2] $^{125}$Iでラベルした N－アセチルキトオリゴ糖誘導体を用いた結合実験の結果、培養細胞の細胞膜上にはこの糖に対する高親和性の結合部位が存在すること、またその特性は培養細胞が示す特異性とよく対応していることが明らかとなった[3]。これらの結果を中心に、イネ培養細胞のエリシターに対する認識と応答について紹介する。[1] A. Yamada et al., Biosci. Biotech. Biochem., **57**, 405('93); [2] 山田晃ほか、日農化, **64**, 617, ('90); [3] N. Shibuya et al., FEBS Lett., **329**, 75('93)および本大会講要

## S2aC5

リグニン生合成経路の遺伝子操作

柴田大輔（三井植物バイオ研）

リグニンは細胞壁の主要成分の一つであり、組織の維持に重要な役割を果たしている。私達はモノリグノール合成に関わる酵素シンナミルアルコールデヒドロゲナーゼ（CAD）の役割を遺伝子操作によって解析している。ウドのCADを均一にまで精製し、その部分的なアミノ酸配列を決定した（Hibino *et al.*, *Phytochemistry* 32, 565-567, 1993）。アミノ酸配列に基づくオリゴヌクレオチド、及び、CADに対する抗体を用いて全長cDNAを単離した（Hibino *et al.*, *Plant Cell Physiol.* 34, 659-665, 1993）。また、ウドのcDNAをプローブとしてユーカリのゲノム遺伝子を単離した（Hibino *et al.*, *Plant Physiol*, in press, 1994）。ウドのcDNAを用いてアンチセンス遺伝子を作製して、タバコに遺伝子導入を行った。組換体植物のCAD活性が顕著に低下した個体を見いだした。これらのリグニン含量は、コントロールに比べて著しい含量の低下は認められなかった。しかし、茎の薄切片のフロログルシノール染色、UV顕微鏡観察、茎のシンナムアルデヒドの定量を行ったところ、リグニン中のシンナムアルデヒド含量が増加していた。この結果は、モノリグノール合成の最終段階の反応を抑制してもシンナムアルデヒドを基質としてリグニンが合成されることを示している。本研究は日尾野隆、陳錦清（三井植物バイオ研）、樋口隆昌（日大）、河津哲（新王子製紙）、高部圭司（京大・農）、梅沢敏男（京大・木研）各氏との共同研究による。

## S3aC1

アラスカエンドウにおける光信号伝達の分子機構

蓮沼仰嗣，浜田徹（横浜市大，木原生研）

暗発芽アラスカエンドウ第3節間に赤色光（660nm，100 $\mu$mole/m$^2$/秒）照射また赤色光と近赤外光（730nm，4 $\mu$mole/m$^2$/秒）の連続照射を行なった。直後に第3節間を磨砕し、遠心分離によりミクロソーム分画を得た。さらに水性二層分配法により原形質膜を精製した。精製された原形質膜に[$\alpha$-$^{32}$P]ATP，[$\alpha$-$^{32}$P]GTPを0℃，5分結合させ、UV照射により特異的に蛋白質に結合した[$\alpha$-$^{32}$P]ATP，[$\alpha$-$^{32}$P]GTPを蛋白質にクロスリンクさせ、SDS-PAGEにより解析した。92 kDa蛋白質の[$\alpha$-$^{32}$P]ATP結合に光可逆性が見られた。また55 kDa蛋白質に[$\alpha$-$^{32}$P]GTP結合の光可逆性が示唆された。さらに[$\gamma$-$^{32}$P]ATPからの0℃，7秒での蛋白質のリン酸化を解析した。15 kDa，50 kDa，70 kDa蛋白質に赤色光によるリン酸化の促進が見られた。15 kDa蛋白質のリン酸化は光可逆性が見られ、可溶性分画に存在する15 kDa蛋白質も光可逆性を示した。原形質膜を1% Triton X-100で可溶化し、105,000×g 30分の遠心操作後、その上清をTSKゲルHW60にてゲルろ過した。15 kDa蛋白質はおよそ500 kDaの分子量部分に分画され、その分画は4×10$^{-8}$M [$\gamma$-$^{32}$P]ATPを分解するATPase活性を有した。

## S3aC2

光に応答して発現する低分子量GTP結合蛋白質

佐々木幸子、永野幸生（京大　農　食品工学）

我々は分子スイッチとしてシグナル伝達に関与している低分子量GTP結合蛋白質をエンドウ緑葉にみつけたので[(1)]、これらをコードするcDNAの単離を試みた。エンドウ緑葉cDNAライブラリーから13種類のcDNAを得て、*pra1-8*, *9a*, *9b*, *9c*, *10*, *prf1*と名付けた[(2)]。これらの中から植物の光応答に関与する蛋白質を選ぶために、その発現に対する光の影響を調べた。暗所で育てたエンドウに光を照射し、その前後のmRNA量を調べたところ、*pra2*, *pra3*, および*prf1*のmRNA量の減少がみられた。この減少は赤色光照射によってもみられ、赤色光照射後、近赤外光を照射すると、この減少は抑えられた。このことから、この三つの遺伝子の発現がフィトクロームを介して調節されていることがわかった[(3)]。組換え型*pra 2*蛋白質に対するモノクローナル抗体を作成し、この抗体を用いて、*pra2*蛋白質の発現を調べた。*pra2*蛋白質は暗所生育エンドウ茎に主に存在し、光照射により消失した。*pra2*蛋白質は茎の光応答に関与している可能性がある。

(1) *FEBS Lett.* **293**, 124 (1991)
(2) *Plant Cell Physiol.* **34**, 447 (1993)
(3) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 6636 (1993)

## S3aC3

耐塩性緑藻ドナリエラの浸透圧調節に関与するプロテインキナーゼ

武藤尚志[1,2]，湯浅高志[2,3]（名大・[1]生物分子応答研究センター・[2]大学院農学研究科，[3]東京大・大学院理学系）

ドナリエラに低浸透圧を負荷すると細胞は一時的に膨潤するが元の形状を回復する。この回復はK-252aによって阻害された。$^{32}$Pラベル細胞に低浸透圧負荷すると5分後をピークとして28-32kD蛋白が一過的にリン酸化された。このリン酸化はK-252aによって阻害され、A23187存在下では浸透圧に関係なく起こった。以上の結果は低浸透圧によりドナリエラ細胞内$Ca^{2+}$濃度上昇が起こり、$Ca^{2+}$依存性プロテインキナーゼ(CDPK)が活性化を受け、28-32kD蛋白をリン酸化したことを示唆している。一方、低浸透圧負荷2分後に40-kDのミエリン塩基性蛋白を基質とするプロテインキナーゼ(MBPK)活性の一過的上昇が観察された。

ドナリエラの精製60-kDのCDPKは$10^{-6}$M$Ca^{2+}$で顕著な活性化を受けて顕著に疎水性を増し、ミクロソームに結合し膜蛋白をリン酸化した。この中にはin vivoでリン酸化された28-kD蛋白と一致するものが見られた。また、ミクロソームを$Ca^{2+}$の存在下でCDPKによってリン酸化すると、40kD-MBPKが活性化された。したがってドナリエラの浸透圧シグナル伝達においてCDPKとMBPKはプロテインキナーゼカスケードを構成しているものと推定される。

精製蛋白とcDNAの解析から推定したCDPKの構造についても述べる。

## S3aC4

オーキシンの情報伝達におけるオーキシン結合蛋白質の役割

下村正二（農業生物資源研究所）

植物ホルモン・オーキシンに対する細胞の特異性から判断して，オーキシンを認識し情報を伝達する受容体蛋白質が存在していると考えられる。植物には分子量や細胞内局在性に関して性質の異なる数種のオーキシン結合蛋白質が検出されてきているが，植物細胞がオーキシンに対して多様な応答を示すために複数のオーキシン受容体の介在を必要とするのかもしれない。私たちは，これらのオーキシン結合蛋白質の中で，ミクロソーム画分に見いだされる蛋白質について，その遺伝子およびｃＤＮＡクローンをトウモロコシ，アラビドプシスおよびタバコから単離し，構造解析を行った。オーキシンの情報伝達におけるこの蛋白質の役割を明らかにするために，この蛋白質をコードする遺伝子およびそのアンチセンス遺伝子を導入した形質転換タバコを作成し，その性質を調べたところ，オーキシンに依存した細胞増殖において異なる性質を示すことが明らかになった。

## S3aC5

プロトンポンプの分子構造と脂質による調節機構

笠毛邦弘、山西弘恭[1]（農水省・食総研、[1]農水省・東北農試）

細胞膜や液胞膜に内在するATPase(ATP加水分解酵素)はプロトンポンプとも呼ばれ、ATPを分解することによって生じるエネルギーで膜の内外に形成されるプロトンの勾配により直接的もしくは間接的にイオン、アミノ酸、糖および有機酸の膜輸送を行う機能を有する。これらの働きにより細胞内の恒常性が広く保たれ生命が維持されている。

細胞膜のプロトンポンプの遺伝子は最近我々のグループを含むいくつかの研究室で報告され、プロトンポンプの直接的な機能を遺伝子ならびにこの酵素の構造的な面からも明らかにされつつある。

これらポンプはホルモンを介しての情報伝達、低温、高塩、病原菌および光などの環境ストレスなどに対しても著しく反応を示すことも明らかになった。また我々はこれらポンプを人工膜リポゾームへ埋め込み、プロトン輸送を有する再構成膜小胞（プロテオリポゾーム）の構築に成功した。またこれらの構築の過程においてプロトンポンプの活性は細胞膜の主成分であるリン脂質の分子種により強く影響を受けることを明らかにし、プロトンポンプとそれを取り巻くリン脂質の間に密接な関連があることを明らかにした。実際にこのような機構が生体内で起こっていることを耐冷性の異なるイネの再構成膜系の実験が明らかにしたので併せて報告したい。

# 一般講演

## 第1日　3月28日（月）

一般講演

第１日　３月28日（月）　午前の部

Ａ会場　代謝
Ｂ会場　細胞壁（１）
Ｄ会場　環境応答（１）
Ｅ会場　細胞骨格（１）
Ｆ会場　植物・微生物相互作用
Ｇ会場　形態形成（１）
Ｈ会場　光合成（１）
Ｉ会場　遺伝子発現（１）

## 1aA01

ホウレンソウ培養細胞の硝酸還元酵素と亜硝酸還元酵素の発現調節に対するグルタミンの影響

小川京子、白石斉聖[1]、井田正二[2]、中川弘毅[3]、駒嶺穆
（日本女子大・理・物生、[1]ミシガン工科大・生物、[2]京都大・食研、[3]千葉大・園芸・農化）

硝酸還元酵素（ＮＲ）は、高等植物の硝酸同化の第一段階に働く酵素であり、硝酸同化経路を律速している。ＮＲと亜硝酸還元酵素（ＮｉＲ）は、硝酸イオン、光により活性、酵素量、ｍＲＮＡの発現が誘導される。このポジティブな調節の他に、硝酸代謝物のアンモニアやグルタミンによるネガティブな調節がアカパンカビなどで報告されている。高等植物のＮＲ、ＮｉＲの発現調節におけるグルタミンの作用については、未解決の部分が多く残されている。我々は、グルタミンの代謝抑制の解析のために、グルタミンを唯一の窒素源としたホウレンソウの培養細胞系を用い、ＮＲとＮｉＲの活性、酵素量、ｍＲＮＡの発現について検討した。その結果、ＮＲの活性、酵素量は減少し（repression）、その後培地中のグルタミンの減少に伴って上昇する傾向（derepression）が見られた。しかし、ＮｉＲは、グルタミンの影響を受けず、低いレベルの活性、酵素量であった。このことから、硝酸イオンによる酵素の誘導の他に、グルタミンによる制御機構が存在し、ＮＲは複数の制御機構で調節されている。またＮＲとＮｉＲは、異なる発現調節をしていることが示唆された。

## 1aA02

ハス発芽種子における貯蔵物質の分解

前田　ゆり、南川　隆雄、徐　本美[1]、山内　大輔（都立大・理・生物、[1]北京植物園）

ハスは長年月発芽力を保持することが知られている。ここではハスの発芽種子における貯蔵物質の分解系を調べる目的で、発達過程での貯蔵物質の含量変化などを測定した。ハス（*Nelumbo nucifera Gaerfn*）の種子を室温で６時間濃硫酸処理したのち、よく水洗し堅い外皮を除き、27 ℃で 1〜3 週間発芽させた。同様の堅い外皮をもつ双子葉類マメ科種子に比べると、ハスの発芽速度はたいへん遅く、1 週間の遅滞期ののちシュートの伸長が始まった。貯蔵デンプンは 1〜3 週間の間ほぼ同じ速度で分解され、その間全可溶性糖および還元糖含量はいったん 1 週間目に上昇を示したが、のち減少した。タンパク質のうちグロブリン画分はデンプン同様に連続的に減少し、それに伴いアルブミン画分は 2〜3 週間目に多少増加した。可溶性α-アミノ態 N はグロブリンの分解とともに増加した。グロブリンの SDS-PAGE パターンは 3 週間にわたって大きな変化はなかったが、アルブミンのパターンは大きく変動した。アゾアルブミンおよび青色デンプンを基質としてプロテアーゼおよびα-アミラーゼの活性測定を試みたが、子葉中に両酵素活性は検出できなかった。しかし、デンプンホスホリラーゼ活性は乾燥種子の子葉中に検出され、発芽とともにその活性は低下した。デンプン分解はアミラーゼではなくホスホリラーゼによっているとみられる。タンパク質分解酵素については検討中である。

## 1aA03

*Vigna mungo* 発芽種子におけるα-アミラーゼの発現

種山正登志，山内大輔，南川隆雄（都立大・理・生物）

*V. mungo* 種子では発芽に伴い子葉中のα-アミラーゼ活性が著しい増加を示し，子葉の貯蔵デンプンの分解に働く。我々はこれまでにこのα-アミラーゼの cDNA クローンを単離し，その塩基配列を決定している。免疫ブロット法及び RNA ブロット法により，発芽子葉中のα-アミラーゼ活性の上昇はその mRNA レベルに依存していることが示された。ゲノムサザンブロット分析の結果から，多くのイネ科植物のα-アミラーゼ遺伝子とは異なり，*V. mungo* には１コピーの同遺伝子が存在することが分かった。次に PCR 法とゲノム DNA ミニライブラリーからの選別を併用してこの遺伝子を単離し，塩基配列を決定した。遺伝子は３イントロン・４エキソンからなり，この構成はイネのサブファミリー２に属する同遺伝子と同じであった。胚軸を除去した単離子葉をインキュベートしても，α-アミラーゼ活性及びその mRNA 量は増加してくるが，高濃度の糖類を与えるとその上昇は抑えられた。また単離子葉に$10^{-4}$〜$10^{-5}$ M $GA_3$ を与えると酵素活性はある程度の上昇を示したが，イネ科穀粒での同酵素合成に及ぼす GA 誘導効果ほど顕著なものではなかった。

## 1aA04

発芽時のキュウリ子葉における$H_2O_2$消去系の消長

丑丸敬史、辻英夫（京都大・理・植物）

発芽時のキュウリ子葉における活性酸素消去系酵素の消長について調べた。乾燥種子のdehydroascorbate reductase、glutathione reductaseの活性は発芽6日後の子葉よりも高いが、superoxide dismutase、monodehydroascorbate reductase、catalaseの活性はそれぞれエイジ6日の子葉の35、29、8%しかなく、ascorbate peroxidase (APX)の活性は検出されなかった。また、guaiacol peroxidaseの活性はわずかに認められたが、cytochrome *c* peroxidase、glutathione peroxidaseの活性は検出されなかった。このように、乾燥種子中にはアスコルビン酸が関与する$H_2O_2$消去系のうちAPXだけが存在せず、また他のperoxidaseで補完されているということもなかった。発芽が進むにつれてAPX活性は急増した。このように、発芽初期には$H_2O_2$消去能が低く、$H_2O_2$に対する耐性が低いことが予想されたため、種子を種々の濃度の$H_2O_2$溶液中で36時間発芽させたところ、500 mM $H_2O_2$で初めて発根が阻害されたが、100 mMではそのような阻害は認められなかった。また、子葉発達の指標として用いたcytochrome *c* oxidase、isocitrate lyase活性増加もこれらの濃度の$H_2O_2$で阻害されなかった。これに比べ、緑色子葉では10 mM $H_2O_2$で退色が認められたので、発芽初期の芽生えは$H_2O_2$に対する耐性が極めて高いと言える。また、イネとオオムギでも同様な結果が得られたので、併せて報告する。

## 1aA05

キュウリ子葉11Sグロブリンの発芽時における分解機構

山内靖雄、[1]坂田朋子、[1]杉本敏男、[1]王子善清（神戸大・自然科学、[1]神戸大・農・植物栄養）

キュウリ(*Cucumis sativum* L. 四葉）種子に含まれる11Sグロブリンの分解経路、それに関与するプロテアーゼの分子種同定を試みた。

キュウリ子葉では11Sグロブリンの分解が浸漬後３日目から始まるが、この時期までには等電点の異なる６種類のプロテアーゼの発現が見られた。浸漬後２日目にはアルカリ性側に等電点を持つシステインプロテアーゼが発現するが、このプロテアーゼは中性から弱アルカリ性条件下で11Sグロブリンを限定分解し、その分解産物は発芽種子で検出されたものと一致していた。この限定分解活性は乾燥種子中には見られなかったが、キュウリ種子を5 mMシクロヘキシミド溶液で発芽させた時に浸漬後４日目に見られたことから、乾燥種子では不活性型で存在し、発芽過程で活性化されていると考えられた。浸漬後３日目には酸性側に等電点を持ち*de novo*合成されるプロテアーゼが現れるが、これらにはアスパラギン酸、システインプロテアーゼが含まれていた。これらのプロテアーゼは分子量、アゾカゼインに対する至適pHはよく似ていたが、グロブリン分解活性の至適pHには違いがあった。このことから、発芽子葉中での11Sグロブリンの分解の進行にはプロテアーゼの存在だけではなく、プロテインボディー中のpHも大きな要因の一つであることが考えられた。

## 1aA06

グルタミン酸・ショ糖を多く蓄積する登熟ダイズ種子の窒素・炭素代謝

増田亮一，蒲地一成[1]（農水省・食総研，[1]厚生省・予研）

在来のダイズ種子には，転流された同化産物（アミノ酸，ショ糖）の蓄積量が登熟中に多量となる種子が存在する．'茶香り'ではグルタミン酸，アラニン，アスパラギンを主とした遊離アミノ酸含量が1gfw，ショ糖が4gfwを越え，通常のダイズ種子の２倍以上となる．このような種子のシンク機能の特性を明かにするため，子葉，種皮のアミノ酸，ショ糖代謝酵素の時期的変動を検討した．

ダイズ子葉ではタンパク質蓄積が増加する時期にＧＡＧＡＴ活性も同時に上昇する．登熟中，ＮＡＤＨ型がＦＤ型に比べ常に高い活性を示した．高蓄積種子では登熟前期（タンパク質蓄積速度が低い），既に両方の活性の上昇が認められた．ＧＤＨは子葉が合成型αからなり，種皮は脱アミノ型βが多いアイソザイムとなり相違していたが，グルタミン酸集積量の差異による種子間の相違はなかった．活性は高集積型が通常の種子に比べ，子葉，種皮とも活性がやや低くかった．ＧＳ，ＡＳNaseは登熟中の高集積型子葉でやや高い活性を示した．

グルタミン酸高蓄積型種子は，種子貯蔵タンパク質の多いダイズの仲間ではあるが，子葉のアミノ酸合成代謝が貯蔵タンパク質合成とパラレルではなく，そのために一時的にグルタミン酸，アラニンのプール量が大きくなったと考えられた．種皮，子葉のショ糖の輸送・分解・合成に関わる酵素，アミノ酸合成の基質供給に関わる酵素の活性の相違についても報告する．

## 1aA07

イネ sugary ミュータントにおけるデンプンの分析とその生化学的要因の解析

中村保典、梅本貴之、高畑康浩、天野悦夫、佐藤光（農水省・生物研、東北農試、九州農試、九州大・農学部）

デンプンの主成分であるアミロペクチンの分子構造特性は一般にブランチングエンザイム（ＱＥ）単独またはスターチシンターゼとの協同作用によって決定されると考えられているが確たる実験的証拠に基づいている訳ではない。われわれは一連のイネ種子のデンプンミュータント（sugary）を用いて実験を行い、以下の結果と結論を得た。

１．sugary デンプンの主成分は、アミロペクチンよりもα-1,6分岐頻度の高いフィトグリコーゲン様であった。

２．デンプンとシュクロース代謝に関与する種子内の主要酵素のレベルを調査した結果、ミュータントではデンプン デブランチング エンザイム（Ｒエンザイムとも言う。ＲＥと略す）活性が、親品種と比べて約８－１５％に低下しており、これが sugary 変異の主要な原因と考えられた。

３．以上の結果から、ＲＥはアミロペクチン合成に関与しており、ＱＥの作用だけではアミロペクチンよりも分岐度の高いフィトグリコーゲンが生成されるが、ＲＥの枝切り作用によってアミロペクチンが合成されると推定した。

４．ＲＥの抗体を使用したウエスタンブロット分析の結果は、ミュータントでのＲＥ活性の低下がＲＥ量の低下に起因することを示した。従って sugary 変異はＲＥの構造遺伝子の変異ではなく、ＲＥ遺伝子の調節領域か発現調節因子をコードしている遺伝子の変異によると推定した。

## 1aA08

イネ登熟期胚乳デンプン デブランチング エンザイム（Ｒ-エンザイム）の精製とｃＤＮＡ構造

中村保典[*]、梅本貴之[**]、大潟直樹[*]（農水省・生物研[*]、東北農試[**]）

前報の結果から、イネ胚乳Ｒ-エンザイム（ＲＥ）はアミロペクチンの構造決定に関与している可能性が高いが、植物ＲＥの遺伝子構造は全く知られていない。

ＲＥを登熟期イネ種子から、各種ＨＰＬＣクロマトグラフィーにより精製した。その結果、ＲＥの分子量はＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析で約１０万の単量体酵素であり、戸栗[1]の結果と一致した。

本酵素のポリクローナル抗体を調製後、イネ胚乳ＲＥのｃＤＮＡクローンを抗体法によってスクリーニングし、ＲＥのｃＤＮＡの全長シーケンスをジデオキシ法によって決めた。Edman 法によって直接決定したＲＥ内部の部分的なアミノ酸配列は、ｃＤＮＡシーケンスから想定されるアミノ酸配列の中に確認された。ヒト筋肉及びウサギ筋肉ＲＥの相同性、様々な生物種のα-1,4-及びα-1,6-グリコシル結合を分解する他の酵素との相同性についても議論する。

1) Toguri,T. (1991) J. Plant Physiol. 137: 541-546.

## 1aA09

ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* における硝酸還元酵素活性の日周変化の調節

中村良子, 猪川倫好（筑波大・生物）

海産のラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* は窒素源が十分にある条件では日周鉛直移動をすることが知られている。無機窒素同化の初期反応に関与する酵素の中でも特に硝酸還元酵素(NR) 活性は最も顕著な日周変化を示しその活性変化はほぼ細胞の日周鉛直移動のリズムと一致していた。更に、水中環境下では硝酸が主な無機窒素源であることを踏まえると、*Heterosigma* でどのように NR 活性の日周変化が制御されているかを明らかにすることは海産の単細胞藻の窒素代謝の制御機構を理解する上での重要な情報を与え得る。

*Heterosigma* の NR 活性の日周変化は１２時間明-１２時間暗の光条件下で観察した。活性は光照射とともに増加し始め３時間後にピークに達し、それ以降は減少し続け暗期６時間後には検出できないレベルにまで低下した。紅藻 *Porphyra yezoensis* の NR に対するモノクローナル抗体の NR10 を用い、イムノブロットによってこの時のNRタンパク質のレベルを調べた結果、NR 活性の変動は NR タンパク質の*de novo* 合成と分解によることが明らかになった。また連続暗条件では NR 活性、タンパク質合成共に誘導されないことから、日周変化において NR タンパク質の合成の引金となっているのは光であることが示唆された。NR の誘導は cycloheximide によって阻害されたが、chloramphenicol による阻害は見られなかった。またNR の誘導は、DCMUと$NH_4Cl$ によっても阻害された。

## 1aA10

光合成細菌*Rhodobacter capsulatus fdxN*上流に位置する２つの窒素固定必須遺伝子ORF-U2とORF-U3の解析

藤原　武志、佐伯　和彦、松原　央（阪大・理・生物）

生物窒素固定は、窒素分子のアンモニアへの還元を触媒するニトロゲナーゼ、更にはニトロゲナーゼの生合成や、この酵素への電子移動に必要な多くの蛋白質によって行なわれている。しかしながら、ニトロゲナーゼ以外のほとんどの成分の生化学的性質は不明のままである。私達は,2[4Fe-4S]フェレドキシンをコードする*fdxN*遺伝子の研究に加え，窒素固定に必須な２つの遺伝子、ORF-U2と-U3を同定してきた。ORF-U2は膜を貫通し得る蛋白質、そしてORF-U3は2[4Fe-4S]フェレドキシン様ドメインを持つ蛋白質をコードするが、これらは既知の電子伝達系とニトロゲナーゼ系をリンクする成分であることが期待される。２種のORF産物の大量発現を目的として、我々は*R.capsulatus*の*puf*-プロモーターによって、それぞれの構造遺伝子部分のみを発現させるプラスミドを作製した。各々のプラスミドは、対応するORF破壊株(Nif⁻)の窒素固定生育能を相補する、という結果を得た。更に、蛋白質の精製を目的として、ORF-U3産物のカルボキシル末端に分子標識であるヘキサ-ヒスチジン($Ni^{2+}$カラムに高いアフィニティーをもつ)を付加した改変体を発現するプラスミドを作製し、分子標識が破壊株の機能相補に影響がないことを明らかにした。現在、*R.capsulatus*そして大腸菌を宿主とした大量発現を行ない、精製を行なっている。ORF-U2遺伝子産物も同様に、分子標識を導入して細胞内局在を分析している。

## 1aB01

ニンジン培養細胞と種子胚に存在する新しい細胞外不溶性タンパク質（ＥＩＰ１８）

佐藤忍、野尻隆裕、後藤康成　（筑波大・生物）

懸濁培養を行った細胞は、様々な細胞壁タンパク質や多糖を培地中へ放出することが知られている。本研究では、胚発生に関わる細胞壁タンパク質の新しい機能を見出だすことを目的として、接合子胚発生のすぐれたモデルとして知られるニンジン細胞培養系において、培地中へ放出される不溶性のタンパク質に関して生理・生化学的解析を行うとともに、種子中における局在を明らかにした。。

Non-embryogenic callusの培養物を37μmのメッシュで濾過して得た培地を遠心することにより生じた沈殿には多くのタンパク質が含まれており、そのうち18kDa のタンパク質 (EIP18)のみはEDTA, Triton X-100+NaCl, LiCl 処理によっては可溶化されず、urea処理によって可溶化された。EIP18 の性質は以下の通りであった。1)細胞壁と挙動を供にせず、そのほとんどが培地中に放出されている、2)多糖との結合性は見出だされず、単独で不溶化する可能性が高い。3)糖鎖を有しない単純タンパク質で、グリシンを15% 含むがハイドロキシプロリンやプロリンの含量は低く、HRGPやGRP のファミリーには属さない。4)カルスの培地中では不定形の沈殿物として存在するが、不定胚における存在量はきわめて少ない。5)種子中では胚および胚乳の最内層壁に局在し、その他の植物体部位には見出だせない。

以上の結果より、EIP18 は種子胚で何等かの機能を司る新しい細胞壁タンパク質である可能性が考えられた。

## 1aB02

タケノコ細胞壁中に存在するアラビノガラクタンプロテイン

藤井康代、東　順一、岡村圭造　（京都大・農・林産）

アラビノガラクタンプロテイン（ＡＧＰ）はハイドロキシプロリン（Ｈｙｐ）が豊富な糖タンパク質の一つで、植物の細胞間層や一次壁に広く分布している。その役割については、その存在部位やホウ素とコンプレックスを形成する[1]ことから、細胞壁構成成分間の架橋に関わっている可能性が考えられる。

以前安福らが、水・メタノール・クロロホルム系を用いたタケノコに含まれるＡＧＰの抽出法について報告している[2]が、この溶媒抽出法は、作業性や収量の点で問題があり改良が望まれていた。そこで今回は、タケノコ水抽出物からのＡＧＰの単離・精製法を検討し、その構造を解析した。

剥皮したモウソウチクのタケノコを80%エタノールでホモゲナイズし、溶液に色が着かなくなるまで含水エタノールでの抽出を繰り返した。残渣を冷水で24時間、２回抽出し、抽出液を濃縮後３倍量のエタノールに投入し、遠心分離で水抽出物を回収した。この抽出物から、ゲルろ過(Sepharose CL-4B) 、カチオン交換(SP-TOYOPEARL)、アニオン交換(DEAE-TOYOPEAL) のカラムクロマトグラフィーにより、約0.1%の収量でＡＧＰを精製した。このＡＧＰは分子量が 60kDaで、β-Gal Yariv抗原と反応し、糖質約90%、タンパク質10%を含んでいた。 Gal/Araは 1.6でタンパク質の約33%がＨｙｐであった。糖鎖構造やその存在部位についても報告する。

1)東他：日本農芸化学会誌 67, 562, 1993
2)安福他：日本農芸化学会誌 64, 526, 1990

## 1aB03

イネ葯に局在し、ｱﾗﾋﾞﾉｶﾞﾗｸﾀﾝﾌﾟﾛﾃｲﾝ 糖鎖のコア構造を持つオリゴ糖について

川口健太郎[1)]・渋谷直人[2)]（農水省・北海道農試[1)]，生物研[2)]）

小胞子初期という特定の発育時期の葯は低温などのストレスに感受性で、この葯の障害がイネの障害型冷害の原因となると考えられているが、その生理学的なメカニズムは不明である。我々はこの現象の生理生化学的研究を進める中で、従来報告のない新しいオリゴ糖が冷温感受期のイネ葯に特異的に発現することを認めた。本講演では、このオリゴ糖の、葯の発達ならびに冷温処理に伴う量的変動とその構造について報告する。

（方法） オリゴ糖はイネ未熟穂より活性炭ｶﾗﾑｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰおよび逆相カラムを用いたHPLCにより精製した。糖類の定量はDionex HPLC により行い、構造解析は、メチル化分析、四重極三連質量分析装置(API-Ⅲ)、NMR 分析などにより行った。

（結果） 着目したオリゴ糖は葯にのみ時期特異的に高濃度に見出され、小胞子初期に発現、増加した後、１核後期には消滅した。さらに、低温処理（危険期に12℃４日間）により葯組織の他の主要な糖であるｸﾞﾙｺｰｽ、ﾌﾙｸﾄｰｽ、ｽｸﾛｰｽ 量が増加する一方、本オリゴ糖量は減少することがわかった。構造解析の結果、このオリゴ糖は α-L-Araf-(1→3)-α-L-Araf-(1→3)-β-D-Galp-(1→6)-β-D-Galという、従来報告のない新しい構造を有していることが判明したが、これは、細胞表層マトリックスの重要な成分であるｱﾗﾋﾞﾉｶﾞﾗｸﾀﾝﾌﾟﾛﾃｲﾝ の、糖鎖部分のコアに見られる構造であった。これらの結果は、小胞子期の葯の発達において、その細胞表面構造が非常に劇的に変動しており、その反応は低温に影響を受けやすいことを示していると思われる。

## 1aB04

塩基性７Ｓグロブリンのダイズ子葉における細胞内分布

西澤直子，森敏，渡辺佳宏[1]，平野久[1]（東大・農，[1]農水省生物研）

塩基性７Ｓグロブリン（Ｂｇ）は、ダイズ種子中に存在するシステインに富む糖タンパク質である。Ｂｇおよび他のマメ科種子やニンジン培養細胞に存在するＢｇ様タンパク質は、インシュリンやインシュリン様生長因子（ＩＧＦ）との結合能を示すことから、これらの受容体であることが期待された。そこで、ダイズ未熟子葉細胞内におけるＢｇの分布を、Ｂｇ抗体とコロイド金を用いた免疫細胞化学の手法により調べた。

その結果、Ｂｇは主に細胞壁のミドルラメラ部分や細胞間隙に存在することが明らかになった。コロイド金粒子の一部は細胞膜上にも検出された。これらの観察はＢｇがダイズ子葉細胞から分泌されて、細胞壁のミドルラメラ部分や細胞間隙に集積するタンパク質であることを示している。このようにＢｇ自身は細胞壁タンパク質であると考えられるが、一方、細胞膜上にもコロイド金粒子が検出されることは、Ｂｇを結合ドメインとして持つ他の受容体タンパク質が存在する可能性を示唆している。

## 1aB05

ホウ素結合性タンパク質の同定

石垣賢一、間藤徹、関谷次郎（京都大・農・農化）

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。我々は昨年の本大会でダイコン根のホウ素の大部分が特定のペクチン質多糖に結合した形で存在することを報告した。ホウ素は細胞質にはほとんど存在しないことからホウ素と多糖の結合は細胞壁で起こるはずである。しかし、細胞壁のpH（pH4～pH6）ではホウ素と糖の結合は自発的には起こりにくいことからホウ素と多糖の結合にはタンパク質などが関与していることが考えられた。タバコ培養細胞BY-2株を用いて細胞壁中のホウ素含有タンパク質を検索したがホウ素を含むタンパク質は見いだせなかった。そこでさらに培地ホウ素濃度を変化させたときの培地中に放出されてくるタンパク質の組成を検討した。通常培地（ホウ素濃度1ppm）で培養してきた細胞を、増殖速度が半分になるホウ素濃度（50ppb）の培地に移し培地中のポリペプチド組成をSDS-PAGEで比較したところ数本のバンドが消失していた。また、通常培地から得られた細胞外タンパク質に、ジヒドロキシボリルアニリン樹脂を用いたホウ素アフィニティークロマトを行うと、この樹脂に強い親和性を示すポリペプチドが検出され、低ホウ素培地で消失するポリペプチド３種類がこれらに含まれていた。現在これらのポリペプチドを精製する試みを行っている。また我々が単離したホウ素含有多糖をリガンドとする細胞外タンパク質のアフィニティークロマトグラフィーの結果も報告する予定である。

## 1aB06

タバコ培養細胞細胞壁の２種類の塩基性糖蛋白質の精製とそのタバコ植物体における分布

武市哲郎、川崎信二 （農水省・農業生物資源研）

タバコ培養細胞細胞壁からは２種類の塩基性糖蛋白質が見い出されその一方の糖組成、アミノ酸組成は典型的なエクステンシンの組成に一致するが、もう一方はガラクトース含量が高いなど従来知られていたものとは異なる性質を示し、"galactose−rich basic glycoprotein (GBGP)" と呼ぶことが提唱されている[1)]。今回我々はこの２種類の糖蛋白質の精製法を確立して抗体作成を行い植物体での分布を調べたので報告する。

対数増殖期のタバコ培養細胞 BY−2 の細胞壁より塩溶液によって抽出される分画より CM−Toyopearl によるクロマトグラフィーと CsCl 平衡密度勾配遠心により塩基性糖蛋白質を分離し、6M 塩酸グアニジン中での高速ゲル濾過を行ったところ 94K と 49K の位置にエクステンシンと GBGP のピークが見出された。この２つのピークは逆相クロマトグラフィーにおいても相異なる明瞭な単一ピークを示したので２種の HPLC の繰り返しにより高純度の精製を行うことができた。

この２種の糖蛋白質および除糖処理した GBGP に対する抗体を作成し、タバコ植物体における組織分布について解析した。培養細胞、培養細胞プロトプラスト、培養液、葉、茎、根の塩可溶性蛋白質についてのウェスタンブロットによると、塩可溶性エクステンシンは培養細胞、培養液、茎において認められたが塩可溶性 GBGP は培養細胞においてのみ認められた。また茎および葉柄の組織ブロット法による解析により、エクステンシンは茎の表皮に局在し、GBGP は茎および葉柄の柔組織に局在していることが示された。

1) 川崎&竹内 (1988) 第 11 回糖質シンポジウム要旨集 p61−62

## 1aB07

ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化に特異的なペルオキシダーゼｃＤＮＡの単離

佐藤　康，高木　尚，杉山宗隆，福田裕穂（東北大・理・生物）

リグニン合成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細胞壁結合性ペルオキシダーゼにより触媒されていると考えられている。しかし、管状要素分化過程においてリグニン合成部位に出現し、リグニンモノマーの重合を触媒できるような、真にin vivoでのリグニン合成に関与しているペルオキシダーゼアイソザイムは未だに明かになっていない。

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出現する細胞壁イオン結合性ペルオキシダーゼアイソザイムP5を見いだしており、局在の解析、阻害剤を用いた解析、酵素学的解析等から、P5がリグニン合成に関与している可能性が最も高いことを示している。

そこでP5の遺伝子レベルでの解析を行うため、P5のcDNAの単離を試みた。ヒャクニチソウの根を材料として、P5と思われるペルオキシダーゼアイソザイムを精製し、アミノ酸部分配列を決定した。その配列をもとに設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いて、ヒャクニチソウの培養48時間目の細胞から得たcDNAの増幅を行った結果、3種のペルオキシダーゼアイソザイムのcDNAを得る事ができた。それらの遺伝子の発現を調べた結果、一つのアイソザイムは管状要素分化に関連して強く発現する事が示され、もう一つのアイソザイムはコントロール培養条件でのみ発現する事が示された。現在これらのcDNAの発現と機能についてさらに解析を進めている。

## 1aB08

アズキ上胚軸細胞壁結合性ペルオキシダーゼの基質特異性とそれぞれの基質の酸化に対するアスコルビン酸の影響

高浜有明夫（九州歯科大・生物）

リグニン合成の出発物質である cinnamyl alcohol の誘導体はそれらのフェニル環に水酸基のみあるいは水酸基とメトキシ基を持っている。これらの化合物が酸化的重合を行なう際にはそれらの水酸基が先ず酸化されてフェノキシラジカルが形成される。ここでは、リグニン合成に関与している cinnamyl alcohol 誘導体を得ることができなかったので、フェニル環の構造がそれらの誘導体と同じである cinnamic acid（ケイヒ酸）誘導体を用いて、細胞壁結合性ペルオキシダーゼの基質特異性をフェニル環の構造から調べた。

このペルオキシダーゼは 4-ヒドロキシケイヒ酸、3,4-ジヒドロキシケイヒ酸それに3-メトキシ-4-ヒドロキシケイヒ酸は容易に酸化できたが、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシケイヒ酸は酸化できなかった。しかし、3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシケイヒ酸が他のケイヒ酸誘導体と共存するとその酸化は大きく促進され、共存する誘導体の酸化は抑えられた。アスコルビン酸は 4-ヒドロキシケイヒ酸と 3,4-ジヒドロキシケイヒ酸の酸化を完全に抑制したが、メトキシ基を持つ誘導体の酸化は部分的にしか抑制しなかった。１ＭＫＣｌによる細胞壁の処理で静電的に結合している成分を取りのぞいた場合、4-ヒドロキシケイヒ酸の酸化はアスコルビン酸で部分的にしか抑制されなかったが、3,4-ジヒドロキシケイヒ酸の酸化は完全に抑制された。以上の結果に基づいて、細胞壁でのリグニン合成調節機構について議論する。

## 1aB09

ダイコン一次根のα-L-フコシルトランスフェラーゼの細胞内局在性と器官の発達過程における酵素活性の変化

三沢宏之、円谷陽一、橋本洋一　（埼玉大・理・生化）

L-フコース（L-Fuc）を含みH型類似血液型活性を有するアラビノガラクタンープロテイン(AGP)は、ダイコンの根の発達の初期に限定的に出現し、成長とともにL-Fucは消失する[1]。本AGPの生合成には、α-L-Araf残基のC-2位にL-Fucを転移するα-L-フコシルトランスフェラーゼ（α-L-FucTase）が関与している。本研究では、ダイコン一次根の膜画分における酵素の局在性及び発芽後の各器官の発達過程における酵素活性の変動を調べた。

α-L-FucTaseの活性は、GDP-L-Fucから受容体であるピリジルアミノ化したL-Arafα(1→3)D-Galpβ(1→6)D-GalpへのL-Fuc転移産物（4糖）を逆相系HPLCで分離し、蛍光強度を測定して求めた。一次根から調製した粗膜画分を15～50%のショ糖連続密度勾配を用いて100,000 x g、15時間遠心分離し、各分画の酵素活性を測定した。標識酵素の活性の分布に基づき、α-L-FucTaseはゴルジ装置に局在することが判明した。発達段階の異なる組織の膜画分の酵素活性の測定により、α-L-FucTaseは根の発達の初期に出現し、成長に伴って消失することが明らかになった。この結果は、L-Fucを含むAGPの発現と酵素活性の消長との間に密接な相関があることを示している。

1) Tsumuraya *et al.*, Plant Physiol., 86 (1988) 155.

## 1aB10

ダイコンのアラビノガラクタンープロテインの糖鎖合成に関わるβ-D-ガラクトシルトランスフェラーゼ

加藤秀明、円谷陽一、橋本洋一　（埼玉大・理・生化）

ダイコンの組織の細胞間マトリックスと原形質膜に局在する[1]アラビノガラクタンープロテイン(AGP)の糖鎖の基本骨格は、β-1,6-ガラクトシル残基から成る側鎖がβ-1,3-ガラクタンに結合したβ-3,6-ガラクタンである。このガラクタンの合成に関与するβ-D-ガラクトシルトランスフェラーゼ(β-GalTase)の性質、受容体特異性及び局在性を調べた。

ダイコンの発芽後6日目の一次根の膜画分を酵素標品として用いた。ガラクトシル転移反応は、膜画分、UDP-[$^{14}$C]-Gal、β-1,3-ガラクタン（受容体）を含む混合液で行い、25℃に保温したのち、転移産物の放射活性を測定して酵素活性を求めた。反応の最適条件は、pH 6.0、30℃であり、15 mM $Mn^{2+}$及び0.75%界面活性剤の添加が必要である。UDP-Galに対するKm値は、0.4 mMであるが、β-1,3-ガラクタンでは、転移反応は二相性を示し、異なるKm値、0.4及び3.0 mg/mlが得られた。結合様式が異なるガラクトオリゴ糖の受容特異性を調べた結果、β-1,3-結合オリゴ糖は受容体になるが、β-1,6-結合オリゴ糖には転移しない。成根のAGPに対するGal転移はわずかであるが、側鎖に結合したα-L-Araf残基を酵素処理で除くと増加した。Gal残基は主にβ-1,6-結合で転移されることが明らかとなった。

1) Kikuchi *et al.*, Planta, 190 (1993) 525.

## 1aB11

ニホンナシ果実の成熟にともなうα-アラビノフラノシダーゼ活性の変動と果実細胞壁からの精製

立石　亮、金山喜則、山木昭平（名古屋大・農・園芸科学）

果実の成熟にともなう軟化には細胞壁の構造変化が生じており、それにはいくつかの細胞壁分解酵素の関与が示唆されている。これまで、ナシ果実の成熟にともなう細胞壁画分からのアラビノースおよびガラクトースの減少が報告され、軟化との関連が示唆されてきた。本研究では、細胞壁画分からのアラビノースの遊離に関与していると考えられるα-アラビノフラノシダーゼに着目して、果実成熟にともなう活性変動を測定するとともにその精製を試みた。

ニホンナシ果実においてα-アラビノフラノシダーゼ活性は主に細胞壁画分に存在し、しかも果実の成熟とともに顕著に増大した。そこで、この細胞壁結合α-アラビノフラノシダーゼに注目し精製を行った。まずLiClあるいはNaClによる細胞壁画分からの本酵素の可溶化を試みたが、可溶化率は数%にとどまった。その他のいくつかの方法による可溶化を試行したところ、ＣＤＴＡを用いた場合が最も回収が高かった。ＣＤＴＡによる可溶化後は、DEAE-Cellulose、Hydroxyapatite、Mono QおよびSephadex G-100を用いた各種カラムクロマトグラフィーにより精製を行った。その結果、本酵素はSDS-PAGE上で約45kDaの均一なバンドとして検出され、Sephadex G-100によるゲル濾過の結果と合わせ、約45kDaの単量体であることが推定された。

## 1aD01

ドナリエラは温度差とカチオン濃度差を感じて泳ぐ

川辺晶子、°向畑恭男（名大・理・生物）

耐塩性緑藻ドナリエラの運動性を調べる過程で、この緑藻が光のみならず、種々の塩、温度に応答して泳ぐことを見い出した。

*Dunaliella bardawil* は15°C 暗期 11 時間、30°C 明期 13 時間の周期で 2 M の塩を含む培地で 110 時間培養し、緩い遠心で集めた。X-Y レコーダーの X 軸に並行に、水平に固定した、同じ培地を満たした内径 3 mm のガラス管の中央付近に濃縮したドナリエラを注入した。ガラス管をX 軸可動バーに固定した自作の透過光検出器（660 nm LED と太陽電池のセット）で走査してドナリエラの位置を Y 軸成分として記録した。（室温＝20-25°C）

ドナリエラには受光器があり走光性があるのは知られている。このことは、ガラス管の一端からライトガイドで光を当てると藻の集団が光の方へ移動して行くことで追認できた。暗中では *Dunaliella bardawil* は注入された場所から徐々に両側に広がって行く。片側に培養済培地（遠心上清）を加えると忌避反応を示して遠ざかろうと泳いだ。また、培地の $Ca^{2+}$濃度を上げると（$Mg^{2+}$でも）濃度に応じて近づこうとし、$Na^{+}$, $K^{+}$からは遠ざかった。ガラス管の一部を暖めるとその方に泳ぎ、氷冷すると逃げようとした。$Ca^{2+}$添加の反対側を暖めると、濃淡、高低に依存して泳ぎが逆転した。これらの反応は、ランダムな泳ぎの間に快適な場所に入りこみその場に溜まると云うのではなくて、自発的に方向を決めて泳ぐように見える。

まずは定性的な観察記録であるが、どのようなセンサーを持っているのか興味がある。

## 1aD02

イネα-アミラーゼにおける代謝糖による発現調節

下司直美[1]，三ッ井敏明[2]，山口淳二[1,3]（[1]名大・農・生化学制御，[2]新潟大・農・応用生化，[3]名大・生物応答センター）

イネα-アミラーゼの発現調節としては、ジベレリン、アブシジン酸による転写レベルでの正の調節、負の調節がよく知られてきたが、近年、ショ糖、グルコース、フルクトース等の代謝糖によって負の調節が働いていることが明らかになってきた。我々は、後者の現象をアイソフォーム間の挙動の違いに重点をおいて報告する。

イネ液体培養細胞系において、等電点の異るアミラーゼ分子I、II、III、IV、Vは代謝糖存在下では発現が抑制されているが、ショ糖欠乏状態になると積極的に合成、分泌されるようになる。しかし、アイソフォーム間における上記発現の程度は異っている。すなわち、代謝糖存在下においてもIはある程度発現しているのに対して、IIIの発現は完全に抑制される。また、代謝糖欠乏状態でIIIは顕著に合成され始めるのに対し、IはIIIほど極端には合成量は変化しない。さらなる解析のために、我々はIとIIIとを精製し、アミノ酸配列を分析した。その結果、I は *RAmy 1A*、IIIは *RAmy 3D* 遺伝子の各々翻訳産物であることを確認した。また、*RAmy 1A*、*RAmy 3D* の各々のcDNAをプローブに用いたドットブロット解析を行い、代謝糖欠乏状態におけるI、IIIの発現量の違いはmRNA量の違いによることを明らかにした。

## 1aD03

**嫌気発芽条件におけるα-アミラーゼの誘導**

Pierdomenico Perata[1]，下司直美，赤沢堯，山口淳二[2]（名大・農・生化学制御，1 ピザ大学植物生理，2 名大・生物応答センター）

多くの植物の種子では，酸素欠乏条件下において発芽することができないことが知られている．そこで，穀物種子（イネ，大麦，小麦，オート麦，ライ麦）の嫌気条件下の発芽時におけるα-アミラーゼ誘導現象について検討した．

完全嫌気条件下において，イネを除く上記穀物種子において，発芽のみならずα-アミラーゼの誘導現象も観察されなかった．しかし，イネ種子では，α-アミラーゼの誘導現象と発芽が観察された．完全嫌気的条件下の無胚半切種子を用いて，アリューロン層細胞においてジベレリンに依存するα-アミラーゼの誘導現象を解析した．その結果，酸素が欠乏することによってジベレリンに対する種子の感受性が低下していることが明かとなった．上記穀物種子の中ではイネのみが例外的であった．

無胚半切種子を用いた実験から，イネではジベレリン添加によりα-アミラーゼ mRNA の蓄積が起こるのに対し，大麦のそれでは観察されなかった．これらのことより，発芽時の酸素欠乏の作用点として転写段階での制御の可能性が示唆された．

文献：Perata et al., *Planta*, **188**: 611-618 (1992)
Perata et al., *Planta*, **191**: 402-408 (1993)

## 1aD04

**低酸素ストレスによるイネ培養細胞の細胞内ｐＨの変化；液胞膜プロトンポンプ阻害剤の影響**

矢崎芳明、坂野勝啓（農水省・生物研）

イネ(Oryza sativa var. musasikogane)培養細胞は低酸素ストレス下で、液胞はアルカリ化せず細胞質の酸性化の度合が小さい（1993年度植物生理学会年会）。これはイネの液胞膜$H^+$輸送系が、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ないからであると考えられる。そこで今回は、$^{31}$P-NMRを用いてイネ培養細胞に低酸素ストレス（酸素通気停止）を与えた場合の細胞内ｐＨの変化を、液胞膜プロトンポンプ阻害剤(Bafilomycin $A_1$, KF)を併用して測定した。

液胞膜$H^+$-ATPaseを阻害するBafilomycin $A_1$を酸素通気状態で培地中に加えると、イネ培養細胞の液胞にアルカリ化が見られたが、細胞質ｐＨに変化はなかった。この後酸素通気を止めると、細胞質の酸性化、少し遅れて液胞のアルカリ化が見られた。次に液胞膜$H^+$-PPaseを阻害するＫＦを培地中に加えて同様の実験を行った。酸素通気状態では、ＫＦによって細胞質および液胞ｐＨに変化は見られなかった。その後酸素通気を停止すると、細胞質の酸性化とともに液胞のアルカリ化はすばやく起こり、液胞はいったんわずかに酸性化したのち安定なｐＨになった。さらに、Bafilomycin $A_1$とＫＦを同時に培地中に加えると、酸素通気停止後細胞質の大きな酸性化、液胞のすばやいアルカリ化が見られた。

従って、イネ培養細胞は低酸素ストレス下でも２種類のプロトンポンプが機能しているために、液胞のアルカリ化が起こりにくいものと示唆される。

## 1aD05

イネの$Na^+/H^+$アンチポーター活性

田中喜之、石川隆之[1]、矢崎芳明、小池説夫（農水省・生物研、[1]国際農林水産業研究ｾﾝﾀｰ）

液胞膜に存在する$Na^+/H^+$アンチポーターは、液胞のプロトン濃度勾配を利用し細胞質から$Na^+$イオンを液胞に取り込む働きをし、耐塩性に大きく寄与するとして耐塩性の高い植物、テンサイやオオムギにおいて研究されてきた。イネは耐塩性の低い作物であり、耐塩性の高いオオムギでは生長を50%抑制するNaCl濃度がおよそ250mMであるのに対し、150mMと低い。しかしイネにおいても30mMNaCl程度では僅かながら生長促進効果がみとめられた。塩処理による液胞内pHの変化をＮＭＲにより測定したところ、イネではpHが0.40(5.31→5.71)上昇し、オオムギにおける0.66(5.21→5.87)に比べると値は小さいが$Na^+/H^+$アンチポーターの存在を示唆する結果が得られた。イネ根の液胞膜小胞を遠心浮遊法により調製した。$Na^+/H^+$アンチポーター活性は、$H^+$-ATPaseによるプロトン濃度勾配の形成をｱｸﾘｼﾞﾝｵﾚﾝｼﾞの蛍光消光によりモニターし、NaCl添加による小胞内プロトン濃度の低下にともなう蛍光の回復により測定した。NaClを含まない水耕液で生育したイネから調製した液胞膜小胞の$Na^+/H^+$アンチポーター活性は低いが、水耕液を100mMNaClを含むものに交換すると１時間以内に活性が２から３倍上昇し、以後対照区より高い活性を維持した。オオムギにおいてよく知られている塩ストレスによる$Na^+/H^+$アンチポーターの活性化がイネにおいても観察された。以上の結果は、耐塩性の低いイネにおいても塩ストレスの回避に$Na^+/H^+$アンチポーターが働いている可能性を示唆した。

## 1aD06

オカヒジキ葉液胞膜Na /H アンチポーター

小池説夫、田中喜之（農水省・生物研）

液胞への$Na^+$の蓄積能は耐塩性の植物が備えるべき重要な機能の一つである。この機能を担う$Na^+/H^+$アンチポート活性の分子レベルでの理解のために、$Na^+/H^+$アンチポータータンパク質と遺伝子の単離・同定を目指している。材料として用いているオカヒジキ（*Salsola komarovii* Iljin)は、海岸の砂地に広く分布する耐塩性のアカザ科の一年草であり、葉液胞膜に高い$Na^+/H^+$アンチポート活性が存在する。

アンチポータータンパク質の同定のための方法として、動物細胞$Na^+/H^+$アンチポーターの拮抗阻害剤アミロライドのアナログを用いたフォトアフィニティーラベリングと液胞膜タンパク質の再構成系とを併用している。アミロライドのアナログ「$^3$H」-MIA(メチルイソプチルアミロライド）を$Na^+$存在下、非存在下で膜小胞とインキュベートした後、水銀ランプで一分以内の光照射を行った。膜タンパク質SDS-PAGEゲルのオートラディオグラム上で$Na^+$存在下の方が、$Na^+$非存在下の場合よりも弱く露光されたバンドをアンチポータータンパク質の候補とした。一方、大豆リン脂質（アゾレクチン）を用いたリポソームに、可溶化させた液胞膜タンパク質を組込ませてアンチポート活性のある再構成膜小胞を調製した。現在、これらの方法により、候補タンパク質を絞り込みつつある。

## 1aD07

タバコ培養細胞のカリウム過剰に対する応答

小林優，間藤徹，中野明正，關谷次郎（京都大・農・農化）

培地中の高濃度$K^+$は植物の生育を阻害し，その程度は等濃度の$Na^+$よりも強いことが知られている．タバコ培養細胞BY-2株を基本培地（$K^+$21mM）に$K^+$100mMを添加した高濃度$K^+$培地へ移すと，細胞死は認められなかったが増殖開始が著しく遅れた．しかし高濃度$K^+$培地において継代培養を続けると，速やかに増殖を始める馴化株が得られた．馴化株において発揮されている高濃度$K^+$耐性機構を明らかにするために野生株，馴化株の差異を検討した．

高濃度$K^+$培地における生育遅延の理由として(1)培地の高浸透圧(2)細胞内高濃度$K^+$(3)膜電位形成阻害，等が考えられる．細胞内$K^+$濃度は野生株で約100mM，馴化株で約200mMであったが，基本培地から高濃度$K^+$培地に移した直後の細胞でも約190mMと馴化株程度であり，生育遅延の原因は細胞内$K^+$濃度が高いことではないと判断した．また浸透圧構成因子を検討したところ，培地浸透圧の増加に見合う細胞内$K^+$濃度の増加が見られ，それ以外顕著に増加する溶質はなかった．膜電位を脂溶性カチオンTPP$^+$の細胞内外の分布によって測定すると，両株とも約-60mVで差は見られなかった．0.5mM $NaN_3$でATP供給を阻害すると，馴化株-5mV，野生株-45mV程度となった．これらの値は内外の$K^+$濃度比から計算される$K^+$拡散電位とほぼ等しかった．従って馴化株では，培地$K^+$濃度が高いことによる膜電位受動性画分の減少を，起電性プロトンポンプの寄与を高めて補償していると推測した．現在馴化過程におけるプロトンポンプ活性の変動について検討中である．

## 1aD08

コムギ幼植物の塩ストレスによるプロリン蓄積とピロリン-5-カルボン酸レダクターゼ活性

安藤 俊哉, 真田 幸香, 和田 敬四郎, 玉井 直人
(金沢大・理・生物)

オオムギや*Mesembryanthemum crystallinum*は，塩ストレス下でベタイン蓄積やCAM化による塩耐性を示す。それに先だちプロリン蓄積が見られた。そのプロリン蓄積は明期に見られ，暗期には未処理のプロリンレベルと同じレベルまで減少した（第15回国際植物科学会議発表）。本研究では塩ストレスに応答したプロリン含量の明暗における変動とプロリン合成の末端酵素であるピロリン-5-カルボン酸レダクターゼ（P5CR）活性との関連について調べた。発芽後２週間のコムギ幼植物に塩ストレス（115 mM NaCl）を与え，12時間の明暗周期で生育させると，2日目の明期からプロリンの蓄積が見られ，暗期には未処理のプロリンレベルまで減少した。明期のプロリン蓄積量と暗期の減少量の変動巾は処理時間の経過に伴って増加し，6日目からその変動巾が急激に増加し，暗期でもプロリン蓄積が見られるようになった。この時期からP5CR活性は未処理のより増加し始めた。それまでは塩ストレスによってプロリンの明暗変動が見られたにも拘らず，塩ストレス有無によるP5CR活性の変動は変化しなかった。これらの知見と分子生物学的知見とから，塩ストレス応答によるプロリン蓄積の機構を考察する。

## 1aD09

シロイヌナズナのプロリン合成酵素（$\Delta^1$-ピロリン-5-カルボン酸合成酵素)のcDNAクローニングとストレス条件下での遺伝子発現

吉羽洋周[1,2]、清末知宏[1]、篠崎和子[3,4]、片桐健[1]、澤口剛[1]、上田寛子[3]、和田敬四郎[3]、原田義則[2]、篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子、[2]日立・基礎研、[3]金沢大・理、[4]農水省・国際農研）

耐塩性植物を含む幾つかの植物では、高塩、乾燥等の水ストレス時に体内にプロリンを蓄積することが知られている。これは、プロリンが適合溶質として植物体内の浸透圧を調節する機能を持つためと考えられている。そのため、本遺伝子を有用作物に導入することにより耐塩性あるいは耐乾燥性作物の作出が期待される。そこで本研究では、プロリン合成に関与する$\Delta^1$-ピロリン-5-カルボン酸合成酵素（P5CS）遺伝子のcDNAを乾燥処理したシロイヌナズナのcDNAライブラリーより単離し、構造解析を行なった。単離したシロイヌナズナのP5CS cDNAは、先に単離されたダイズのP5CS cDNAとアミノ酸レベルで75％の高い相同性が認められた。また、ゲノミックサザン解析により1遺伝子であることが示唆された。さらに、ノーザン解析から乾燥、高塩およびABA処理でその発現が誘導され、低温および高温処理では発現しないことがわかった。また、実際、プロリン含量も遺伝子発現に伴い増加した。一方、ダイズにおいてプロリン合成系の最終段階を触媒する酵素$\Delta^1$-ピロリン-5-カルボン酸レダクターゼ(P5CR)遺伝子の発現が塩ストレス時に増加するという報告がなされていることから、本研究でもシロイヌナズナよりP5CR cDNAを単離し、ノーザン解析を行なった。しかし、乾燥、高塩およびABA処理によるその誘導は認められなかった。以上の結果から、シロイヌナズナにおいて上記ストレス時におけるプロリン合成には、P5CSが重要な役割をはたしている可能性が示唆された。

## 1aD10

MOLECULAR CLONING OF CHOLINE OXIDASE GENE FROM *Arthrobacter globiformis*

Patcharaporn DESHNIUM, Hidenori HAYASHI[1], and Norio MURATA[1], Department of Molecular Biomechanics, The Graduate University for Advanced Studies, Okazaki, 444; [1]National Institute for Basic Biology, Okazaki, 444

The accumulation of glycinebetaine that occurs in a number of halotolerant organisms is regarded as an adaptive response to salt stress. In the Gram-positive soil bacterium, *A. globiformis*, choline oxidase is the key enzyme which converts choline to glycinebetaine. We have isolated a gene for choline oxidase from *A. globiformis* as follows: First, the N-terminal amino acid sequence of choline oxidase was determined. A partial sequence of the gene for the choline oxidase was amplified by polymerase chain reaction using oligonucleotides synthesized according to the partial amino acid sequence, as primers. The amplified partial sequence of choline oxidase gene was used as a probe for screening a genomic DNA library of *A. globiformis*. The gene thus obtained encodes a polypeptide of approximately 66 kDa.

## 1aE01

遠心したホウライシダ原糸体細胞における分裂予定位置での細胞質の集積

村田 隆、和田正三[1]（東京大・教養・生物、[1]都立大・理・生物）

高等植物の細胞では、細胞分裂に先行して分裂予定位置に出現する構造として、Preprophase band (PPB) とフラグモソームが知られている。フラグモソームは、液胞で占められた細胞に出現する細胞質の集合体であり、核を中心とした円盤状の構造をしている。液胞の少ない細胞にフラグモソームに相当するものが存在するか否かは不明である。また、PPBとフラグモソームの関係には未知の部分が多い。Ota (1961) は、通常フラグモソームが形成されないムラサキツユクサの雄しべの毛の細胞において、細胞の遠心後にフラグモソームに類似した原形質糸が発達することを報告している。今回、我々は、より遠心が容易に行えるホウライシダ原糸体細胞において類似の現象を発見し、詳細に解析したので報告する。

赤色光下で前培養したホウライシダ原糸体細胞を青色光下に移すと、細胞先端部が膨潤し、その後細胞は先端部で同調分裂をする。細胞分裂開始直前の、青色光照射開始12.5時間後に細胞を基部方向に遠心すると、核、葉緑体などのオルガネラは基部方向に移動し、先端部は液胞、油滴で占められた。核、葉緑体は先端部に戻らなかったが、本来の分裂位置である先端部には原形質糸がフラグモソーム類似の円盤状に発達し、そこに油滴が定位することがわかった。チューブリン、F-アクチンを二重染色した結果、円盤状の構造体はPPB上に発達し、F-アクチンを多く含むことがわかった。以上の結果は、PPBはフラグモソーム様の構造を形成する能力を持つことを示唆する。

## 1aE02

シダ原糸体の先端成長にともなう核の移動と細胞骨格

門田明雄、和田正三　（都立大・理・生物）

シダ原糸体は赤色光下で先端成長し、この際、細胞核は先端から一定距離に位置するように、先端成長とともに移動する。先端部表層には微小管およびF-アクチンからなるリング構造が存在し、先端成長の調節に役割を負っている（Murata et al 1987, Kadota and Wada 1989）。最近、我々はこのリング状構造が存在する細胞先端部表層と細胞核先端部を結ぶ微小管、F-アクチンの繊維構造を見い出し、この構造が成長にともなう核の移動に役割を持つ可能性を示した(Kadota and Wada 1993）。今回はこの微小管、F-アクチン構造および核の動きに対する細胞骨格阻害剤の作用を調べた。

微小管、F-アクチンは紡錘形の核先端部と先端部表層を結ぶだけでなく、核の基部側先端からも基部側の細胞表層に伸びている。サイトカラシンB処理によりF-アクチンを破壊すると、原糸体は成長を停止し、核の移動も停止する。コルヒチン処理により微小管を破壊すると、やはり成長が大きく抑制されるが、核は逆に、基部方向へ移動する。以上の結果は、核先端部から細胞先端部表層に伸びる微小管が、細胞成長時に核を細胞先端から一定の距離につなぎとめる役割を、F-アクチンは核の基部方向への動きに役割を持つことを示唆する。

## 1aE03

赤色光により誘導される副細胞形成時の核の移動機構

鈴木理恵・杉本慶子・風間晴子（国際基督教大学・生物）

私達はこれまでキウリ下胚軸表皮の気孔形成の諸過程が赤色光によって制御されていることを示し、赤色光による副細胞形成系を細胞分化を人為的に制御できる系として確立した。今回は赤色光照射によって誘導される副細胞(SC)形成時に見られる副細胞母細胞 (SMC)の不等分裂に伴う核の移動メカニズムについて報告する。SC形成時において核の移動距離が長い孔辺細胞(GC)の上方に隣接したSMCにおける核の移動に着目し、赤色光照射による核の移動距離、時間的推移、SC形成に伴う細胞骨格の動静について調べた。1) 赤色光照射後約40時間後に核は隣接するGC方向へ移動を開始し、最終的にはGC側約35%に位置した。2) 核の移動に伴い、長軸に対し平行に配向した微小管が観察された。3) 1.5μmole/l クレマート（微小管重合阻害剤）処理によって、赤色光下における核の移動は阻害され、核は細胞のほぼ中央に位置したままであった。一方、5μg/ml サイトカラシンD（マイクロフィラメントの阻害剤）処理の場合、暗中では核は細胞中央に位置したままであったが、赤色光下では核の位置はランダムになった。これらの結果は、微小管とマイクロフィラメントが赤色光によって開始される核の移動に密接に関与していることを示すものであり、赤色光により誘導される核の移動機構に関し考えられるモデルについて検討する。

## 1aE04

気孔閉鎖運動における孔辺細胞微小管の分布変化

姜　昌杰，中嶋信美，近藤矩朗（国立環境研究所）

気孔は二酸化炭素（$CO_2$）や光，アブシジン酸（ＡＢＡ）など様々な環境変化に応じて開閉運動を行うことにより光合成や蒸散の速度を調節する。気孔は表皮細胞から分化した一対の孔辺細胞によって形成されるが，微小管は孔辺細胞の分化において重要な役割を果すことが知られている。本研究では，微小管と気孔開閉運動との関係を明らかにする目的で，ＡＢＡによるソラマメ気孔閉鎖運動における孔辺細胞微小管の分布変化を調べた。

十分に展開したソラマメ(*Vicia faba*)葉の裏側表皮の孔辺細胞の微小管を間接蛍光抗体法により観察した。通常，昼間の気孔は開いており孔辺細胞の微小管は細胞長軸とほぼ直角に並んでいたが，10 μMのＡＢＡ一時間処理で気孔はほぼ完全に閉鎖し，孔辺細胞の微小管は断片化しほとんど消失した。この反応は可逆的であり，ＡＢＡの除去により一時間以内に気孔の開きとともに微小管は再生した。孔辺細胞周辺の表皮細胞にはこのような現象は見られなかったことから，この反応は孔辺細胞に特異的なものであると考えられる。しかし，微小管の消失は気孔の閉鎖より遅い時期に起こったこと，微小管の阻害剤であるpropyzamide 処理により微小管を破壊しても気孔の閉鎖は起こらなかったことから，微小管は気孔の閉鎖運動に直接には関与せず，むしろ開閉運動に適した孔辺細胞の形態形成及び維持などに関与していると考えられる。

## 1aE05

表層微小管の配向と細胞核の変形に及ぼすブラシノライドの影響

関真紀子，勝見允行（国際基督教大・生物）

細胞伸長効果のあるブラシノライド（BR）の表層微小管の配向に及ぼす影響について、また、低温処理した切片の表層微小管の配向と細胞核の変形にブラシノライドが及ぼす影響について間接蛍光抗体法と細胞核のDAPI染色により検討を行った。キュウリ（cv. Aonagajibai）の胚軸切片を10nM BRで25℃明所、低温処理はBR処理開始と同時か、25℃で24hBR前処理した後、BR存在下で行った。表層微小管の配向は伸長軸方向に対して、90°-60°をT、60°-30°をO、30°-0°をL、乱れた配向をR、断片化したものをFとした。細胞核は長軸／短軸が1.5以上、もしくは角を１つ以上持つものを変形した核とした。25℃での表層微小管の配向はBR処理1h 後にはTは55%程度まで増加、Lは6%まで減少した。一方、水処理では1hでLが40%まで増加し、Tが23%まで減少した。3h後にはLが優勢になり、12hで一度Lが35%まで減少してOが55%まで増加したが、24h後にはまたTが優勢となった。

1.5℃の低温処理ではBR存在下でRの割合が対照よりも高かったが、Fの増加はBR存在下で抑えられ、また、T の割合も比較的維持されていた。前記効果はBR前処理を行った場合により顕著にみられた。変形した核の割合は対照に比べ3h後から低く、その差は24h 後まで顕著に維持された。

## 1aE06

担子菌ウシグソヒトヨタケの対合分裂における星状体微小管の役割

田部 茂, 鎌田 堯 (岡山大・理・生物)

担子菌の二核菌糸では、対合分裂と呼ばれる担子菌特有の分裂が行われる。この過程では核の位置や隔壁の形成位置などが厳密に制御されており、分裂時の核の定位や細胞質分裂の制御における細胞骨格の役割を調べるのに有用な実験システムとなりうる。本研究では、ヒトヨタケの野生型及びチューブリン変異体8株について、対合分裂時の、分裂装置の構造、核の動き、隔壁の形成を調査した。まず免疫蛍光法により微小管を観察した。その結果、変異体では、間期の細胞質微小管の配列や、分裂期で形成される紡錘体には野生型との違いは認められなかったが、野生型で分裂中期以降にはっきりと観察される星状体微小管が欠けているか、あるいは非常に少なくなっていることがわかった。そこで、調査した変異体のうち星状体の異常がもっとも顕著であったBEN193株について、対合分裂での核の位置と隔壁形成の位置を調べた。その結果、核の位置については分裂期を通じて野生型との差は認められなかったが、隔壁の位置に乱れのあることがわかった。さらに、隔壁形成に先立って形成されるアクチンリングの位置も乱れていることがわかった。これらの観察結果から、星状体は対合分裂における核の定位には関与していないことが示唆された。一方、アクチンリングの形成、そしてそれに続く隔壁形成の位置決定には、星状体が関与していることが示された。

## 1aE07

タバコ培養細胞ＢＹ－２からの細胞膜－表層微小管複合体の単離

園部誠司、山本周史、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

高等植物細胞の表層微小管は植物ホルモンや細胞周期等によって制御されているが、その機構は不明である。また、表層微小管を構築する蛋白質についても生化学的な同定はほとんどなされていない。我々は、表層微小管構築に関与する蛋白質を同定するために表層微小管を結合した細胞膜を単離をした。

細胞膜単離の際に表層微小管を安定化するために単離方法は以下の条件を用いた。１）taxolによる微小管の安定化、２）室温（２５℃前後）での処理、３）緩やかな破砕、４）迅速な分離である。

ＢＹ－２細胞のプロトプラストをtaxol存在下でDounce homogenizerを用いて破砕し、Percoll溶液中で遠心した。その結果、細胞膜分画はPercoll溶液の最上層に得られた。電子顕微鏡観察により、得られた細胞膜小胞には表層微小管が多数結合しているのが示された。また、微小管は数本から数十本が約３０ｎｍの間隔で一層に配列しており、細胞膜や隣接する微小管との間の架橋構造が明瞭に観察された。

## 1aE08

タバコ培養細胞ＢＹ－２の表層微小管の単離

山本周史、園部誠司、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

表層微小管は高等植物細胞に固有の構造体であり、様々な配向変化を見せるが、その制御の機構は不明である。この機構を明らかにするには、表層微小管を構築する蛋白質を生化学的に同定し、その働きを調べることが不可欠であるが、そのような研究は全く行われていない。それは表層微小管を単離する有効な方法がなかったことが原因であると思われる。

我々は、表層微小管の結合した細胞膜由来の小胞を単離し、これに界面活性剤を加えることで表層微小管を単離することに成功した。得られた微小管は、多くの蛋白質を含んでいたので、微小管を高塩強度$Ca^{2+}$溶液中で低温処理することで脱重合させ、透析により塩を除き、３０℃でインキュベートすることで再び重合させた。得られた微小管は束を形成しており、これには表層微小管結合蛋白質と思われる蛋白質７種類が結合していた。この中には既に報告されている65kDa ＭＡＰも含まれており、この蛋白質はリン酸化を受けることが示された。

現在、これらの蛋白質の機能、細胞内分布についての研究を行っている。

## 1aE09

タバコ培養細胞BY-2のフラグモプラスト微小管の単離

松井啓祐、園部誠司 (大阪大、理、生物)

高等植物細胞の細胞質分裂を担うフラグモプラストには+端を赤道面に向け、分裂面と直角方向に配列した２群の微小管が存在している。このような特徴的な微小管構造の形成には微小管結合タンパク質(MAP)の働きが重要であると考えられる。そこで、私たちは、アフィディコリンとブロビザマイドを用いてタバコ培養細胞BY-2の細胞周期の進行を高度に同調化させて得たearly anaphaseの細胞を用いてフラグモプラスト微小管の単離を試みた。その細胞をプロトプラスト化し、30%グリセロール、0.05%Brij58、20μM taxol存在下でホモゲナイズした。このホモジネート中ではspindle、核などのオルガネラは安定な状態で存在するが、フラグモプラストは機械的な力に弱く断片化する。遠心により分画すると上清にはフラグモプラスト由来と考えられる微小管構造の断片が多く含まれている事がわかった。その分画に$Ca^{2+}$と塩処理を低温で行い微小管を脱重合させ、透析による脱塩ののち、taxol存在下でインキュベートし再重合させた。重合した微小管を遠心で集めSDS-PAGEを行うとチューブリンと共に複数のバンドがみられ、これらのタンパク質がフラグモプラスト由来のMAPである可能性は高いと考えられる。今後これらのタンパク質の精製を進め、微小管との相互作用を調べ、抗体の作成などによりMAPの同定を進める予定である。

## 1aE10

125 kDa微小管モーター蛋白質の部分的分子構造と細胞内局在

浅田哲弘、柴岡弘郎　（大阪大、理、生物）

前年会シンポジウムにおいて、隔膜形成体微小管の構築に関与すると考えられる微小管の滑り運動、並びに単離隔膜形成体標品より単離された125 kDa微小管モーター蛋白質について報告した。　今回は、この125 kDa蛋白質の一次構造および細胞内局在に関し新たに得られた以下の知見について報告する。

125 kDa蛋白質の分解物を分離して得た二つの断片のアミノ酸配列を調べたところ、一つの配列が一連のキネシン様蛋白質のモータードメインの一部と高い相同性を持つことが分かった。

一方、二つのペプチド断片に挟まれた領域の一次構造をＰＣＲ法によって解析した結果、この領域が、既知のキネシン様蛋白質の部分的配列とは異なることが示された。　この特異的領域の一部分のペプチドを抗原として調製した抗体は、ウエスタンブロット解析で125 kDa蛋白質のみを特異的に認識した。　また、この抗体を用いた蛍光染色の結果、125 kDa蛋白質は、細胞表層微小管、前期前微小管束とは共存せず、紡垂体微小管、隔膜形成体微小管と同じ細胞内分布を示すことが分かった。

これらの結果は、125 kDa微小管モーター蛋白質が、新しく同定されたキネシン様蛋白質であり、核分裂ならびに細胞質分裂に働くことを示唆する。

## 1aF01

種々の根粒中に含まれるポリアミンについて

藤原伸介，阿部浩人*，米山忠克*（農業研究センター，*筑波大）

植物界におけるポリアミン（PA）の分布やそれらの代謝・生理機能に関する報告は膨大な数に及ぶが，根粒組織中でのPAに関する研究は意外なほど少ない。本研究では，根粒内PAの代謝及び機能を探る端緒として，まず様々な根粒（茎粒も含む）中のPA組成並びに根粒の生長に伴うPA濃度の変化について調べたので報告する。

【結果】1.根粒菌との共生の結果生じるマメ科植物のすべての根粒及び茎粒中に，根粒菌の主要PAホモスペルミジン（Homo）が含まれていた。一方，放線菌 Frankiaの感染によって生じる非マメ科樹木の根粒ではPA濃度が著しく低く，Homoも痕跡量しか検出されなかった。2.マメ科植物（19種，52品種）の根粒PA組成は，Homoとスペルミジン（Spd)の割合を基にすると，1) Homo>>Spd，2) Homo≒Spd，3) Homo<<Spd の３群に大別された。3.アズキは1)群，キマメは3)群に分類され，それぞれの品種間（アズキ７品種，キマメ11品種）にはPA組成の差が認められなかった。4.セスバニア，クサネムいづれの植物においても根粒と茎粒のPA組成は似ており，1)群に分類された。5.根粒組織の充実に伴い根粒内のPut 及び Spd濃度は著しく上昇し，生殖生長後期になって盛期を過ぎるとそれらの濃度は下降する傾向を示した。また，多量のリン酸を施用して発達を促したキマメの根粒組織内では，やはりPut やSpd の増加が認められた。このように，PAが根粒組織の発達・肥大・老化と関連していることが示唆された。

## 1aF02

マメ科植物と根粒菌の感染応答シグナル物質の分離

阿部美紀子，東　四郎，内海俊樹（鹿児島大・理・生物）

根粒菌の*nod*遺伝子の発現を誘起するフラボノイドがマメ科植物の根圏に分泌することは既に知られている．Recourt等(1991)はエンドウ幼植物にエンドウ根粒菌を接種，根圏浸出液より*nod*誘導物質を分離している．今回，*Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*を接種したクローバの芽生えをセルロースアセテート膜上で生育させて得た根圏浸出液(RFex)を，HPLC-３次元検出装置を用いて，*nod*発現誘導物質の分離を行った．HPLC溶出分画の*nod*の発現誘導効果は，4S株(野生株)の共生プラスミドを除去したH1株（Nod$^-$）に，ANU843株の*nod*領域，14kbを含むプラスミドpRt032の*nodA*プロモーターの下流に*lacZ*を挿入したプラスミドを形質転換して得たH218株を用い，*nod*発現の誘導活性をβ-ガラクトシダーゼ活性で検出した．その結果，感染菌を接種したRFexより，少なくとも５種類の*nod*誘導物質の存在を確認した．一方，4S株の*nod*領域の17.75kbをクローニングし，形質転換によりH1株に導入したH1(pC4S8)株(Nod$^+$,Fix$^-$)に，RFexのHPLC分画を加えて培養し，培養ろ液および菌体ペリプラズマのクローバ根毛のカーリング(Hac)と変形(Had)に及ぼす効果を観察した．その結果，菌体ペリプラズマ中に根毛の変形を顕著に引き起こす物質が産製していることが判明した．このHac/Had因子は，H1(pC4S8)株内の*nod*遺伝子が発現した結果合成されたものと考えられる．さらに，根粒菌を接種したクローバ根の浸出物中に溶出する，根粒菌の*nod*発現シグナル物質，およびそのシグナル物質により発現を誘導されるHac/Had因子の構造の解析を試みる．

## 1aF03

エンドウFix$^-$突然変異体に形成される根粒におけるレグヘモグロビンの発現

玉置雅紀、菅沼教生、河内宏[1]
（愛知教育大・生命科学、[1]農水省・生物研）

マメ科植物の根に根粒菌が感染して形成される根粒では、根粒に特異的なタンパク質 'Nodulin' が発現する。 Nodulin の１つであるエンドウのレグヘモグロビン（Ｌｂ）は、５つのコンポーネントからなるが、われわれはサブトラクション法によりエンドウの根粒から S/R #5とS/R#120 の２種類のＬｂ遺伝子のクローンを単離した。 これら遺伝子の発現を正常品種Sparkleの根粒とFix$^-$ 突然変異体E135 の根粒とで比較したところ、S/R#120 の発現には違いが見られなかったが、 S/R#5の発現はE135根粒で抑制されていた。そこで、E135 根粒におけるＬｂの発現を調べ、レグヘモグロビンの発現と窒素固定との関連について検討した。

Ｌｂは、ヘムとアポタンパク質から構成される。そこでまず、Sparkle の根粒とE135の根粒におけるヘム含量を比較した。その結果、ヘム含量はSparkle根粒では週齢が進むにつれて増加したのに対し、E135 根粒ではSparkle 根粒におけるような増加は見られず明らかに少なかった。ところが、ダイズＬｂに対する抗体を用いてウエスタンブロットを行ったところ、E135 根粒でもSparkle根粒と同程度のアポＬｂのバンドが検出された。さらに、ロケット免疫電気泳動法によりアポＬｂ含量を定量したところ、E135 根粒とSparkle 根粒におけるアポＬｂ含量に違いは見られなかった。次に、Ｌｂコンポーネントのそれぞれのアポ Ｌｂを未変性電気泳動した後ウエスタンブロットによって比較した。その結果、５つのＬｂコンポーネントのうちのＬｂⅢのアポＬｂがE135 根粒で減少していることが明らかになった。

## 1aF04

*Bradyrhizobium elkanii* におけるインドールピルビン酸デカルボキシラーゼ活性と、その DNA クローニング

舘野栄司[1]・小川健一郎[1]・福原英之[1]・朝山宗彦[1]・古賀仁一郎[2]・足立　尭[3]・南沢　究[1]（[1]茨城大学農学部、[2]植物防御研、[3]明治製菓生物科学研）

植物ホルモンである IAA は植物、微生物で、おもにトリプトファン( Trp )から合成される。ダイズに根粒を形成する根粒菌、*Bradyrhizobium elkanii* もまた Trp から大量に IAA を合成する。この根粒菌が IAA を合成し、分泌することは共生系成立において何らかの役割を果たしている可能性がある。

*B. elkanii* は、Trp 添加培地中で IAA を生産する。その培養液中から、 IAA 合成系の中間体であるインドール-3-アセトアルデヒド( IAAld )と、インドール乳酸( ILA )を検出した。　また、*B. elkanii* の無細胞抽出液中で、インドール-3-ピルビン酸( IPyA )からインドール-3-アセトアルデヒド( IAAld )への変換活性の存在を確かめた。さらに、*Enterobactor cloacae* 由来のインドールピルビン酸デカルボキシラーゼ( IPDC )遺伝子との相同領域が *B. elkanii* のゲノム上に存在した。　これらの結果は、*B. elkanii* における Trp からの IAA 合成経路が、IPyA 経路( Trp → IPyA → IAAld → IAA )であることを示唆した。また、その代謝経路中の IPDC 遺伝子と相同性をもつ領域のクローニングを試みた。

ここでは、*B. elkanii* における IPyA 経路、 IPDC 遺伝子とその活性について考察する。

## 1aF05

イネのいもち病抵抗性遺伝子の精密マッピングとゲノムライブラリー作成の試み

川崎信二[1,2]、佐藤征弥[1,2]、宮本勝[1,3]、安東郁男[4]（[1]農水省・生物研、[2]新技術事業団、[3]茨大・農・農化、[4]農研ｾﾝﾀｰ）

植物の真性抵抗性遺伝子の産物は病原体の特異的成分（特異的エリシター）を認識して、植物細胞の持つ各種の防御反応を効果的に発現・誘導する情報認識・伝達関連の機能を持つと考えられ、その実体の解明に関心が集まっている。

演者らはゲノムサイズが小さく、真性抵抗性の遺伝学的研究の進んでいるイネを用いて、インド型イネから導入された３種の対いもち病真性抵抗性遺伝子Pi-b,Pi-ta$^2$,Pi-z$^t$のそれぞれ多数の準同質遺伝子系統(Nearly Isogenic Lines)についてRFLP及びRAPD(Random Amplified Polymorphic DNAs)による分析を行い、インド型イネから導入された染色体部位を決めると共に抵抗性遺伝子近傍のDNAマーカーを得た。これらのマーカーの遺伝子地図上の位置はそれぞれ日本型イネの感受性品種との交雑の$F_2$から選択された約100個体の感受性個体（抵抗性遺伝子について劣性ホモ）での連鎖分析により行い、0.5cMの精度で決定された。またPi-bで１種、Pi-ta$^2$で２種のマーカーがそれぞれの遺伝子と完全連鎖（<0.5cM）していることが示された。

これらのマーカーはイネのゲノムサイズから計算してそれぞれの遺伝子から約100Kb以内に存在していると考えられ、イネのゲノムライブラリーから目的の遺伝子をクローン化することが可能と考えられる。現在イネのゲノムライブラリーの構築法の改良を試みておりその結果についても報告する。

## 1aF06

**糖質性エリシターによるイネ培養細胞の膜電位変化の誘導と情報伝達**

朽津和幸, 菊山宗弘[1], 渋谷直人（農水省・生物研, [1]放送大・生物）

植物細胞は、病原菌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に低濃度のN-アセチルキトオリゴ糖を与えると、特異的な結合部位に結合する[1]と共に、直後に原形質膜を介したイオンフラックスや活性酸素の生成[2]、特定遺伝子の転写の急激な活性化[3]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[4]ことを見出している。そこでこのようなエリシター応答の細胞膜上における初期反応機構を明らかにするため、酸素を通気した細胞外液を灌流しながら、微小電極法を用いて、膜電位変化の解析を行った[5]。オリゴ糖処理後10-30秒後から膜電位は急激に脱分極し、1-2分でピークに達した後、膜電位は徐々に元のレベルまで回復した。N-アセチル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$10^{-10}$M程度と極めて低かった。脱アセチル体は、全く膜電位変化を誘導しなかった。このようなオリゴ糖の厳密な構造特異性はエリシター活性で認められた性質とよく一致していることから、特定の構造のオリゴ糖を膜上のレセプターにおいて認識した直後に一過的な脱分極が誘導されることが、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が考えられる。　1)Shibuyaら(1993) *FEBS Lett* 329:75-78; 2)朽津ら 1993年度本大会; 3)南ら 1993年度本大会; 4)Yamadaら(1993) *Biosci Biotech Biochem* 57:405-409; 5)Kuchitsuら(1993) *Protoplasma* 174:79-81

## 1aF07

イネ培養細胞原形質膜に存在するN－アセチルキトオリゴ糖エリシター結合部位の性質

恵飛須則明*、鎌田芳彰#、賀来華江、朽津和幸、渋谷直人（農水省生物研、*沖縄県農試、#現ジョンズホプキンス大学）

高等植物は病原菌あるいは植物細胞壁由来のオリゴ糖を認識し、生体防御機構を活性化する。しかしながらこうしたシグナルを認識し、細胞の応答を引き起こすレセプターに関する知見はまだ極めて乏しい。演者らは最近、特定の構造のN－アセチルキトオリゴ糖がイネ培養細胞のファイトアレキシン合成を誘導する[1]とともに、膜電位の変化[2]や活性酸素の発生、特定の遺伝子の転写誘導[3]などの初期応答を引き起こすことを明らかにした。このN－アセチルキトオリゴ糖を$^{125}$I 標識して結合実験を行った結果、イネ培養細胞ミクロゾーム膜画分にこのリガンドに対する高親和性結合部位が存在することを見いだした[4]。今回、水性二相分配法により調製した原形質膜画分を用いて検討した結果、エリシターに高い親和性を示し、ミクロゾーム膜画分に比較してタンパク当たりの比活性が５０倍以上高い結合部位の存在を確認した。この比活性の増大は原形質膜のマーカー酵素の比活性の増大とほぼ対応するもので、この高親和性結合部位が原形質膜画分に局在していることを強く示唆するものである。非標識オリゴ糖による競争阻害実験の結果から、この結合部位は細胞レベルでの実験結果とよく対応する結合特異性を示すことが見いだされた。以上の結果は、この原形質膜に存在する結合部位が、エリシターの認識・情報伝達に関与する真のレセプターである可能性を示すものである。[1] A. Yamada et al., Biosci. Biotech. Biochem., **57**, 405('93); [2] K. Kuchitsu et al., Protoplasma, **174**, 79('93); [3] 南栄一他、93年度年会講要 p.69、; [4] N. Shibuya et al., FEBS Lett., **329**, 75('93).

## 1aF08

ブドウ培養細胞におけるサリチル酸によるアントシアニン生成の促進

郡　佳世子、作田正明、清水　頑　（お茶の水大・理・生物）

サリチル酸は、病原菌抵抗性の誘導に関するシグナル物質と考えられており、微生物の感染やサリチル酸処理に応答して、pathogenesis-related proteinsが蓄積されることが知られている。抵抗性の発現のなかで、二次代謝産物の生成は、誘導性の防御反応のもう一つの典型的な例である。そこで本研究では、ブドウ培養細胞を用い、サリチル酸のアントシアニン生成に対する影響について検討を試みた。

培養7日目の細胞を、100μMサリチル酸を含む培地に移植すると、1日以内にアントシアニン蓄積の上昇が観察され、7日目で蓄積量がピークとなった後、減少した。ピークとなる7日目では、アントシアニン蓄積量は、コントロールの約40倍に達した。サリチル酸は、100μM以上の濃度においては増殖を阻害したが、50μMでは増殖阻害は僅かであった。PAL活性は、サリチル酸投与により上昇し、投与後7日目でピークとなった。これに対し、シキミ酸経路の最初に位置する酵素であるDAHPシンテースについては、サリチル酸投与による影響は見られなかった。サリチル酸のアナログ物質のうち acetylsalicylic acid、p-hydroxy benzoic acid、2,6-dihydroxy benzoic acidのそれぞれにつきその効果を検討したところ、3物質のなかで acetylsalicylic acidのみがアントシアニン蓄積に対し、顕著な促進効果を示した。

## 1aF09

細胞壁画分 ATPase に対する褐紋病菌サプレッサーの種特異的作用

木場章範、豊田和弘、一瀬勇規、山田哲治、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、本菌が宿主へ感染するために必須の因子と考えられている。これまでにSの標的分子の一つとしてエンドウ原形質膜　ATPase が挙げられている。しかし、S は　in vivo　では原形質膜 ATPase を種特異的に阻害したが、水相二層分配法により調製された分離原形質膜画分 ATPase に対するSの阻害活性は非特異的であった。今回、Sの作用特異性の発現における宿主細胞壁の関与について、細胞壁画分に結合した ATPase (CW-ATPase) を指標に解析した。エンドウおよびササゲより調製した CW-ATPase 活性は $VO_4^{3-}$ 感受性、$NO_3^-$、$N_3^-$ に耐性を示したが、至適pH、基質特異性、金属イオン要求性等において原形質膜 ATPase 活性とは異なることが判った。種々の基質を用いてSの効果を調べたところ、ATP を用いた場合においてのみ種特異的な作用が現われた。CW-ATPase を Triton X-100 PAGE 後、ATPase の活性染色を行なった結果、エンドウでは少なくとも2つ、ササゲでは4つの分画に活性が認められた。これらのバンドから蛋白質を溶出しSの効果を調べたところ、エンドウでは全ての画分の ATPase 活性が顕著に阻害された。一方、ササゲでは2画分の ATPase がむしろ逆に活性化されることが判明した。以上の結果から、細胞壁にもSの作用点が存在すること、さらに CW-ATPase 活性がSの種特異的作用を反映していることが判明した。すなわち、細胞壁が宿主特異性決定に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

## 1aF10

Sclerotinia sclerotiorum におけるD-アラビノースからの蓚酸生成

斉藤和実、Frank A. Loewus[1]（京都大・ＲＩセンター、[1]ワシントン州立大・生物化学研）

多くの農産物に強力な病源性を示す S. sclerotiorumの病源性発現には、感染組織に蓄積される蓚酸が重要な役割を果たすことが知られている。S. sclerotiorum には高等植物における蓚酸の前駆物質の一つであるL-アスコルビン酸(AA)は存在せず、AA類縁体であるD-エリスロアスコルビン酸(EAA)が存在する。本報告は、S. sclerotiorum に EAA の前駆物質と想定されるD-アラビノース(ARA)の各種標識化合物を与え、蓚酸の生成を検討したものである。

S. sclerotiorum はD-グルコース(GLU)を0.1% 含むY-M培地(Difco)で4日間前培養した後、培地を各種標識化合物([1-, 2-, or 6-$^{14}$C]GLU、あるいは[2-, or U-$^{14}$C]ARA)を含む新たな同培地と交換し、さらに4日間培養した。その後、菌体および培地に含まれる蓚酸、EAA をはじめとする代謝産物への標識の取り込みを各種クロマト分析により調べた。

この際、蓚酸への標識の取り込み率、および生成した蓚酸の比放射能は [2-$^{14}$C]ARA ＞ [U-$^{14}$C]ARA ＞ [$^{14}$C]GLU の順で高いことが確認された。一方、標識は EAA へも取り込まれたが、定量的なデータを得るには至らなかった。

これらの事実は、S. sclerotiorum で生成される蓚酸は ARA を前駆物質とし、中間代謝産物である EAA の1～2位の炭素骨格から生成されることを示唆するものである。

## 1aG01

アオウキクサの花成誘導物質生成に関与するストレス要因

瀧本敦、貝原純子、横山峰幸[1]（京都生物研、[1]資生堂基礎科学研）

多くの植物の水抽出物は極めて低濃度でアオウキクサ 151 の花成を誘導する。活性物質の大部分は植物体磨砕後につくられるが、磨砕物を遠心分離して得られる上清と沈澱を別々にしておくと活性物質はほとんどつくられず、上清及び沈澱に含まれる成分が反応して活性物質がつくられるものと考えられる。上清に含まれる有効物質がノルエピネフリンであることはすでに報告した通りであるが、沈澱に含まれる有効物質（factor c）は未知である。Factor c の大部分は遠心分離後の沈澱を水に懸濁させると 5 - 30 分以内に外液に出てくるが、上清はほとんど factor cを含んでいない。一方、アオウキクサを 5-15 分間乾燥ろ紙上においた後、または 5 分間 0.5 M のマニトール溶液に浮かせた後、あるいは5分間 45-55 C の温水に浮かべた後、水に浸漬または浮遊させると、2 時間以内に多量の factor c が水中に出てくる。したがって、前述の沈澱を水に懸濁させた場合も factor c は磨砕ストレスによってつくられる、または遊離されやすくなるものと考える。Factor c は分子量 5,000 以下であるが、25 C では2日以内にほとんど失活する。ただし、酸性ではかなり安定であり、現在その単離・同定を試みている。

## 1aG02

アオウキクサにおける無窒素培養による花成誘導とリジンの花成誘導効果

田中修、江盛浩司、岡本富美、中山善雄[1]、杉野守[1]（甲南大・理・生物、[1]近畿大・農・植生）

短日性アオウキクサ151系統を、72時間以上、窒素を含まない培地で培養（無窒素培養）すると花成が誘導される。花成を誘導するために要する無窒素培養の期間や培養液組成は異なるが、6746系統や441系統においても、無窒素培養により花成が誘導される。それ故、無窒素培養による花成の誘導系は、短日性アオウキクサにかなり普遍的に存在するものと考えられる。

151系統において、無窒素培養中に体内に遊離のリジンが増加し、リジンは151系統に対し花成誘導活性をもつことなどから、無窒素培養による花成は内生リジンの増加に由来する機構が示唆されている。6746系統や441系統においても、無窒素培養中に体内の遊離リジンが増加することが認められる。また、培養液にリジンを添加した場合、無窒素培養による花成は顕著に促進される。それ故、151系統で示唆される無窒素培養による花成誘導機構は6746や441系統においても同様であると思われる。

無窒素培養による花成誘導の発現を抑制する条件か、151，6746，441系統のそれぞれにあるが、リジンはそれらの阻害を解除する働きを持つことも明らかになった。

## 1aG03

アスパラガス胚における花芽誘導

阿部知子、甲村浩之[1]、吉田達[2]、吉田茂男（理研、[1]広島農試、[2]帝京大）

食用アスパラガス(*Asparagus officinalis* L.)の種子をチオカーバメート類などの化合物で処理することにより1カ月のアスパラガス実生約70%に花芽が誘導される。しかしこの現象は、発芽種子の生育状態に大きく依存する傾向が認められた。そこで今回は種子胚の分化過程と薬剤の効果の関連及び不定胚における薬剤の花芽誘導作用について検討した。

アスパラガス種子は暗所25℃で4日間吸水させた後、発根の状態によって第一次分類を行なった。その後、4日間薬剤溶液に置床した。処理個体は水洗し、根長により第二次分類を行なった後、培養土に移植し温室にて育成を続け2週間後に花芽形成率を測定した。不定胚誘導細胞（EC）はアスパラガス茎頂より得た多芽集塊より誘導した。ECより不定胚の誘導はオーキシン無添加の2.5%寒天培地に置床することによって行った。再分化個体は1%寒天培地で育苗し、馴化後温室にて育成を続けた。分化の各過程で花芽誘導物質を添加し花芽形成率を調べた。以上の結果、種子胚の分化過程で処理個体を分類することにより、花芽誘導率が100%となる試験区を得ることが出来た。また不定胚において種子胚同様、幼植物に花芽を誘導することに成功した。

## 1aG04

Ri形質転換体チコリの花芽形成における日長条件の影響

西村英世、猪口雅彦、加藤次郎（岡山理科大・理・生物化学）

キク科の二年草であるチコリ（*Cichorium intybus*）は花芽形成に低温（春化処理）と長日を必要とする。我々はRiプラスミドのT-DNA遺伝子が花芽形成に与える影響について調査するために、チコリ形質転換体の花芽形成現象について研究している。Riプラスミドによって形質転換されたチコリが長日条件のみで花芽を形成することは、既に報告されている(1)。そこで今回我々は、Ri形質転換体チコリの花芽形成における日長条件の影響について調査した。

まず、我々の用いている器内培養環境下での通常体の花芽形成条件を調べた結果、二週間の低温処理（4℃、暗黒）後に長日条件（16時間明期）に移すことで花芽形成を誘起できた。

次に、形質転換体における日長条件の必要性の有無を調べるために、形質転換体に用いる植物体の播種時から長日刺激を一度も与えずに、短日条件下だけで毛状根誘導から再形成体作成を行なった。この短日条件下（8時間明期）で誘導・生育したRi形質転換体チコリは花芽を形成しなかった。しかし、この植物体を長日条件に移して生長させると花芽形成が観察された。このことから、Ri形質転換体チコリにおける花芽形成は、低温処理を必要としないが、長日刺激は必要であることが明らかになった。更に、既に花芽形成を起こしているRi形質転換体から、異なった日長条件下で不定芽を分化させた場合、長日下では花芽を形成したが、短日下では花芽形成が抑制された。

(1) 鎌田博等 (1992) 植物組織培養, 9巻, 206-208頁.

## 1aG05

カテコールアミン生合成及び生分解阻害剤によるアサガオの短日開花の阻害

井上英子、篠崎真輝（京大・農・応植）

植物の水抽出物中のLemnaの花芽誘導物質はカテコールアミンの代謝産物であることはすでに滝本らと報告したが日長反応との関連は明らかでなかった。今回は種々のカテコールアミン生合成及び分解阻害剤が日長反応を阻害することを明らかにしたので報告する。

実験材料としてはPharbitis nil, strain Violetを用いた。種子を常法通り処理し、発芽した芽生えを中山培地に移植し、二日後に20℃、13時間45分の暗期を一回だけ与えた。種々の濃度の阻害剤1mlを胚軸に貫通させた木綿糸を通して暗期前、中、後に与え、14日後に花芽、生長を調べた。実験に用いた阻害剤はチロシン水酸化酵素の阻害剤として3-Iodo-L-tyrosine α-Methyldopa, Methyrosineなど、芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素の阻害剤としてCarbidopa, NSD-1015など、ドーパミンβ水酸化酵素の阻害剤としてFusaric acid, Glutathione, 6-Hydroxydopamineなど、モノアミン酸化酵素の阻害剤としてAmitriptyline, Chloropromazine, SK & F 525-Aなど、カテコール O-メチル基転移酵素の阻害剤としてAscorbic acid, n-Butyl gallate, Pyridoxal-5-phosphateなどである。

今回用いたカテコールアミンの生合成，生分解の阻害剤の殆どが花芽形成を阻害した。特に、α－Methyldopa, 6-Hydoroxydopamineなどは暗期終了後に与えても阻害効果は見られず、またテストされた濃度範囲では生長には何ら影響を与えなかった。これらの結果はアサガオの短日による花成誘導反応にはカテコールアミンの生合成、酸化分解が関与してことを強く示唆している。

## 1aG06

アサガオの花成反応と子葉中のフェニルプロパノイド含量との関係

石丸明恵、竹能清俊、篠崎眞輝[1]（東北大・農・園芸、[1]京大・農・応植）

アサガオは一般に短日によって花成誘導されるが、貧栄養、低温、強光によって長日条件下でも花成誘導される。これらの花成では、クロロゲン酸（CGA）を始めとするフェニルプロパノイドの関与が示唆されているが、その役割は未だに明らかではない。最近、我々はアサガオ‘紫’から白花を咲かせるmutantを偶然に得た。アサガオ‘紫’の花色はアントシアニンによるもので、その生合成経路はフェニルプロパノイドの生合成経路と一部共通なことから、このmutantを用いて花成におけるフェニルプロパノイドの役割を調べることを試みた。

種子を常法に従って硫酸処理し、発芽種子をバーミキュライトに植えて、長日条件下で5日間育てた芽生えから子葉を採取した。子葉を2%酢酸中で10分間加熱してフェニルプロパノイドを抽出し、$OD_{280}$を指標としたODSカラムによる液体クロマトグラフィーで分析した。白花mutantの子葉中のCGA含量はwild typeのそれより有意に少かった。そこで、白花mutantとwild typeを貧栄養、低温、強光、短日の各条件下で育て、花成反応と子葉中のCGA含量を経時的に調べたところ、両者の相互関係について若干の知見が得られたので報告する。

## 1aG07

アサガオ花弁主要タンパク質の単離・同定と花芽分化における発現生理

安部　弘、鈴木英明、藤岡昭三、桜井　成（理化学研究所・植物生活環制御）

アサガオの花器官の一つである花弁の可溶性タンパク質をSDS-PAGEで解析すると、単量体分子量47kDaのタンパク質（PN47）が構成タンパク質の約5%を占めていることを見いだした。花弁に特徴的な指標タンパク質としてPN47を同定するために、PN47の精製、部分アミノ酸配列の決定、特異抗体の作成を行なった。

抗PN47血清を用いたウエスタンブロットにより、PN47は花芽の発達に伴なって花弁で急速に発現・蓄積してくることがわかった。また開花時の雄ずい、雌ずいの各花器官でもPN47は単位たんぱく量当たり花弁とほぼ同程度検出された。一方、PN47は葉からも検出することができたが、単位たんぱく量当たりでは花弁の約0.1%程度しかなかった。このことから、PN47はアサガオの各器官で構成的に存在するタンパク質であるが、花器官の発達に伴いその発現量が花器官で特異的に増加する特徴をもつタンパク質であることがわかった。

## 1aG08

アサガオ子葉のポリアミン合成系酵素活性の光応答

平澤栄次、吉田泉（大阪市大・理・生物）

生物に普遍的に含まれているポリアミンとしてプトレシン、スペルミジン、スペルミンが知られているが、その生理的役割は不明である。前回、アサガオ子葉においてスペルミヂンとスペルミン合成系の律速酵素として知られているs－アデノシルメチオニン脱炭酸酵素活性が点灯後急激に上昇し一時間後再び減少すること、また消灯後活性が急激に低下しその後再びゆっくりと増加することを報告した。今回、シクロヘキシミド処理によりこれらの活性の増減が蛋白の新規合成であること及び本酵素の半減期が30分から1時間と代謝回転の速い蛋白であることが明かとなった。また短日条件と長日条件で生育させたアサガオ子葉のポリアミン含量を測定すると共にプトレシン合成系の律速酵素であるオルニチン脱炭酸酵素とアルギニン脱炭酸酵素の活性の変動を検討した。

## 1aG09

***acaulis*変異株を用いた花序形態形成過程の解析**

稲塲久美子、瀬下智子[1]、島田敬子、古庄敏行[1]、米田好文（東京大・遺伝子実験施設、[1]杏林大・保健）

我々は遺伝学的手法を導入し、栄養生長から生殖生長への移行過程の解明を目指している。これまでに花茎の伸長が停止するアラビドプシス突然変異株（*acl*変異株）を単離し、解析を行ってきた。現在、*ACL*遺伝子の機能を知るために、遺伝子の単離を試みている。*ACL*遺伝子座近傍の詳細な物理地図を作成し、*ACL*遺伝子を含むと考えられるYACクローンの単離を行っている。Columbia野生型株由来の*acl*変異株とLandsberg *erecta*野生型株由来の様々な変異株との掛け合わせを行い、得られたF2、F3世代を用いて古典遺伝学的解析、RFLP、RAPD解析を行った。*ACL1*遺伝子は第4番染色体上の可視的変異マーカーの*cer2*より0.0+/-5.3cM、RFLPマーカーのm557より1.8+/-1.3cMの位置に、*ACL2*遺伝子は第1番染色体上のRAPDマーカーのr269より0.0+/-7.1cM、RFLPマーカーのm280より4.2+/-2.0cM、KG-20より5.2+/-2.2cMの位置に存在することが示された。また、花序形態形成の過程を明らかにするために、*acl1*変異株の復帰変異株を単離し*caulis*と命名した。

## 1aG10

アラビドプシス散房花序変異　*erecta* の解析

鳥居　啓子，米田　好文　（東大・遺伝子実験施設）

アラビドプシスは典型的なロゼット植物であり，一定期間栄養生長を行った後抽苔し，花茎を伸長させつつ一定の間隔で花芽を形成する。Landsberg *erecta*系統は，他系統の野生型株に比べ，ロゼット葉が丸く葉柄が短く，また，花茎上部節間が詰まり散房花序様の形態を示すことが知られている。 *erecta*突然変異の共通の表現型を明らかにする目的で，我々はColumbiaおよびWassilewskija(WS)系統から*erecta(er)*突然変異体4 alleleを単離したので報告する。

*er*突然変異体 4 allele は，それぞれX線照射，速中性子線照射，およびEMS処理したColumbia M2 世代，および，*in planta* 法を用いて形質転換したWS T2 世代から散房花序様形態を指標にスクリーニングされた。遺伝学的解析の結果，変異は単一劣性で，またLandsberg *er*株を相補しなかったため，それぞれを*er-101, er-102, er-103,* および*er-104*と名づけた。

Landsberg *er*を含めたこれら*er*突然変異体では，第一花芽の開花時における総花芽数が著しく増加しており，対応する野生型*ERECTA*遺伝子は花芽の発達段階と節間伸長とのタイミングに関わると示唆された。一方，ロゼット葉の形態はallele間で大きく異なった。*er-104*はT-DNA挿入変異体であり，現在，タギング法によって*ER*遺伝子の単離を行っている。

## 1aH01

ホウレンソウ葉緑体にはN末端にグルタミン残基をもつ成熟フェレドキシン－NADP還元酵素が存在する

先浜直子，小幡茂裕[1]，三上覚範，井上千晶，新　勝光
（神戸大・理・生物，[1]キシダ化学・研究開発グループ）

ホウレンソウ・フェレドキシン－NADP還元酵素(FNR) の成熟蛋白質はN末端にγ－ピログルタミン酸残基をもつFNR (<Glu-FNR)であると報告されている(1) 。しかし，今回我々はホウレンソウ葉緑体からN末端にグルタミン残基をもつFNR(Gln-FNR)を検出したので報告する。

まず，葉緑体を 3mM CHAPSで抽出処理をして，弱結合型FNR分画と強結合型FNR 分画に分ける。弱結合型FNR をアセトン分画後、SDS-PAGEとブロッテイングによって得られたPVDF膜上のFNR バンドを切り取り，N末端構造を分析した。強結合型FNR はアセトン分画後，マトレックスレッドA，フェレドキシンカラムによって精製し，N末端構造を分析した。

弱結合型FNR のN末端残基としてGln-とIle-が4:1 の割合で検出された。γ-pyroglutamyl peptidase で消化するとIle-が増加し，その比は1:1 となった。このことはN末端を異にする3 種類のFNR，<Glu-FNR，Gln-FNR，Ile-FNR が3:4:1 の比で存在することを示している。一方強結合型FNR はすべてGln-FNR であった。葉緑体から迅速に精製したFNR には高い割合でGln-FNR が存在するという今回の結果はGln-FNR が本来の成熟蛋白質であり，<Glu-FNRは二次的変化によって生じた可能性を示唆する。

1. Karplus, P. A. et al. (1984) Biochemistry 23, 6576-6583

## 1aH02

好熱性ラン色細菌シネココッカスのシトクロム*b6/f*複合体の単離とその性質

佐藤和彦、小池裕幸、菓子野康浩、西尾暁隆　（姫工大・理・生命科学）

シトクロムb6/f複合体は光化学系IIから光化学系Iへの電子伝達を仲介するとともにproton motive forceを形成する。しかしラン色細菌では、活性が強い光化学系Iの周りの循環的電子伝達反応にも本複合体が関与し、さらにシトクロム酸化酵素を末端電子受容体とする呼吸系電子伝達反応にも関与している。このようにシトクロム*b6／f*複合体はラン色細菌の電子伝達反応において非常に重要な役割を果たしている。本研究では好熱性ラン色細菌*Synechococcus vulcanus*からシトクロム*b6／f*複合体を単離する方法を検討し、その性質を調べたので報告する。

従来チラコイド膜からシトクロム*b6／f*複合体を可溶化するためには主にオクチルグルコシドが用いられてきた。しかしラン色細菌の場合は高等植物の場合とは異なり、多くのクロロフィルも一緒に抽出されてしまい、その後のショ糖密度勾配遠心によってもあまりクロロフィルは除けなかった。そこで種々の界面活性剤を用いて抽出条件を検討した。その結果HTG(Heptyl- thioglucoside)を用いて可溶化するとシトクロム*b6／f*複合体は効率よく抽出されるが、クロロフィルはあまり抽出されて来ない事が分かった。さらに粗抽出液を硫安分画し、ショ糖密度勾配遠心によって部分精製することにより、クロロフィル含量の低い画分を得ることができた。

## 1aH03

緑藻 *Pediastrum boryanum* のプラストシアニンの cDNA クローニング

中村真樹，吉崎文則，杉村康知（東邦大・理・生物）

我々は一部の藻類に見られる銅によるプラストシアニンの誘導とチトクローム$c_6$の抑制の機構を調べるため，緑藻 *Pediastrum boryanum* を材料として研究を行っている．今回プラストシアニンの cDNA クローンを得たので，その構造を決定した．

銅添加培養した *P. boryanum* から単離した RNA の λgt11 cDNA ライブラリーを作製し，精製プラストシアニンに対する抗体でスクリーニングを行った．その結果，トランジット配列と成熟アポタンパク質からなる完全な前駆体タンパク質のコドンを含む cDNA 配列が得られた．精製プラストシアニンのN末側配列との比較から，はじめの 53 アミノ酸がトランジット配列，98 アミノ酸が成熟タンパク質であると推定された．

*P. boryanum* の cDNA 配列を，Merchant らにより報告されている緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* のものと比較すると，同じようにGC 含量が高く，コドン使用頻度もよく似ていた．しかしながら，トランジット配列部分は異なっていて，アミノ酸は約 40% しか一致しなかった．

*P. boryanum* の成熟タンパク質部分のアミノ酸配列は，既に報告されている他の単細胞性緑藻 *Chlamydomonas, Scenedesmus, Chlorella* の配列とよく似ていた．

## 1aH04

### 光化学系１反応中心サブユニット蛋白のクロマトグラフィによる分離と精製

湯本健司，平出恒男[1]，檜山哲夫（埼玉大・理・生化，[1]旭光学工業KK）

光化学系１反応中心サブユニット蛋白を分離するためには一般にSDS-PAGEで分離してそれぞれのバンドを切り出して抽出する方法が用いられる。この方法では扱える試料の量に限界があり、抽出収率も良くない。我々はこれらサブユニットの大量調製のため液体クロマトグラフィを用いる方法を検討した。その結果、球形ハイドロキシアパタイト（ペンタックスHP-40）を用いた一段階のクロマトグラフィでサブユニットのうちPsaA/PsaB, PsaD, PsaE及びPsaCを分離精製出来る条件を見いだした。またこれら単離サブユニットを用いた光化学系１反応中心の再構成実験の結果についても報告する。

## 1aH05

光化学系Ｉサブユニット Ｉ遺伝子欠失変異株の作製

仲本準（埼玉大・理・生化）

Synechocystis sp. PCC 6803光化学系Ｉ複合体を構成するサブユニットＬ遺伝子のクローニングを行い、その構造を明らかにする過程で、この遺伝子の下流にサブユニットＩ遺伝子が存在することを見つけ、これらを昨年度本大会で発表した。このサブユニットＩ遺伝子は、ゲノム中に一コピー存在し、その転写産物には、モノシストロニックなものとｐｓａＬと一緒に転写されるポリシストロニックなものが認められた。この遺伝子にカナマイシン耐性遺伝子を挿入し失活させたもので、ランソウの形質転換を行った。形質転換体は野生株と同様の生育曲線を与えた。また、二酸化炭素存在下の酸素発生及びメチルビオローゲン存在下の酸素吸収にも差が見られなかった。

## 1aH06

Synechocystis sp. PCC 6803光化学系Ｉ複合体サブユニット欠失変異株を用いた研究

仲本準、増村健一、檜山哲夫（埼玉大・理・生化）

光化学系１複合体サブユニットＤ、Ｅ、Ｆ、及びＩ欠失変異株を用いて、各々のサブユニットの欠失が、①ランソウの生育、②チラコイド膜及び光化学系Ｉ複合体ポリペプチド組成、③細胞の光合成、に及ぼす影響を調べた。その結果にもとづき、これらサブユニットの、光化学系Ｉの構造と機能における役割について議論する。

## 1aH07

ラン藻*Synechocystis* PCC 6803のチトクロム*c*-550遺伝子のクローニングとその欠失変異株の作製

沈建仁[1,2]、W. F. J. Vermaas[2]、池内昌彦[3]、井上頼直[1]（[1]理研・太陽光科学、[2]Arizone State Univ., Dep. Botany、[3]東京大・教養生物）

チトクロム*c*-550はラン藻細胞中の主要なｃ型チトクロムの一つである。このチトクロムは非常に低い酸化還元電位を持っていながら、電子伝達体としてではなく、光化学系IIの表在性タンパク質として酸素発生活性を維持していることが我々の最近の研究で明らかになった[1,2]。ラン藻の光化学系IIにおいて、チトクロム*c*-550が33 kDa表在性タンパク質とともにもう一つの表在性タンパク質、12 kDaタンパクの系IIへの結合に必要であることから、このチトクロムがチラコイド膜の内腔に結合しており、そのため、膜を通過するのに必要なシグナルペプチドの存在が予想される。本研究では、形質転換ラン藻*Synechocystis* PCC 6803よりチトクロム*c*-550を精製し、そのN末端アミノ酸シーケンスを決定した。これを元に、適当な制限酵素で切った後最ライゲーションした環状ゲノムDNAを鋳型にしたPCR法でチトクロム*c*-550遺伝子をクローニングした。その結果、この遺伝子は160個のアミノ酸をコードしており、精製したチトクロム*c*-550のN-末端は26番目のアミノ酸より開始していた。従って、チトクロム*c*-550がシグナルペプチドとして25アミノ酸を持っており、それがチラコイド膜内腔に到達するまでに切断されていたことが分かった。現在、チトクロム*c*-550の欠失変異株を作製中である。

[1] Shen J.-R. and Inoue Y. (1993) Biochem. 32, 1825-1832.
[2] Shen J.-R. and Inoue Y. (1993) J. Biol. Chem. 268, 20408-20413.

## 1aH08

**電子受容体キノンを異なったキノンで入れ換えた光化学系Ｉ反応中心での初期電子移動反応**

岩城雅代、熊崎茂一[1]、神取秀樹[1]、吉原經太郎[1]、池上勇[2]、伊藤繁（基生研、分子研[1]、帝京大、薬、化学[2]）

２次電子受容体フィロキノンをエーテルで抽出し、他のキノンを再構成した系Ｉ粒子（３０－１６ｃｈｌ／Ｐ７００粒子）において、電子供与体（Ｐ７００）、受容体クロロフィル（$A_0$），キノン間の電子移動反応をピコ秒吸収スペクトル測定により測定した。

１）Ｐ７００から$A_0$への電子移動は７ｐｓの時定数を示した。

２）フィロキノンが無い状態では$A_0^-$は８００ｐｓ以上の間変化しなかった。

３）メナキノン－４を再構成すると、$A_0^-$は３８ｐｓで減衰した。フィロキノンと２－メチル－ナフトキノンは６７と３１５ｐｓの時定数を与えた。

４）$A_0^-$のメナキノンとの反応速度は１６ｃｈｌ／Ｐ７００粒子では３０ｃｈｌ／Ｐ７００粒子より遅くなった。これはタンパク構造の変化の影響を示唆する。

さらに他のキノンについても検討し、光化学系Ｉ反応中心内電子移動の機構を検討した。

## 1aH09

2種類のサブユニットからなる緑色イオウ細菌 *C. limicola*の光化学反応中心複合体

[1]亀井正一郎，[1]大岡宏造，[1]角谷佐紀，[1]松原央，[2]岩城雅代，[2]伊藤繁（[1]大阪大・理・生物，[2]基生研）

緑色イオウ細菌の光化学反応中心の還元側にはFe-Sセンターが存在し，高等植物や藍藻の光化学系Ｉ反応中心との機能上の類似点が指摘されている。一昨年の本大会において，我々は*C. limicola* f. *thiosulfatophilum* (Larsen) の反応中心複合体の粗精製標品を用い，3種類のFe-Sセンター($F_X$, $F_A$, $F_B$)とP840に直接電子を渡すチトクロム$c_{551}$の存在を明らかにした。しかし酸素に対する不安定さのゆえにその精製は容易ではなく，複合体を構成するサブユニットや詳細な電子伝達機構については未だに不明である。今回我々は，粗精製標品のさらなる精製を試み，その諸性質の解析を行ったので報告する。粗精製標品は，その後の一連のクロマトグラフィー（ハイドロキシアパタイト，Sephacryl S-300，Q-Sepharose）を通して、最終的にコアタンパク(68kDa)とチトクロム$c_{551}$(21kDa)からなる標品(CRC-2)にまで精製された。フェリシアン化カリウム，アスコルビン酸による酸化-還元差スペクトルから求められたヘム$c$の含量は，P840あたり1.7個であった。また，27±3個のBChlaと6-8個のBChl663が存在し，アンテナサイズとしては，ほぼ最小であると考えられる。CRC-2はすでにFe-Sセンターが破壊され，定常光照射によるチトクロム$c_{551}$の酸化活性はみられなかった。しかしレーザー閃光照射実験では，初期電荷分離($P840^+BChl\text{-}671^-$) とその電荷再結合による$P840^T$の形成，及びそれに伴う遅延蛍光が観察された。このような遅延蛍光は，二次電子受容体であるフィロキノンを除去した光化学系Ｉ反応中心においても見られる。CRC-2は，初期電荷分離機能をもつ複合体としては，サブユニット構成が最も単純な標品であるといえる。

## 1aH10

β-carotene のＳ$_2$状態の励起寿命測定とエネルギー転移過程の解析

神取　秀樹[1]，雀部　博之[2]，三室　守[3]（[1]京大　理　生物物理，[2]理研，[3]基生研）

カロテノイドからクロロフィルへのエネルギー転移は，理論的にはカロテノイドの可視部の２つの励起状態のいずれもから可能であり，その効率は他の緩和過程との競争により決定される．したがって，各励起状態の励起寿命を知ることが重要である．そこで，今回，直接測定がなされたことがない，β-carotene のＳ$_2$状態の励起寿命測定を行い，エネルギー転移過程の検討を行った．

測定は，Up-conversion 法で行った．パルス幅は２００ｆｓ，時間分解能は５０ｆｓである．溶媒としてｎ－ヘキサンを用い，測定は室温で行った．

観測された発光は，蛍光異方性比が０．３９と高いことからＳ$_2$状態のみからの発光であることが明らかで，その寿命は１９５±１０ｆｓと求められた．Ｓ$_2$状態の０－２振動帯への励起にも拘らず，dynamic Stokes shift は観測されなかった．

この値を基に，藻類でアンテナとして機能するフコキサンチンの励起緩和過程を考えると，Ｓ$_2$状態の振動子強度はβ-carotene とほぼ等しいにも拘らず，観測される蛍光収率は１／１０以下であることから期待される寿命は２０ｆｓ程度である．また，我々は非対称性を持つカロテノイドの場合，Ｓ$_1$状態からクロロフィルへのエネルギー転移が著しく促進されることを既に明らかにしている．これらは，速い内部変換の後，Ｓ$_1$状態からのエネルギー転移が起こるとする我々の作業仮説を支持する結果である．

## 1aI01

イネ増殖細胞核抗原(PCNA)遺伝子プロモーターの site II エレメントに結合する核内因子 RPCF-II

小杉俊一，鈴鹿巍，大橋祐子（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，この遺伝子の発現は，細胞周期上の G1(G0)-S 境界期で起こる。これまでの我々の研究から，イネPCNAプロモーターの -165 から -205 の間に存在する site I, IIa 及び IIb のDNAエレメントが発現に関わり，特に site IIa (GTGGGCCCGT)と site IIb (ATGGTCCCAC)に結合するRPCF-IIが基本的転写に深く関わっていることが明らかにされた。site IIa 及び IIb はオーキシン誘導性遺伝子のプロモーター領域に存在する共通配列 T/GGTCCCATと それぞれ 6bp 及び 7bp 相同であった。RPCF-IIが結合できなくなるような変異を site IIa と IIb 両者に導入したときにのみ、site I に結合する核内因子RPCF-Iも結合できなくなることがイネ核抽出物を用いた *in vitro* の解析により明らかになった。このことは site IIa と IIb 両者に変異を導入したときのみに発現レベルの低下が起こるという *in vivo* の結果とある相関を示す。また，タバコプロトプラストへ 2 x site IIa -TATA-GUS 融合遺伝子を導入した実験から、site IIa は転写活性化作用を持つことが示された。しかし、full-length PCNAプロモーター中の IIa と IIb 両 site の変異が上流に存在するエンハンサー活性を消失させたことから考えると，RPCF-II は上流の転写活性化作用を下流の基本転写因子に伝える因子，もしくは一つの基本的転写因子として機能している可能性がある。また，RPCF-IIは分裂の盛んな細胞のみでなく非分裂細胞の核抽出物中にも存在するが，DNA/RPCF-II複合体のゲルシフト分析における移動度の違いから，おそらく分裂細胞と非分裂細胞において異なる分子種が存在しているものと考えられる。RPCF-IIがPCNA遺伝子の増殖細胞特異的発現を規定しているのかどうかは現在検証のため実験中である。

## 1aI02

転写調節因子HBP-1a(17)の機能ドメインの解析

中山卓哉、岩淵雅樹（京大・理・植物）

HBP-1a（17）は、コムギヒストン遺伝子のS期特異的発現を規定するシス・エレメントであるタイプIエレメント中のヘキサマー配列に結合するbZIP型の転写因子であり、S期特異的転写調節を司っている可能性が示唆されている。今回HBP-1a（17）の作用メカニズムを知る目的で機能ドメインの解析を行った。酵母の転写調節因子GAL4のDNA結合ドメイン(G4DD)とHBP-1a(17)の様々な領域をin frameに融合させた一連のエフェクター遺伝子（G4DD/1a）および、G4DDの結合部位（G4TS）を上流にもつリポーター遺伝子（G4TS-35S/GUS または G4TS-H3/GUS）の両者を同時にタバコ培養細胞BY-2のプロトプラストへエレクトロポレーションにより導入した。リポーター遺伝子の発現に及ぼす各エフェクター遺伝子の効果を調べた結果、HBP-1a（17）蛋白質は、プロモーター活性を上昇または抑制させる複数の機能ドメインにより構成されていることが分かった。

## 1aI03

bZIP型転写因子HBP-1bによるコムギヒストンH3遺伝子の転写調節機構

伊藤卓也[1,2]、三上浩司[2]、岩淵雅樹[1,2]（[1]京都大・理・植物、[2]基生研・発生生物）

HBP-1bは、コムギヒストンH3プロモーター領域に存在するヘキサマー配列に特異的に結合できるbZIP型核タンパク質である。ヘキサマー配列は、ヒストンH3遺伝子のS期特異的転写に寄与するタイプIエレメントの一部であるので、HBP-1bは細胞周期に依存した転写調節シグナルを受けている可能性がある。ヒストンH3遺伝子のS期特異的転写調節におけるHBP-1bの役割を明らかにするために、今回、HBP-1bのbZIP領域以外の機能ドメインの解析及び、HBP-1b遺伝子のプロモーター領域のシスエレメントの解析を試みた。

HBP-1bと酵母の転写因子GAL4のDNA結合ドメインとの融合タンパク質は、タバコ培養細胞BY-2において、GAL4結合配列を組み込んだレポーター遺伝子の活性を上昇させることはできなかった。しかしこの融合タンパク質は、GAL4/VP16タンパク質によって上昇した活性を抑制し、この抑制能がHBP-1bのN末領域に存在することが確かめられた。また、HBP-1b遺伝子の5'欠失変異プロモーターと、植物細胞内で翻訳効率が上昇するように改変されたGUSとのキメラ遺伝子を作製し、一過性のGUS発現量を指標に、HBP-1b遺伝子プロモーターのシス領域の解析も行なっている。これらの解析から、HBP-1b遺伝子とヒストンH3遺伝子の階層的転写調節機構に関するモデルの構築を試みる。

## 1aI04

コムギ G-box 結合転写因子 HBP-1a 遺伝子のトランスジェニック・シロイヌナズナにおける葉特異的発現

三上浩司[1]、桂真昭[1,2]、岡田清孝[3]、志村令郎[3,4]、岩淵雅樹[1,2]（[1]国立基生研・発生生物、[2]京大・理・分子植物、[3]国立基生研・遺伝子1，[4]京大・理・生物物理）

G-box (CCACGTCA) は、ホルモン、ストレス、あるは光による遺伝子発現誘導に関わるシス配列であることが知られている。我々はすでに、コムギの G-box 結合因子が bZIP 型転写因子のファミリーを形成していることを報告しているが、各メンバーとそれらのターゲットの遺伝子発現制御間における関係については不明である。そのことを明かとするため、本研究では、コムギ HBP-1a(17) 遺伝子のトランスジェニック・シロイヌナズナにおける組織特異的な発現について解析をした。

HBP-1a(17) 遺伝子の 5' 上流域（約２ｋｂ）、第一エクソン、第一イントロン、第二エクソンの前半部を含む DNA断片を、GUS レポーター遺伝子につないだ。この融合遺伝子を持つトランスジェニック植物を作製したところ、５つの異なる植物においてレポーター遺伝子が若い緑葉で特異的に発現していた。このことから、HBP-1a(17) 遺伝子の葉特異的発現が、G-boxを介した遺伝子転写の光誘導に関わっている可能性が考えられた。

## 1aI05

タバコTATAボックス結合蛋白質のcDNAクローニング

保谷彰彦、森仁志、今関英雅、山崎健一（名古屋大学・農・分化遺伝）

RNA ポリメラーゼ II による正確な転写開始反応には遺伝子のプロモーター領域( TATA ボックス付近）に基本的転写因子や RNA ポリメラーゼ II により構成される転写開始複合体の形成が必要である。この転写開始複合体のアセンブリーの中心分子は TFIID と呼ばれている。高等真核生物では TFIID は TBP (TATA box-binding protein) と TAFs (TBP associated factors) より構成される複合蛋白質である。TBP は最初に TATA ボックスを認識し結合することにより転写開始複合体形成のきっかけとなる。また、遺伝子特異的転写因子と直接あるいは TAFs を仲介して相互作用することで転写活性の調節に関与していることが知られている。このように、TBP は転写開始において中心的役割を果たす因子である。

そこで、植物の RNA ポリメラーゼ II による転写調節機構のなかで分子レベルでの解明を目的としてタバコ培養細胞（BY－２）の TBP 遺伝子の cDNA クローニングをおこなった。また、現在、大腸菌で発現させたタバコ TBP をもちいて、当研究室で独自に開発したタバコ試験管内転写系の中でその生化学的特徴を調べている。

## 1aI06

**タバコ無細胞転写系はトランス活性化を再構成できる**

山口雄記、今関英雅、山崎健一（名古屋大・農・分化遺伝制御）

真核生物においてクラスII遺伝子の転写増幅はトランス作用因子が直接に、あるいは仲介因子をかいして、基本的転写因子（ＴＦⅡＡ～ＴＦⅡＪ）のプロモーター上への集合を促進させることによっておこると考えられている。またＴＦⅡＤは、ヒト・ショウジョウバエにおいてＴＡＴＡボックス結合タンパク（ＴＢＰ）と７～１０種のＴＢＰ associated factors（ＴＡＦｓ）からなる巨大な複合体を形成し、これらのＴＡＦがＳｐ１、ＣＴＦ、ＧＡＬ４－ＶＰ１６によるトランス活性化を仲介していると考えられている。しかし高等植物において、このような転写増幅に必要とされる因子に関する解析は殆どなされていない。

前回の本学会において、我々はタバコ培養細胞ＢＹ－２核抽出液による無細胞転写系を確立したことを報告した。

今回、我々はこの系を用いて、ＣａＭＶ３５Ｓプロモーターの上流配列の効果を解析した。-343から-47の配列を最小プロモーターに連結すると、転写活性の増大が観察され、この効果は逆向きに連結した場合も同様であった。この領域はドメインＢ（-343～-90）およびａｓ－１要素（-85～-64）から構成されるが、それぞれが転写活性の増大に貢献していた。またａｓ－１要素のコピー数を増やすと相加的に活性の増大を示した。これらの結果は以前報告されたトランスジェニック植物を用いた解析とよく一致している。よってこの転写系は転写調節機構の解析に用い得ることが実証された。再構成転写系の画分、ＴＢＰ組み替え体、ＤＮＡオリゴマー等を組み合わせて用いた実験結果を紹介し、これらトランス活性化がどのような要素を必要とし、どのような機構によっておこるのかついて報告する。

## 1aI07

**タバコ試験管内転写系を用いた熱ショックプロモーターの転写調節機構の解析**

志水佐江、山口雄記、今関英雅、山崎健一（名古屋大学・農・分化遺伝）

アラビドプシス熱ショック蛋白質（HSP18.2）のプロモーターの下流にＧＵＳ（β－グルクロニダーゼ）遺伝子を連結したものを導入した組み換えアラビドプシスやペチュニアでは、熱処理（35℃－40℃）するとＧＵＳ活性が高くなることが知られている（高橋ら、1992, Plant J,）。

このHSPプロモーターをもつプラスミドをタバコ培養細胞（BY-２）へエレクトロポアレーション法により導入し、熱ショック後、24時間培養してＧＵＳ活性を測定した。その結果、40℃の時最も高いＧＵＳ活性が観察され、コントロールである28℃の時の約18倍であった。このことは、導入されたHSPプロモーターがBY-２細胞内で熱に応答して、その転写量が上昇することを示す。

次に、BY-２の核より蛋白質を抽出し、これを熱処理後、HSPプロモーターを含む転写鋳型を用い試験管内転写を行ったところ転写活性は熱に依存して増加した。この転写増幅がどのような機構によって調節されているかについて報告する。

## 1aI08

ACCURATE *IN VITRO* TRANSCRIPTION OF PLANT PROMOTERS WITH NUCLEAR EXTRACTS PREPARED FROM TOBACCO BY-2 CELL LINE

Hao FAN, Masahiro SUGIURA. Center for Gene Research, Nagoya University, NAGOYA 464-01, JAPAN

We have developed an *in vitro* transcription system using extracts from nuclei of tobacco (*Nicotiana tabacum* ) BY-2 cell line. With this cell-free system, accurate transcription from plant and animal, class II promoters can be initiated *in vitro* and determined by primer extension method. This transcription system represents the *in vivo* situation as it could initiate transcription from those genes which are actually expressed in BY-2 cells, e.g. no transcription was observed when a light-regulated *rbcS* promoter was used. The extracts also directed accurate transcription initiation from a class III promoter (*Arabidopsis thaliana* U-6 snRNA promoter ). Therefore, our results show that this system could be ideal for studying the mechanism of gene expression and its regulation.

## 1aI09

**タバコRNA結合蛋白質RGP-3の核酸結合特性と細胞内局在性について**

守口和基、杉田護、杉浦昌弘（名大遺伝子実験施設）

我々はタバコ（*Nicotiana sylvestris*）cDNA ライブラリーより新奇の RNA 結合蛋白質をコードする cDNA クローンを単離した。DNA 塩基配列から推定される蛋白質は144 アミノ酸からなり、RNA 結合ドメイン（83 残基）とC末端側にグリシンリッチ領域（15 残基）をもつ。一昨年の本大会で報告した RNA 結合グリシンリッチ蛋白質 RGP-1b と RGP-2 の RNA 結合ドメインとは、それぞれ57%と63%のアミノ酸配列の相同性を持つことから、この蛋白質を RGP-3 と命名した。大腸菌内で大量発現させて得た RGP-3 を用いて核酸結合特性を調べた。その結果、ssDNA、dsDNA、poly(U) に対して比較的強く結合することがわかった。RGP-3 と RGP-1b に対する抗血清を用いて、ウエスタンブロット法と免疫細胞化学的手法により、タバコ細胞内での局在性を調べたので報告する。

1aI10

タバコRNA結合蛋白質ＲＺ-１の細胞内局在性

花野　滋、杉田　護、杉浦昌弘
(名古屋大学遺伝子実験施設)

我々は、タバコ*N. sylvestris*のcDNAライブラリーからRNA結合ドメインとZnフィンガーモチーフをもつ蛋白質をコードするcDNAクローンを単離し、この蛋白質を"RZ-1"と名付けた。また、RZ-1が実際にRNAと結合すること、RZ-1全体の構造がRNAとの結合には必要であると推察されることを示し、昨年度の本大会において報告した。今回、我々はRZ-1をグルタチオン-S-トランスフェラーゼとの融合蛋白質として大腸菌体内で大量発現させ、高度に精製したものを抗原とし、RZ-1に対する抗体を作成した。この抗体を用いてウェスタンブロッティング法や蛍光抗体法により、RZ-1がタバコ培養細胞BY-2の細胞核に局在していることを明らかにした。これは、RZ-1が核内で転写や転写後の発現制御に関与していることを示唆している。また、タバコの葉、根などについても、抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、細胞内局在および組織特異的発現について調べたので合わせて報告する。

一般講演

第1日　3月28日（月）　午後の部

A会場　光生物学（1）
B会場　光合成（2）
D会場　環境応答（2）
E会場　細胞骨格（2），オルガネラ（1）
F会場　脂質・生体膜
G会場　電気生理・イオン輸送
H会場　光合成（3）
I会場　遺伝子発現（2）

## 1pA01

光変換に伴う蛍光スペクトル変化を指標としたフィトクロム定量の可能性について

井上康則、田中良征（東理大・理工・応生）

フィトクロムの定量法として従来は、光変換に伴う吸収変化を指標にする方法と、免疫学的方法が主に用いられてきた。今回は光変換に伴う蛍光スペクトル変化を指標とした新しい定量方法の可能性を報告する。

低温蛍光スペクトル測定の結果（井上等、1993植物生理学会年会、金沢）から、液体窒素温度におけるPr⇔lumi-Rに伴う690nmの蛍光強度変化、あるいは-20℃におけるPr⇔meta-Rcに伴う690nmの蛍光強度変化が定量目的に使えそうであったので、まず-20℃での実験を試みた。75%グリセリンを含む10mMリン酸緩衝液pH7.8に溶かした黄化エンドウ芽生えより精製したフィトクロム2$\mu$lを厚さ0.9mmの微小キュベットに満たし、蛍光顕微鏡のステージにマウントし、633nmの励起光による-20℃でのPr,meta-Rcの蛍光強度を冷却CCDカメラを用いて定量した。その結果、光変換に伴う蛍光強度変化は$A_{666}$=0.00048-0.0077の範囲で試料の濃度と比例した。しかしながら、積算を行わない場合、蛍光強度のバラツキから検出限界は$A_{666}$=0.001程度で、従来の吸収変化を指標とした方法と同程度の検出限界に留まった。試料を液体窒素温度まで冷却すると、蛍光強度上昇に伴い信号強度変化が１桁以上上昇したので、従来の吸収変化による方法よりより感度の良い測定が可能になると期待される。

## 1pA02

講演取消

## 1pA03

尿素変性によるフィトクロムの色素団、タンパク質間相互作用の解析

廣瀬哲也，中澤美紀，真鍋勝司（横浜市大・文理・生物）

フィトクロムのタンパク質部分の立体構造、色素団とタンパク質間の相互作用の解析の為に、精製フィトクロムの尿素による変性及びその再生過程のトリプトファン(Trp)ケイ光、吸収スペクトルを測定した。

フィトクロムに種々の濃度の尿素(0～8M)を加え、Trpケイ光強度、吸収スペクトルの変化を測定したところ、その変性過程は多段階であった。3M尿素処理をした標品の吸収スペクトルは、フィトクロムを限定分解して得られる色素団近傍の36kDa断片(V66-Y383)と同様な褪色した形状(Ibl形)を示した。又、Trpケイ光は強度の増大と極大の長波長シフトがみられた。このことから、3M尿素ではタンパク質部分の立体構造の変化が起り、色素団との相互作用に変化が起っていることが示唆された。さらに、3M尿素処理後のフィトクロムを希釈により尿素濃度を下げていったところ、Trpケイ光強度は減少したが、Trpケイ光極大、及び吸収スペクトルの完全な復帰はみられなかった。又、再生フィトクロムの限定分解パターンは、nativeのものとほぼ同様であったが、nativeなフィトクロムにみられる29kDa断片(A753-R1010)が量的に少なく、立体構造の再生に重要な部域であることが示唆される。

## 1pA04

ホウキモロコシアントシアニン形成にPfrと協同作用する因子σ生成の光受容体

恩田祥子、七條千津子、橋本徹[1]（神戸大・理・生物、神戸女子大・家政[1]）

赤色光(R)パルス照射によるアントシアニン形成は遠赤色光(FR)によってほぼ完全に打ち消されるが、最初の赤色光パルス$R_1$をFRで打ち消した後に、赤色光パルス$R_2$を与えると、$R_2$単独の作用より大きな効果が現われ、この効果は$R_1$の光量に依存することなどから、Rの作用には、それ自身はアントシアニンを誘導しないが、Pfrの作用を増幅するRシグナルσが存在することを指摘した。σ生成は、FR打ち消しを受けにくいことから、R-FR相互変換をしないR受容体が関与していることも予測されるが、フィトクロムの可能性もあり、以下の通りこのことを確かめる実験を行った。σの定量は三重照射$R_1$-FR-$R_2$において、$R_2$によって一定量のPfrを与えて生成するアントシアニンの量によって行った。実験1)$R_1$とFRとの間隔を変えた照射により、σ生成にはFR打ち消しからの速やかなエスケープが認められた。実験2)$R_1$を580-690nmの範囲で変化させ、作用スペクトルを調べた。極大作用は660nmに認められた。実験3)種々の波長における200秒照射の光量－σ生成応答曲線を調べた。曲線のプラトーレベルは620nmと660nmで最も高くなり、等レベルのプラトーが認められた。しかし、それより長波長側では低下した。

## 1pA05

細胞質運動の光制御と光情報伝達過程の解析

高木慎吾，上妻道成[1]，峰雪芳宣[2]，古谷雅樹[3]（大阪大・教養・生物，[1]日立・計測器，[2]広島大・理・生物科学，[3]日立・基礎研）

淡水産単子葉植物オオセキショウモの葉の表皮細胞の葉緑体は、弱光下でフィトクロムと光合成色素との協働作用により、細胞上面に集まる光定位運動を示す(Dong et al. 1993)。本研究の目的は、この実験系を用いて、細胞質の運動をひき起こす光受容系と、シグナル伝達経路の初期過程とを解析することである。波長850 nmの安全光を用い、対物レンズ(40倍、開口数0.70)でとらえた細胞上面の光学像を、高感度TVカメラを通して光磁気ディスクに取り込み、経時変化処理プログラム(Mineyuki et al. 1983)によって、細胞内顆粒の運動性の変化を擬似カラーで表示した。その結果、細胞を暗順応させると、細胞質中の輝点が認められなくなること、短時間赤色光照射後、数秒間以内に細胞質中に輝点が現われるので、極めて早い光制御反応であること、この効果は赤色光特異的であること等が明らかとなった。さらに落射照明光路にダイアフラムを挿入し、単一細胞を顕微照射した際、他の細胞に輝点が現われるか否かを調べることにより、運動を制御する情報が細胞間で伝達されるか解析中である。

## 1pA06

ホウライシダ前葉体細胞における核定位運動の光制御

加川貴俊・和田正三（都立大・理・生物）

核は成長や細胞分裂にともなって、その必要な位置に移動することはよく知られていたが、葉緑体のような光定位運動は従来知られていなかった。演者らはホウライシダ(*Adiantum capillus-veneris*)の前葉体細胞内で、核が光によりその位置を変えるという、今までに報告がない核定位運動を見出し解析した。

明所で培養され、細胞層が一層の前葉体の細胞では、核は表面の葉緑体層の直下に位置していた(Light position)が、暗順応した前葉体細胞の核は、細胞分裂の結果できた細胞壁近傍に位置していた(Dark position)。核がLight positionにある前葉体に、前葉体の展開面と平行な方向からその展開面に垂直な振動面を持つ赤色又は青色偏光を、連続して6時間照射すると、核は前葉体の展開面に垂直な細胞壁すなわち前葉体の細胞同士を分かつ細胞壁の近傍に移動した。核がDark positionに位置する場合も、前葉体の展開面と平行に振動する偏光を約4時間照射することによって、核の定位運動の誘導が観察された。これらの運動はくり返し誘導することができた。核の移動方向は葉緑体光定位運動の運動方向と一致していたが、葉緑体は核に比較して短時間で定位した。

これらの事実は、核の光定位運動が葉緑体光定位運動とは独立の現象であることを示唆している。

## 1pA07

PHOTOMOVEMENTS IN *Euglena gracilis* : AMMONIUM ION ENHANCES THE STEP-DOWN PHOTOPHOBIC REACTION

Shigeru MATSUNAGA, Tetsuo TAKAHASHI[1], Mamoru KUBOTA[2], Masakatsu WATANABE[2], Michizo SUGAI[3] and Terumitsu HORI, Inst. Biol. Sci., The Univ. of Tsukuba, Tsukuba 305, [1]Japan Advanced Institute of Science and Technology, Tatsunokuchi, Ishikawa 923-12, [2]National Institute for Basic Biology, Okazaki 444, [3]Fac. Biol., Dept. Sci., Toyama Univ., Toyama 930

In *E. gracilis*, photophobic reactions are composed of **step-up** ( leading to photoavoidance ) and **step-down** ones (leading to photoaccumulation ), and both of them are action-spectroscopical blue-light reactions.

In experimental culture conditions, 2- day starvation of nitrogen sources caused strong **step-up** photophobic reaction but not **step-down** photophobic reaction to 440 nm blue light . However, 10 hours after addition of nitrogen source ( ammonium salts ), the **step-down** photophobic reaction was well resumed but the **step-up** photophobic reaction was lost.

This change seems to be linked with nitrogen assimilation because it was blocked by inhibitors of $NH_3$ -assimilation enzymes (i.e, glutamine synthetase ).

## 1pA08

クロレラ変異体での硝酸・アンモニア取り込みの青色光制御

神谷明男（帝京大・薬・化学）

クロレラ変異体を材料として以下のことを前回までに報告した。青色光照射により (1)硝酸の取り込みが促進され、(2) in vitro系で硝酸還元酵素の活性化が認められた。生成した亜硝酸はアンモニアへ還元され、グルタミン合成酵素(GS)により固定されるが、青色光照射により (3)アンモニアの放出が顕著となり、(4)GS活性の増加が認められた(Kamiya 1988, 1989)。このように、青色光はクロレラの硝酸代謝を促進させる。クロレラは硝酸以外にもアンモニア・アミノ酸などを窒素源として利用できるが、アミノ酸(プロリン系・アルギニン系)の取り込みにも青色光が有効である(Kamiya & Kowallik 1991)。

硝酸は $H^+$-symportにより、アンモニアは$NH_4^+$-uniport(アンモニアの取り込みは細胞からの $K^+$-efflux と $H^+$-extrusion で charge compensationされる)により取り込まれる。そこで、今回硝酸を窒素源、グルコースを炭素源として生育したクロレラ白色変異体を用いて硝酸の取り込みを $H^+$-$NO_3^-$-symportで検討した結果、青色光は硝酸の取り込みを促進させることを再確認した。また、硝酸で生育した細胞はもともと高いアンモニア取り込み活性を示すが、その活性は青色光により逆に阻害された。しかし、この青色光によるアンモニア取り込み阻害効果はバッファー中に硝酸が存在するとキャンセルされた(青色光照射下)。青色光は硝酸代謝経路を促進させるが、アンモニアは逆に硝酸代謝経路を種々の箇所で阻害させることが知られている。これらの結果から、クロレラ細胞でのアンモニア取り込みは細胞内のアンモニアレベルで調節される可能性を今後検討する。

## 1pA09

数生態型*Bipolaris oryzae*の胞子形成の光調節反応

木原淳一、熊谷忠（東北大・遺生研）

多くの糸状菌は、胞子形成誘導に光を必要とするタイプ（photo-induced sporulators）と光を必要としないタイプ（non-photo-induced sporulators）の2つに分けられる。また、イネごま葉枯病菌*Bipolaris oryzae* には２つのタイプの生態型が存在する。光誘導型*B. oryzae*は連続暗黒下では胞子を形成せず、栄養菌糸が近紫外光を受けると分生子柄形成が誘導され、引き続き暗黒下に置かれると胞子が形成される。この近紫外光による胞子形成誘導効果は青色光照射によって打ち消される。また、形成された分生子柄は青色光を照射されると気中菌糸へと脱分化し、胞子は形成されなくなる。この２つの光の効果は相互に打ち消し合う（マイコクローム系による光調節反応）。非光誘導型*B. oryzae*の胞子形成は一定の成熟段階にある分生子柄からの胞子形成過程のみが近紫外光と青色光による拮抗反応によって調節される。

胞子の形態、病斑、r-DNAにおけるRFLP分析から*B. oryzae*であると同定した種々のイネごま葉枯病菌のマイコクローム系による光調節反応を調べた。その結果、単離した菌の約80％がマイコクローム系によって光調節を受ける光誘導型に属すること、非光誘導型のうち１菌株は分生子柄からの胞子形成がマイコクローム系による調節を受けること、２菌株は完全に光感受性を失っていることが判明した。このように*B. oryzae*には、マイコクローム系からみて、幾つかの異なった生態型が存在する。

## 1pA10

ゼニゴケ培養細胞の分化における光調節

加藤真司，菅原康剛（埼玉大・理・生体制御）

我々は前報でゼニゴケ（Marchantia polymorpha L.）の培養細胞が低浸透圧の培地（1/10 MS,Voth）上で原糸体と仮根を分化することを示した。また，原糸体の分化は培地の組成（C源，N源）にあまり影響を受けないが，仮根の分化はショ糖を含み，$NH_4^+$を含まない培地で明所でのみ起こることを明らかにした。今回は，これらの原糸体と仮根の分化に及ぼす光の効果について調べた。培養細胞からの原糸体の分化は，$NH_4^+$を含む培地では暗所あるいは明所のいずれでも起こった。しかし，光の波長によってその形態が異なっていた。一方，仮根の分化は，$NH_4^+$を含まない培地で白色あるいは赤色光でのみ起こった。また，$NH_4^+$を含まない培地でも，青色あるいは緑色光下では原糸体が分化することが明らかになった。さらに、青色あるいは緑色光では，いずれの培地においても形成された原糸体は正の光屈性を示した。これらの結果から，ゼニゴケ培養細胞からの原糸体，仮根の分化・成長の過程に二つの光受容体が関与していることが示唆された。

## 1pA11

光によるインゲン胚軸伸長生長抑制機構の解析

長谷川祐康，井上康則（東理大・理工・応生）

吸水開始後6日目のツルナシインゲン（品種；グリーン・ダッシュ）の胚軸伸長生長は、白色光の照射時間に強く依存して阻害されるが、1日の生長量で見ると12時間照射で、連続光照射と同じ程度に阻害された。光強度に関しては$0.4Wm^{-2}$で既に飽和に近い効果がもたらされた。白色光の効果は、$10^{-6}$MGA投与により暗黒対照レベルまで回復し、一方、GA合成阻害剤AMO1618投与で暗黒下での伸長は、阻害された。GA投与による伸長回復率には、明暗の差がみられなかったこと、回復率が100%に到達したことから、白色光の効果は、GAに対する感受性低下や、伸長阻害物質生成によるものではないと考えられる。伸長阻害の時間経過を、赤外ビデオシステムで解析すると、2時間の光照射により、赤色光（$3.3Wm^{-2}$）では照射開始後30分間程で伸長阻害が始まり、射終了後でも約8.5時間続いた。一方青色光（$3.5Wm^{-2}$）では、照射開始後約1.5分遅い生長で伸長阻害が始まり，照射終了後約2時間持続した。このように、赤、青色光の阻害パターンの違いから、両者における伸長阻害の機構が異なっていると考えられる。赤色光の効果はフックへの$10^{-8}$mol$GA_3$投与により完全に打ち消されるが、青色光の効果のうち照射終了後の阻害のみがGAにより打ち消された。この結果は、フィトクロームが関与している反応においてGAが作用している可能性を示唆している。

## 1pA12

フィトクロムBによる茎の伸長制御におけるジベレリンの役割

小林正智，Enrique Lopez-Juez[1]，Richard E. Kendrick[1]，神谷勇治[1]，桜井　成（理研，[1]理研・フロンティア）

キュウリの１ｈミュータントは、Ｂ型フィトクロムが欠損していることが明らかになっている。１ｈの茎は正常型に比べ著しい伸長を示すが、矮化剤を用いた実験により、１ｈの伸長に内生ジベレリンが関与している可能性が示唆されている。

そこで１ｈ及び正常型キュウリの芽生え中に存在する内生ジベレリン量を比較することを目的として、キュウリの茎葉における活性型ジベレリンとされているＧＡ$_4$、その前駆体であるＧＡ$_9$、ＧＡ$_{20}$の代謝物であるＧＡ$_{34}$についてＧＣ－ＭＳにより分析を行った。催芽した種子を土壌に移植してから４日後においては１ｈと正常型の間に顕著な違いは見られなかったが、７日後、及び１１日後では１ｈの方がいずれのジベレリンも高い値を示した。しかし、より弱い光強度で植物試料を育てた場合ではジベレリン含量は１ｈでむしろ低く、１ｈの示す伸長はジベレリンレベルのみでは説明できないことが明らかとなった。

## 1pA13

フシナシミドロで同時に現れる垂直と平行の2種の偏光屈性

片岡博尚　（東北大．遺伝生態研セ）

先端成長をする糸状藻，フシナシミドロは偏光の（*E*-vectorの）振動面に垂直と平行の2種の偏光屈性を同時に示すことを見つけた．その原因と光屈性との関連を検討した．

フシナシミドロは，光強度に応じてが正から負へと光屈性の方向を変えることができる．最近，この光屈性の転換は，強い青色光により細胞先端での$Ca^{2+}$流入が増加し，細胞内の$Ca^{2+}$レベルが，一時的にせよ，上昇することが原因であることを見い出した．$Ca^{2+}$はさらに光屈性における光信号伝達物質としても働いていることが示唆された．

数種のフシナシミドロを連続白色偏光下で育てると，あるものは*E*-ベクトルに垂直な偏光屈性を示すが，多くの種では*E*-ベクトルに垂直と平行な2種の偏光屈性が現れ，中間の角度をとるものはない．その結果，十字形に藻体が拡がる．垂直偏光屈性の比率は青色偏光の強度上昇に伴って低下したが，赤色偏光ではほとんどが垂直方向に成長した．この傾向や程度は種や株によって異なる．赤色偏光ではほとんどが垂直方向に成長した．赤色光は光屈性に無効である．

この現象は，①光受容体が膜に平行に配向し，②細胞先端の成長域は細胞軸に垂直な偏光を平行な偏光より多く吸収するので，個々の先端について，正光屈性を起こす光強度では垂直方向の偏光屈性を，負光屈性を起こす高光強度では平行方向の偏光屈性を示すと考えると理解できる．そこで，暫定的に前者を正偏光屈性，後者を負偏光屈性と呼びたい．

## 1pA14

オウゴンガジュマルにおける生葉黄金化の光依存性

山崎秀雄、平敷りか、池原規勝（琉球大・理・生物）

ガジュマル*Ficus microcarpa* は、奄美以南に広く分布している熱帯性木本である。その栽培品種であるオウゴンガジュマル*Ficus microcarpa* cv. Golden Leavesは、生葉が美しい黄金色（黄色）を呈しているため、沖縄や台湾などで生け垣や街路樹として広く用いられている。今回、生葉の黄金化現象が強光によって引き起こされる可逆的現象であることを報告する。

オウゴンガジュマルの緑葉は野性種の生葉と比較しても、
外部形態、葉組織形態、色素含量のいずれにも差は認められなかった。しかし、黄金葉では光合成色素が緑葉の10％以下しか含まれておらず、逆にフラボノイド量は5倍に増加していた。この黄金葉に遮光処理をすると、処理日数に依存してクロロフィル含量が直線的に増加し、二週間で緑葉の40％まで回復した。又、黄金葉では、葉肉細胞のクロロフィルによる赤色蛍光の減少が見られ、フラボン／フラボノールによる黄色蛍光の増加が表皮細胞と葉肉細胞とで観察された。以上の結果からオウゴンガジュマル生葉の黄金化は落葉や枯死を伴う現象ではなく、光に依存しておこる可逆的なクロロシスであるといえる。細胞可溶性画分のSOD様活性がオウゴンガジュマルでは緑葉、黄金葉ともに野性葉よりも低かったことから、黄金化の原因として強光ストレスによる細胞内活性酸素レベルの上昇が関与していることが考えられる。

## 1pA15

Alternaria属菌によるtetrahydroanthraquinone類の光誘導生産

原口博行，小野英俊，岡村信幸[1]，八木 晟[1]，橋本研介
（福山大・ 工，[1]薬）

altersolanolはAlternaria属菌等数種の植物病原菌の生産するtetrahydroanthraquinoneである。我々はA. solani FY-03株より既に報告されているaltersolanol A，B及びCとともに同菌培養液より新規にaltersolanol D，E，Fを抗菌性化合物として単離し，[1] 特に Aについてその作用を検討したところ，感受性菌 P. aeruginosaの呼吸鎖上で電子受容体として働いていること，[2] また，化学的に調製したそれらの誘導体の抗菌活性について報告した。[3] 本報ではA. solani FY-03株によるaltersolanol類の生産性について，他の Alternaria属と比較検討したのでその結果について報告する。

液体培養されたAlternaria属菌の培養濾液をWakosil-II 5C 18 HGカラムを用い，acetonitrile-水のグラディエント溶出により，[4] FY-03株，A. solani IFO 7516，A. porri IFO 9762からそれぞれのaltersolanol類は分別定量された。 他の2菌株と異なり，FY-03株による altersolanol類の生産は光照射により著しく促進され， DMSOあるいはDMFの添加がこの作用を増長した。一般的な界面活性剤との相乗効果は認められなかったが，FY-03株においてtriadimefon等の細胞質膜障害殺菌剤はaltersolanol類の光誘導生産を促進した。有効波長及びphoto-period等については，現在検討中である。

1)A.Yagi et al.(1993) Phytochem., 33, 87; 2)H.Haraguchi et al.(1992) Biosci.Biotech.Biochem., 56, 1221; 3)矢野ら (1993) 日本農芸化学会大会講要 p.233; 4)N.Okamura et al. (1993) J.Chromatog., 630, 418.

## 1pB01

ユーグレナ光化学系Ⅱ膜表在性 30-kDa タンパク質前駆体の高等植物葉緑体への輸送

重森康司、山本泰（岡山大・理・生物）

単細胞藻類であるユーグレナの葉緑体には3重の包膜が存在する。我々は昨年の本大会で、ユーグレナ光化学系Ⅱ膜表在性 30-kDa タンパク質の cDNA クローニングの結果、予想されるタンパク質前駆体のプレ配列のN末側に、シグナル配列様の特徴があることを報告した。これはユーグレナの RuBisCO SSU や porphobilinogen deaminase のプレ配列でも見られ、ユーグレナの包膜通過に必要な構造であると考えられる。高等植物の 33-kDa タンパク質のプレ配列には、この特徴的な構造は見られないので、ユーグレナ 30-kDa タンパク質前駆体は高等植物の葉緑体へは全く輸送されないと予想されたが、実際にホウレンソウの無傷葉緑体へ *in vitro* で合成したユーグレナ 30-kDa タンパク質前駆体を輸送させてみたところ、チラコイドの内腔まで輸送されることが確認された。ユーグレナの 30-kDa タンパク質前駆体は、高等植物の 33-kDa タンパク質前駆体とは異なる様式で高等植物葉緑体へ輸送される可能性がある。Y.Shigemori, J.Inagaki, H.Mori, M.Nishimura, S.Takahashi and Y.Yamamoto : Plant. Mol. Biol., in press.

## 1pB02

キメラ前駆体を用いたユーグレナ酸素発生系30kDaタンパク質の葉緑体への輸送の解析

稲垣純子、山本　泰、藤田祐一[1]、長谷俊治[1]
（岡山大・理・生物、[1]阪大・蛋白研）

ユーグレナの光化学系Ⅱ酸素発生系30kDaタンパク質のpre配列には、２つの疎水性領域が存在する。このうち、高等植物の33kDaタンパク質前駆体には存在しないＮ末の疎水性領域の機能を明らかにするために、この前駆体のpre配列のＮ末44残基をエンドウの33kDaタンパク質前駆体のＮ末32残基に置き換えたキメラをつくり、エンドウやホウレンソウ葉緑体への輸送を試みた。その結果、ユーグレナの30kDaタンパク質前駆体の高等植物葉緑体への輸送効率は低かったが、キメラ前駆体は効率よく輸送された。エンドウの33kDaタンパク質前駆体のＮ末32残基内に、葉緑体包膜の認識とその通過に必要なシグナルがあると考えられる。一方、ユーグレナの前駆体タンパク質のＮ末疎水性領域は、ユーグレナの３重の包膜通過にのみ必要である可能性がある。キメラ前駆体は、葉緑体に効率よく輸送されるが、その輸送中間体がストロマにかなり蓄積するので、チラコイド内腔への輸送の効率は低いといえる。この結果から、pre配列のＣ末のチラコイド通過領域においても、ユーグレナとエンドウの間で構造的な違いがあることが示唆される。

I. Kuroda, J. Inagaki and Y. Yamamato :
Plant Mol. Biol. 21, 171-176 (1993)

## 1pB03

葉緑体包膜の電子伝達タンパク質

西條由見子、村田善則、有井康博、高橋正昭（甲南大・理・生物）

我々は昨年の本大会において、無傷葉緑体に光照射を行うと、葉緑体の外側に加えられたシトクロム *c* (Cyt *c*) が還元されることを報告した。この還元は$O_2^-$に依存せず、包膜の酸化還元成分により直接Cyt *c*が還元されることが明らかとなり、包膜を貫通した電子伝達の存在が示唆された。今回は、包膜からの電子伝達タンパク質の精製とその性質について報告する。

ホウレンソウ葉緑体を凍結・融解、または、低調液処理により破裂させた後ショ糖密度勾配遠心により包膜を得た。オクチルグルコシド(OGP)を用いて可溶化した包膜タンパク質画分にCyt *c*を酸化する活性が認められ、OGPを含むショ糖密度勾配遠心により、Cyt *c*酸化能を持つ包膜タンパク質の分子サイズは、沈降速度から約40 kDaと計算された。Cyt *c*の酸化当量から推定した含有量と分子サイズから、この電子伝達タンパク質の候補と考えられるタンパク質が、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で３種認められた。それらに対する抗血清のCyt *c*酸化活性に対する阻害効果、および、ゲルロ過クロマトグラフィーの分離パターンから～20 kDaのタンパク質を電子伝達タンパク質として単離した。タンパク化学的な性質と、単離された包膜の酸化還元タンパク質をリン脂質ベシクルに再構成して再現した膜内外を結ぶ電子伝達活性について報告する。

## 1pB04

マサキ斑入り葉におけるポルフィリン合成系の解析

増田建、高部圭司[1]，太田啓之、塩井祐三、高宮建一郎　（東工大・生命理工・生体機構、[1]京大・農・林産工学）

我々は前回の大会で、マサキ (*Euonymus japonicus*) 斑入り葉の色素欠損した白色部で、クロロフィル、ヘム合成系の前駆体である5-アミノレブリン酸（ALA）合成系が、緑色部に対して高い活性を持つことを報告した。ALA以降の代謝系について検討を行うため、細胞の抽出液にALAを与え、Porphobilinogen (PBG) やポルフィリン中間体の合成能を検討したところ、白色部では緑色部に対し有意に高い活性を示した。次に、ポルフィリン環のisocyclic ring形成を阻害する2,2'-dipyridylを葉切片に処理したところ、緑色部ではMg protoporphyrinが主に蓄積したのに対して、白色部ではProtoporphyrin IXの蓄積のみが認められた。従って、白色部ではMgキラターゼが触媒する、ポルフィリン環へMgが配位するステップがブロックされていることが想定された。また、ALAからProtoporphyrin IXに至るまでの合成系が、白色部でも潜在的に高い活性を有していることは、白色部におけるヘム合成に関与していると思われるが、葉切片にALAを与えても、ポルフィリン中間体がほとんど合成されなかったことから、組織内ではフィードバック制御などにより低いレベルに抑えられていることが想定された。

## 1pB05

キュウリ NADPH－protochlorophyllide oxido－reductase (NPR) のcDNAクローニングとその発現様式

黒田浩文、増田建、太田啓之、塩井祐三、高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構）

NPRは、クロロフィル合成系のプロトクロロフィライドからクロロフィライドへの変換を触媒する。我々は、シロイヌナズナのNPR・cDNAクローンをプローブとして、キュウリcDNAライブラリーよりNPR・cDNAのスクリーニングを行った。得られたクローンは1.3kbのcDNA挿入配列を含んでいたが、構造遺伝子の全長を欠いていた。塩基配列を解析したところ、エンドウNPR・cDNAと約75%、オオムギと約65%の相同性を有していたため、今回得たクローンはキュウリNPRのcDNAであることが推定された。ゲノミックサザンハイブリダイゼーションをおこなったところ、本遺伝子は、キュウリゲノム中に１コピー存在することが示唆された。さらにノーザンハイブリダイゼーションによりmRNAの発現を調べたところ、1) 葉で強く発現していること、2) 光照射によって発現が促進されたこと、3) 植物ホルモンのサイトカイニン添加によって発現が増加し、アブシジン酸添加によって減少することが認められた。NPRの発現様式については、オオムギをはじめとして、幾つかの植物で光照射により急激にその発現が減少することが報告されているが、今回キュウリでは異なった結果が得られ、現在この点について解析を行っているところである。

## 1pB06

クロロフィルbからクロロフィルaへの変換系
伊藤寿、大塚達之、田中歩、辻英夫（京大、理、植）

クロロフィライドbをキュウリの単離エチオプラストとともに暗所でインキュベートするとクロロフィル（Ｃｈｌ）aが蓄積し、ＣｈｌbからＣｈｌaへの変換系が存在することを前回報告した。この変換系において、Ｃｈｌbの第二ピロール環の3位のアルデヒド基が還元されてＣｈｌaのメチル基になる。このときアルデヒド基がまずヒドロキシメチル基に還元されると予想されるので、水素化ホウ素ナトリウムを用いてＣｈｌbから3－ヒドロキシメチルクロロフィル（ＨｏＭｅＣｈｌ）を合成した。これをクロロフィラーゼによってクロロフィライドにし、キュウリエチオプラストとインキュベートしたところＣｈｌaが蓄積した。このときクロロフィライドbより3－ヒドロキシメチルクロロフィライドのほうがＣｈｌaへの変換が速いことから、ＨｏＭｅＣｈｌがＣｈｌbからＣｈｌaへの中間体であると考えられる。

キュウリのエチオプラストではＨｏＭｅＣｈｌの蓄積は見られなかったが、オオムギのエチオプラストをクロロフィライドbとインキュベートしたところ，ＨｏＭｅＣｈｌの蓄積がＨＰＬＣで確認された。この二段階の還元反応のうち、ＨｏＭｅＣｈｌからＣｈｌaへの変換にはＡＴＰが必要であることがわかった。

## 1pB07

クロロフィライドbのフィチル化後に起こるクロロフィルaへの変換
大塚達之、伊藤寿、田中歩、辻英夫（京大、理、植）

我々は、クロロフィライドbをオオムギの単離エチオプラストとともに暗所でインキュベートするとクロロフィルaが蓄積することを明らかにした。

しかし、クロロフィルが単離エチオプラスト内へ透過しにくいことからクロロフィライドを基質として用いてきたために、（1）クロロフィライドbがフィチル化してクロロフィルbとなった後、クロロフィルaに変換されるのか、または（2）クロロフィライドbがまずクロロフィライドaに変換された後、フィチル化されてクロロフィルaになるのかがわからなかった。

今回、クロロフィルを基質として変換反応の活性を調べるため、オオムギエチオプラストを種々の界面活性剤で処理したところ、1％Tween80により可溶化された画分に3－ヒドロキシメチルクロロフィル（予想される中間体）を与えると、クロロフィルaの生成が認められた。このことから（1）の過程で変換反応が起こりうることが示された。

## 1pB08

緑色培養細胞におけるキサントフィルサイクルの制御
竹田恵美，犬丸久美子，西井晶子，井田和子
（大阪女子大・基礎理）

キサントフィルサイクルは葉緑体チラコイド膜において3つのキサントフィルすなわちビオラキサンチン（V），アンテラキサンチン（A），ゼアキサンチン（Z）が光に依存して相互変換するサイクルで，Vが脱エポキシ化されて生じるZが過剰な光エネルギーによる光障害からの光合成装置の防御に関与するといわれいる。このサイクルはこれまでに高等植物，シダ，コケ，一部のソウ類に存在することが知られている。我々が材料としているタバコ緑色培養細胞は，培養細胞ながら発達した葉緑体を有し，光合成を行う細胞である。一昨年の本年会において，この緑色培養細胞のＶ含量が緑葉に比べクロロフィル当たりで約3倍に増加していることを報告した。今回はこのビオラキサンチンが培養細胞においてもキサントフィルサイクルの基質として脱エポキシ化され得るのか，また培養細胞においてＶ，Ａ及びＺ含量はいかなる要因によって制御されているのか検討した。

タバコ緑色培養細胞を種々の光強度下で培養した結果，光強度が高くなるにつれて，キサントフィルサイクルのトータルプールサイズ（V+A+Z含量の合計）が増加した。また，培養細胞を光照射することによりVがZに変換し，さらにそのVからZへの変換はビオラキサンチン デエポキシダーゼの阻害剤であるジチオスレイトールによって阻害された。以上の結果より，タバコ緑色培養細胞においてもキサントフィルサイクルが存在し，そのトータルプールサイズは緑葉と同様に生育時の光強度に依存することが明らかとなった。

## 1pB09

緑藻Chlamydomonas reinhardtiiにおけるPSⅠ/Ⅱ量比の光質による適応的変化
村上明男[1]，相澤克則[1]，大城香[2]，Jeff A. Nemson[3]，中嶋祐二[4]，Anastasios Melis[3]，藤田善彦[1]（[1]基生研，[2]東海大・海洋，[3]California大・Berkeley校，[4]三菱重工・基盤研）

我々はPSⅠ/Ⅱ量比が光環境に適応して変化することをラン藻・紅藻と高等植物について明らかにして来た。今回は、緑藻Chlamydomonas reinhardtiiの光質によるチラコイド成分の適応的変化について報告する。C. reinhardtii C137(+)株を用い、黄色光：Y（480nm～650nm）、赤色光：R（>600nm）、及び暗赤色光：ＬＲ（>670nm）の３種の光質条件で、増殖速度がほぼ同一になる光強度で培養した。励起がPSⅡに偏重しているＹで生育した細胞で最も高いPSⅠ/PSⅡ比(1.3)が、またPSⅠ励起に最も偏ったＬＲで生育した細胞で最も低いPSⅠ/PSⅡ比(0.8)が得られた。Ｒではその中間(1.0)となった。また、細胞当たりの含量もＹ＞Ｒ＞ＬＲとなった。LHCⅡ含量にも著しい差異が見られ、ＬＲ細胞ではＹ細胞の約1/5となった。電顕像によると、チラコイド系の発達、特にスタッキング領域の発達に同様の差異が認められた。ＬＲ細胞での光合成量子収率はＬＲで高くＹで低くなることから、この量的変化が光合成効率を維持する調節であると考えられた。PSⅠ励起に偏重した光により、PSⅠ、LHCⅡ両者が減少することはこの変化がChl a 合成の抑制（ＬＲ下で抑制）を含むことを示唆する。

## 1pB10

光化学系の量的調節とクロロフィル合成の関係：プロトクロロフィライド還元反応の調節

藤田 善彦、 相澤 克則、 村上 明男 （基生研・細胞生物）

ラン藻 Synechocystis PCC6714 について、光環境に対応しておこる系Ⅰと系Ⅱの量的調節が系Ⅰの合成制御によること、この合成制御がクロロフィル合成の制御によることを既に報告して来た。この関係を更に検討し、プロトクロロフィライド還元反応が光環境により制御されていることを見出したので、そのあらましを報告する。 系Ⅰの合成が抑制される系Ⅰ光下では、Mg-プロトポルフィリン、プロトクロロフィライドが蓄積されるが、クロロフィライドaの蓄積はおこらない。系Ⅱ光により系Ⅰの合成を促進すると、中間体の蓄積は急速に解消され、一時的にクロロフィライドaが蓄積される。プロトクロロフィライドの減少とクロロフィライドaの増加は鏡像関係を示し、プロトクロロフィライド還元が加速されることを示す。このプロトクロロフィライド還元の性質の解析から、(1) 同反応の加速減速は光依存型還元反応によるものでないこと、また、(2) ＰＳＩアポ蛋白合成の結果としておこるものでないことが判った。これらの結果は系Ⅰ、系Ⅱ光による電子伝達状態の偏重が信号となり、プロトクロロフィライド還元が抑制、または促進されることを示し、この反応調節が系Ⅰの合成調節をもたらす要因の一つであると結論した。

## 1pB11

光質によるラン藻ＰｓａＡ/Ｂペプチドの翻訳制御

相澤 克則、 金 成俊、 藤田 善彦 （基生研・細胞生物）

植物は、光環境に適した光化学系ⅠとⅡの量比を持つチラコイド膜を形成する能力をもつ。我々は、Synechocystis PCC6714 の場合、光質によるこの比の調節はＰｓａＡ/Ｂペプチドの合成速度の変化による事を明らかにした。今回、同ペプチドの翻訳制御を示唆する結果を得たので報告する。 Synechocystis PCC6714をＰＳＩ光で生育させたＰＳＩ光細胞および、これにＰＳⅡ光を数十分照射し、ＰｓａＡ/Ｂペプチドの合成を加速させたＰＳⅡ光シフト細胞のin vivo 蛋白質合成速度に対する、リボソームサイクル阻害剤の効果を調べた。その結果:(1)ＰＳＩ光細胞のＰｓａＡ/Ｂペプチド合成は、ＰＳⅡ光シフト細胞の同ペプチド合成および他の蛋白質合成に比べ、ペプチド延長反応を阻害するクロラムフェニコールの阻害を受け難かった。また、低濃度の同阻害剤のもとでは、有意な活性の上昇が起こった。(2) ＰＳＩ光細胞のＰｓａＡ/Ｂペプチド合成は、ＰＳⅡ光シフト細胞に比べ、翻訳開始反応を阻害するパロモマイシンの阻害を受け難かった。これらの結果は、ＰＳＩ光細胞のＰｓａＡ/Ｂペプチド合成は、ＰＳⅡ光シフト細胞の同ペプチド合成に比べ、翻訳開始反応と新生ＰｓａＡ/Ｂペプチド鎖の延長反応のステップが、遅くなっている事を示唆する。また、ＰＳⅡ光シフトの際には、これらの反応が加速されるのであろう。 以上の結果を示し、ＰｓａＡ/Ｂペプチドの翻訳制御について論議する。

## 1pB12

クロロフィルアルコール側鎖の還元経路について

新家 勝，津山孝人，小林善親（九大・農・林）

チラコイド膜に存在するクロロフィル(Ｃｈｌ)や、光化学反応系Ⅰの電子受容体であるフィロキノン(ＶＫ$_1$)は、ジテルペンアルコールの一種であるフィトール(Ｐ)を側鎖にもつ化合物である。チラコイド膜のＣｈｌ合成は、ゲラニルゲラニルピロリン酸(ＧＧＰＰ)によるクロロフィライドとのエステル化反応により、Ｃｈｌ-ＧＧが形成され、次いで、Ｃｈｌ-ＧＧからＣｈｌ-Ｐへの段階的な還元を経て行われている。一方、包膜に含まれるＧＧＰＰは、ＰＰＰに還元された後、ＰＰＰを基質とするプレニル転移酵素によって、ＶＫ$_1$の側鎖の合成に使われると考えられている。Ｃｈｌ、ＶＫ$_1$の側鎖の還元が、同一酵素で触媒されているか、または、異なる酵素で行われているかを明らかにするために、Ｃｈｌアルコール側鎖の還元に異常を示す２種類のイネ変異株(Ｍ１３４，２４９)を用いて、Ｃｈｌ，ＶＫ$_1$，ＶＫ$_2$，Ｐ７００含量などの定性定量分析を行った。もし、これらの還元に関与する酵素が同一であるならば、変異株には、側鎖としてＰをもつＶＫ$_1$が存在しないか、または、側鎖としてＧＧを持つメナキノン-4(ＶＫ$_2$)が蓄積されなければならない。しかし、変異株のキノン抽出液からは、ＶＫ$_2$は確認されず、ＶＫ$_1$のみが検出された。そして、変異株のＶＫ$_1$/Ｐ７００比が約２であり、正常株と比べ、大きな差は認められなかった。これらの結果は、変異株の包膜に存在するＧＧＰＰをＰＰＰへ還元する酵素が、正常であること、また、アルコール側鎖の還元が、核遺伝子にコードされたチラコイド膜に存在する複数の還元酵素により、特異的に行われていることを示唆している。

## 1pB13

クロロフィルアルコール側鎖の還元にともなう緑色植物の光ストレス耐性の獲得について

小林善親，新家 勝，津山孝人（九大・農・林）

緑色植物の光合成色素であるクロロフィルには、アルコール側鎖としてフィトールが結合している。しかし、光合成におけるアルコール側鎖の生理機能については、ほとんど知られていない。側鎖アルコールの還元状態が異なるクロロフィルを蓄積するイネ変異株を用いて、$Q_A$の還元およびＰ７００の酸化反応における光量子効率、光合成活性の光阻害などを測定した。クロロフィルとタンパク質との結合および最大光合成活性は、側鎖アルコールの還元状態の違いによって、ほとんど差は認められなかった。しかし、系Ⅰ，Ⅱの光量子効率は還元型アルコールを持つクロロフィルの蓄積により向上し、また、光に対する耐性能力も著しく向上した。これらの結果をもとに、アルコール側鎖の還元と光耐性能力との関係について考察する。

## 1pB14

シロザの葉の老化に伴う葉緑体の数の変化

山崎武信, 工藤俊之, 上村保麿, 加藤栄（東邦大・理・生物）

葉の老化に伴う葉緑体の量的変化については、これまでに相反する結果が報告されてきたが、最近の研究により単子葉植物のイネとコムギの葉の老化に伴い、葉緑体の数が減少することが確かめられた。 本研究では、この現象の普遍性を検討するため, 双子葉植物の葉を用い実験を行った。シロザの葉片を2．5%グルタールアルデヒドで2時間固定後, 10mM EDTA（60℃, 3時間）で処理し, 軽く押しつぶして細胞を分散させてから光学顕微鏡で葉緑体を数えた。植物個体上部から10cmきざみで葉を採り計測を行うと, 柵状組織および海綿状組織の両者とも, 細胞当たりの葉緑体数は最上位の若い葉から下に向けて1度増加し, ついで次第に減少することが見出された。同時に測定した葉の光環境やクロロフィル含量等と関連させてこの結果を考察する。

## 1pD01

ベタイン合成酵素遺伝子を導入したトランスジェニックタバコの解析

中村敏英、石谷学、高倍鉄子（名古屋大・生物分子応答研究センター、農・生化学制御専攻）

ある種の高等植物では、塩ストレスを受けるとその細胞内にベタインを合成・蓄積するものが知られている。適合溶質であるベタインは、細胞内に高濃度蓄積しても代謝系の酵素活性を阻害しないことから、高塩濃度下における浸透圧調節を担う重要な物質であると考えられている。また in vitro の実験系では、ベタインには塩による酵素の失活を抑える効果があることが報告されている。

高等植物においてベタインは、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コリンモノオキシゲナーゼ（CMO）であり、最終段階はベタインアルデヒドデヒドロゲナーゼ（BADH）が触媒する。

もし耐塩性の低い植物でベタインを合成・蓄積させることができれば、その植物の耐塩性が高くなることが考えられる。そこで我々は、オオムギのBADH cDNA を導入したトランスジェニックタバコを作成した。BADHの発現・活性の高いトランスジェニックタバコを用いて解析を行ったところ、ストレスのない条件下ではベタインの蓄積は見られなかった。しかし、培地中にBADHの基質であるベタインアルデヒドを加えて根から与えたところ、葉においてベタインの蓄積が検出された。現在、耐塩性との関連について、さらに解析を進めている。

## 1pD02

大腸菌由来ベタイン合成系遺伝子のラン藻への導入とその発現

野村美加、高倍昭洋[1]、石谷学、高倍鉄子（名古屋大・生物分子応答研究センター、[1]名城大・理工・化学）

光合成生物は、浸透圧ストレスを受けると細胞内で適合溶質（Compatible Solute）を合成・蓄積し、浸透圧調節を行っている。適合溶質として知られているベタイン(グリシンベタイン)は大腸菌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。大腸菌においては比較的研究が進んでおり、ベタインは塩ストレス下においてコリンから2段階の酸化反応（コリン→ベタインアルデヒド→ベタイン）によって合成される。これらに関する遺伝子は既にクローニングされている。

そこで、ベタインを蓄積しない淡水性形質転換型ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC7942 へ大腸菌のベタイン合成系遺伝子を導入し、塩ストレス下におけるベタイン蓄積の生理学的意義について検討を行った。1mMコリン、200mM NaClを与えて生育させた結果、ベタイン合成系遺伝子を導入した形質転換株では、塩ストレス下で野生株に見られる黄化現象が抑制されていた。この時、形質転換株では、ベタインの蓄積がNMRにより確認された。酸素電極を用いて光化学系の部分活性を測定した結果、形質転換株ではコントロールに比べ塩による光化学系IIの活性阻害が見られなかったことから、ベタインがその活性を保護していることが強く示唆された。

## 1pD03

タバコ培養細胞の酸ストレスに対する応答反応

笹田直樹、山本洋子、松本英明 （岡山大・資生研）

酸ストレスはタバコ細胞（*Nicotiana tabacum* L. cv samsun）の増殖を阻害する。この際、形態的、生理的にいくつかの変化が認められた。細胞をpH 4.0及び、pH 5.5の改変MS培地で4日間培養した。その結果、pH 4.0では細胞分裂及び細胞伸長が抑制され、さらに液胞の小胞化が観察された。

次に細胞質のpH調節に関わりが深いと考えられる原形質膜の$H^+$-ATPase、液胞膜の$H^+$-ATPase及び$H^+$-PPase活性について検討した。いずれも酸ストレスにより比活性は低下したが、全活性は30-50%増加した。特に液胞膜の$H^+$-ATPaseと$H^+$-PPaseの場合、膜の小胞化による膜表面積の拡大が、全タンパク質量の増加と全活性の上昇に結びつくと考えられる。したがって液胞の小胞化は細胞質のpHの調節に関わっている可能性がある。

加えて、原形質膜及び液胞膜の$H^+$-ATPaseに対する阻害剤をin vivoで処理し、これらATPaseの酸ストレス下での生理機能について検討した結果についても報告する。

## 1pD04

タバコ懸濁培養細胞におけるアルミニウム毒性の定量的解析

山本洋子、力石早苗、張藝潔、松本英明（岡山大・資生研）

アルミニウム(Al)による増殖阻害について、特にAlの吸収量との関係に焦点をあて、タバコ懸濁培養細胞株 SL (*Nicotiana tabacum* L. cv Samsun)を用いて検討した。なお、増殖阻害の程度は、0 μM（コントロール）および種々の濃度のAlで一定時間処理した細胞を、増殖培地で一週間培養し、コントロール細胞の湿重量に対するAl処理細胞の湿重量の比（相対増殖率）で求めた。

対数増殖期の細胞において、

(1) Al処理開始後、10 時間前後の遅れの後に、Al吸収と増殖阻害が同時に開始し、時間とともに増加した。

(2) 培地中のAl濃度は、40 から 75 μMの閾値以上で始めて細胞へ吸収され、かつ増殖阻害効果を示した。

(3) Al吸収および増殖阻害は対数増殖期の細胞でみられ、定常期の細胞ではともに抑制された。

以上、上記 (1), (2), (3) の全てにおいて、Al吸収量とAl毒性との間には強い相関がみられた。特に(2)において、増殖阻害の程度は、培地中のAl濃度よりもAl吸収量との間に強い相関を示し、Al吸収量の増加に伴い対数的に阻害が増加する１ヒット曲線を示した。ヒット理論より求めた平均致死量から推定すると、細胞あたり1 x $10^{11}$コのAlが吸収された場合に増殖が阻害されると思われる。

## 1pD05

アルミニウム（Al）ストレスで誘導さるタバコ遺伝子のクローニング

江崎文一、山本洋子、松本英明（岡山大　資生研）

山本らはタバコ培養細胞をリン酸欠乏状態におくとその後のAl処理で一過性のAl耐性を示すことを明らかにし、リン酸欠乏処理によりAl耐性に関与する遺伝子の発現が誘導される可能性を示唆した（本学会 '93年度年会で報告）。今回は、まずAl処理やリン酸欠乏処理で発現誘導される遺伝子群の単離を試みた。

まず、リン酸欠乏処理（４日間）後、Al処理（100uM $AlCl_3$で20ｈ処理）した細胞から単離調製したpoly(A)$^+$-RNAを用いてcDNAライブラリーを構築した。その中から対数増殖期では誘導されず、リン酸欠乏処理後のAl処理で誘導がかかる様なクローンのスクリーニングを行なった。ノーザンハイブリの結果では、得られた3つのcDNAクローン（pAL111、139、141）はAl処理だけでなく、リン酸欠乏処理によっても誘導されていた。さらにpAL139の全塩基配列を決定したが、そこには9.70kDaのペプチドがコードされることが推定された。また、このクローンはゲノムDNAを用いたサザンハイブリでは、多コピーで存在していることが示唆された。

## 1pD06

カロース（β－1,3－グルカン）による花粉管生長評価法の確立とその応用

小西茂毅，大本実穂，惣田昱夫*（静岡大・農，*神奈川県環境科学センター）

花粉の発芽過程において，多量のカロースが細胞内で生成されることが知られている．そこで花粉管の生長評価法として新しくカロースの生成量を指標とした定量法の確立を試みた．

チャの花粉管は生長にともないカロースを生成し，発芽 20 時間後に最大となった．この時点での花粉管長とカロース生成量の変動係数は前者で 5.5％，後者で 8.3％と前者がやや優れていた．しかし生長途中では，カロース生成量での評価が優れていた．カロース生成量を指標とした方法は，従来法より定量性において優れていた．

本法の応用の一つとして，酸性ストレスの主因であるＡｌで阻害を与え，各種錯体形成物質を与えたところ，阻害が軽減され，定量的に示すことができた．また，酸性茶園土壌より単離された耐Ａｌ性バクテリアの細胞外分泌物質もＡｌ害を軽減した．

本法の利用により，迅速かつ定量的なストレス軽減物質の検索が可能となった．

## 1pD07

鉄欠乏オオムギ根で発現する遺伝子（*Ids3*）の性質

中西啓仁，坂口圭美，西澤直子，茅野充男，森　敏
（東京大・農・農化）

我々はオオムギの根から鉄欠乏条件下において強く発現するcDNAを７つ単離し，この内の４つ(*Ids1*～*Ids4*, *Ids*; Iron deficiency specific clones)の塩基配列を決定したことを昨年度の本年会で報告した．今回はその中の*Ids3*の性質について詳細を報告する．*Ids3*は*Ids2*と最もホモロジーが高く，また双方ともH6H，TOME8，pTOM13などとも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た．ノーザンハイブリダイゼーションおよび*in situ*ハイブリダイゼーションにより，*Ids3*は鉄欠乏オオムギの根の中心柱において発現が認められ，地上部や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かった．*Ids3*についてゲノミックDNAの全塩基配列を決定した．また*Ids3*は(-)Feばかりでなく，(-)Mnにおいても強く発現し，(-)Zn，(+)NaClにおいても弱く発現していた．

現在，gel retardation assay法を用いた「鉄欠乏」あるいは「根」特異的因子の存在について検討中であり，今後は遺伝子導入植物を作ることにより，各種環境ストレスあるいは組織特異性に関連した*cis*-elementを解析する予定である．

## 1pD08

**鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路の研究 III. イネ科植物中のニコチアナミンアミノ基転移酵素の存在**

金澤健二，樋口恭子，伏谷眞二[1]，西澤直子，茅野充男，森敏
（東京大．農．農化，[1]東北大．薬．）

鉄欠乏条件下のイネ科植物は，根から鉄キレーターであるムギネ酸類(MAs)を放出する．MAsの種類と分泌量には種間差があり，分泌量の多いものほど鉄欠乏耐性が大きいことが示されている．デオキシムギネ酸(DMA)はニコチアナミン(NA)から，アミノ基転移と還元の2段階で生合成される最初のMAsで，他のMAsの生合成の前駆体となるため，MAsを分泌するイネ科植物には一般にDMAの生合成活性が認められることが予想された．そこで，オオムギ，カラスムギ，イネ，ソルガム，トウモロコシの根を材料とし，DMA生合成の2段階反応のうち活性測定法の確立している前者の反応を触媒するニコチアナミンアミノ基転移酵素（NAAT）の活性を測定した．その結果，予想どおり全ての種類について酵素活性が検出され，その活性は鉄欠乏処理によって誘導されていた．また，鉄欠乏栽培したこれらの植物のMAsの分泌量の多寡は，オオムギ＞カラスムギ＞＞トウモロコシ＞ソルガム＞＞イネの順だったのに対しNAAT活性については，オオムギ＞カラスムギ＞ソルガム＞イネ＞トウモロコシの順であり，トウモロコシを除けばMAsの分泌量とNAAT活性の序列は一致した．このことは，NAAT遺伝子が，イネ科植物の鉄欠乏耐性に関与する可能性を強く示唆している．

## 1pD09

**鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路の研究IV. ニコチアナミン合成酵素の精製と性質**

樋口恭子、金澤健二，西澤直子、茅野充男、森敏
（東京大・農・農化）

イネ科植物は鉄欠乏条件下で鉄吸収のために根からムギネ酸類を分泌する．イネ科植物においてニコチアナミンはムギネ酸生合成の中間体である．ニコチアナミン合成酵素は根で発現し，いかなる生育時期においても鉄欠乏により誘導される．ムギネ酸はイネ科植物特有のものであるが，ニコチアナミンは植物界に広く分布し，双子葉植物では，鉄の代謝調節因子として働くと想像されているが，その機能については明らかでない．既に演者らはタバコ培養細胞を用いてin vivo，in vitroでニコチアナミン合成酵素活性を検出し，タバコでもイネ科植物と同じくニコチアナミンの前駆体がメチオニンであることを報告している．そこでタバコとトマトを用い，根と葉でのニコチアナミン合成活性の有無，鉄欠乏による誘導が起こるかどうかを調べた．タバコ，トマトの根では活性は非常に弱く，イネ科植物のような鉄欠乏による顕著な誘導は見られなかった．タバコの葉では活性が認められたが鉄欠乏による誘導は認められなかった．

一方，演者らは酵素活性の高い鉄欠乏大麦根から，ニコチアナミン合成酵素の精製を試みている．疎水クロマトグラフィー，ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー，分取SDS-PAGEにより精製を行い，ニコチアナミン合成酵素である可能性が高いペプチドを２次元電気泳動ゲル上で同定した．

## 1pD10

$^{1}$Ｈ－ＮＭＲによる植物体の水の動態

井上眞理*，賀来章輔（*九大・教養・生物）

植物の水分生理的研究では，従来，水やイオンの吸収・移動・蒸散など，植物体における水分の交換や平衡に関するものが主題とされ，これらの作用は水のマクロな性質に基づくものとして扱われてきた。 しかしＮＭＲ分光法を用いた研究によれば，生体系の水は単に反応を行うための媒質と見なすべきものではなくて，タンパク質などの生体高分子と水系のダイナミックな挙動は生命現象と密接に関係しているものと考えられる。 植物体内の水の状態は，主に組織含水量に影響されるが，演者らの１０年間にわたる結果では水プロトンＮＭＲ緩和時間(Ｔ1)で示される細胞内の水のミクロな動的状態は必ずしも含水量とは相関しない。むしろ植物の種，組織，器官の別によって特異的に異なるだけでなく，成長時期や季節の推移によっても変化し，また低温・高温・乾燥・塩その他種々の環境ストレスにも敏感に応答している。従って，「細胞における水の動的状態」という問題意識は，水分生理的研究に限らず，すべての生理現象の研究の根底に必須となっているように考えられる。

## 1pD11

水ストレスによって引き起こされる生長に伴った水ポテンシャル場の変動によって起こる細胞伸長阻害

野並　浩（愛媛大・農）

生長が盛んに起こっているダイズの茎において水源である導管と伸長細胞間には水ポテンシャル勾配が存在することが細胞レベルで明らかとなった(Plant Physiol. (1993) 102:13-19)。生長が盛んな茎では導管の水ポテンシャルがもっとも高く、表皮に近い細胞はもっとも低い水ポテンシャルを持っている。このような生長に伴った水ポテンシャル場が存在していて、水が導管から伸長細胞に流入している。

水ストレスが生長している植物体に与えられたとき、生長に伴った水ポテンシャル場の変動が起こり、細胞に水が流入しなくなったために生長が阻害されると考えられる。この仮定を検証するために、盛んに生長しているダイズの苗を乾いたバーミキュライトに移植することにより、生長を阻害させた後、根部にバーミキュライトの水ポテンシャルの絶対値と同等の大きさの正の圧力を根部にかけることにより、水を強制的に生長部位に再移動させた。このとき、阻害された生長が回復することが確認され、さらに、水ポテンシャル場の回復が確認された。細胞における水の透過性の計測から、ポテンシャル場を形成する要因となる抵抗は、導管の周りの小さい細胞に起因していると考えられた。

## 1pD12

### 大気汚染好性植物の育成
### - スクリーニング，選抜，遺伝子操作 -

森川弘道，諫山俊之，神　幸夫，田辺稔明[1]，村上邦睦[1]，松井邦夫[2]，藤田耕之助[3]（広島大・理・遺伝子科学，[1]日本製紙（株），[2]トヨタ自動車（株），[3]広島大・生物生産）

我々は大気汚染物質の一つである$NO_2$を好んで吸収代謝し，積極的に唯一の窒素源として利用する大気汚染好性植物の創製を目指している。

１）スクリーニング：これまでに野生植物５２種，栽培草本植物６１種及び木本植物７０種を含む約２００種の植物の$NO_2$の同化能力の測定を行った。本研究では高い$NO_2$の同化能力を持っているユーカリ属植物５０種（１種につき１０個体）について同能力の測定を行った。

２）選抜：ＥＭＳ処理で得られた*Arabidopsis thaliana*　硝酸還元酵素欠損株および野生株を，１日８時間（9:00-17:00）１ppm$NO_2$暴露，１６時間明期８時間暗期で選抜した。現在，１ppmの$NO_2$を窒素源として生育する個体が得られている。

３）遺伝子操作：ホウレンソウ亜硝酸還元酵素(NiR)由来cDNA，ビアラフォス耐性遺伝子を含むベクターをパーティクルガンを用いてシロイヌナズナ根組織に導入し，ビアラフォス存在下で選抜を行っている。

## 1pD13

### 好$NO_2$木本植物のスクリーニング(2)；環境汚染レベル$NO_2$浄化能評価

岡村幸治、松井邦夫、木谷重和、森川弘道[1]
（トヨタ自動車（株）、[1]広島大、理、遺伝子科学）

我々は植物による大気浄化を目的として、木本植物の大気汚染物質($NO_2$)の浄化能力の評価を行っている。1993年度の本大会において、4ppm(±1ppm)の$^{15}NO_2$ガスで植物体を暴露し、$NO_2$同化能力を比較した結果、最大の同化能力を示した樹種と最小の樹種で約40倍の種間差がみられた事を報告した。

本研究では環境汚染レベル(0.1ppm)の$^{15}NO_2$ガスで暴露試験を行い、常緑広葉樹、落葉広葉樹、針葉樹について街路樹として用いられている約140種の$NO_2$同化能力を測定した。暴露実験は新たに開発した$NO_2$暴露型植物育成チャンバーを用いて、$^{15}NO_2$濃度0.1ppm、$CO_2$濃度340ppm、30000Lx、25℃、相対湿度50％の条件下で8時間、重窒素標識の$NO_2$ガスを暴露して行った。このときに、全葉還元体窒素含量、重窒素濃度を測定して、同化された$^{15}NO_2$量を算出した。また個体当たりの蒸散量、全葉面積、全葉乾重も測定した。

その結果、4ppm暴露時に報告したユーカリ属、ポプラ属、マメ科植物の他に、サクラ属、プラタナス属などが高い同化能力を持つことが明らかになった。最大の同化能力を示した樹種と最小の樹種とでは、同化能力に約50倍の差がみられた。また、同化能力と蒸散量との関係について考察した。

## 1pD14

### シロイヌナズナ硝酸同化関連酵素遺伝子のＮＯ２暴露下での発現応答

入船浩平，田中俊憲，澤崎達也，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

我々は大気汚染好性植物（好$NO_2$ 植物）の創製を目指して研究を進めている。$NO_2$ は気孔を介して葉組織で吸収され、硝酸同化関連酵素によりアミノ酸へと同化されると考えられるが[1]、$NO_2$ 暴露下でのこれら硝酸同化酵素遺伝子の発現応答については明らかではない。そこで、$NO_2$ 暴露による硝酸還元酵素(NR)亜硝酸還元酵素(NiR) 遺伝子のmRNAレベルでの発現応答をノザン分析法を用いて解析した。材料には連続光下で８から10週間生育させたシロイヌナズナ（Arabidopsis thaliana ecotype C24）を用い、暴露条件は $NO_2$濃度 3±1 ppm、8時間暴露とした。

その結果は、$NO_2$ 暴露によりNR、NiR ともごく短時間（暴露後15～30分）にそのmRNA量は上昇した。しかし、その後（暴露後２時間以降）mRNA量は減少し暴露前よりも低下した。

1) Yoneyama, T. et al. (1978) Report of Special Research Project, NIES R-2:103-111.

## 1pD15

### サブトラクション法を用いたＮＯ２暴露により誘導される遺伝子の単離

澤崎達也，神　幸夫，入船浩平，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

我々は大気汚染物質であるＮＯ２を" 好んで" 吸収・同化し，かつＮＯ２を唯一の窒素源として生育できる植物，すなわちＮＯ２好性植物の創製を目指して研究を進めている。ＮＯ２同化に応答する遺伝子を得ることがこの研究の目的である。そこで，ＮＯ２暴露に応答する遺伝子をクローニングするため，シロイヌナズナ植物を用いサブトラクション法を試みた。

連続光下で生育させたシロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana* ecotype C24）植物を用い，ＮＯ２暴露していない植物体（－）とＮＯ２（５ppm）で１０分間暴露した植物体（＋）の茎葉からそれぞれpoly(A)$^+$ＲＮＡを抽出した後，λＺＡＰⅡベクターを用いてｃＤＮＡライブラリーを作成し，プラスミドｃＤＮＡライブラリーにトランスファーした。１０万個のクローンを含んだプラスミド（＋）ｃＤＮＡライブラリーからプラスミド（－）ｃＤＮＡライブラリーを差し引くことにより，１０８個のクローンを得た。現在それらのクローンについて３' 末端のシークエンスとノザン分析法を用いて解析中である。

# 1pE01

Plasma membrane から分離した，tubulin を含む顆粒による多糖合成

水野孝一　　〔大阪大・理・生物〕

アズキ芽生えの上胚軸から得た plasma membrane は主要構成タンパクの一つとして特徴的な tubulin を含んでいる．この膜に特徴的な tubulin は CHAPS により他のタンパクと共に可溶化されるが，そのままでは等電点電気泳動のゲルに入るタンパクは殆ど無い．SDS化すると tubulin は他のいくつかのタンパクと同様に所定の等電点まで到達するようになる．CHAPS により可溶化されたタンパクは Sepharose によるゲル濾過などで殆どのものは tubulin と共に一つのピークにのみ集中的に溶出される．この事実は膜の tubulin は単独で膜の lipid層に存在しているのではなくいくつかのタンパクからなる何か大きな粒子に組み込まれている可能性を示唆するものであった．negative staining により電子顕微鏡で観察すると多数のドーナツ型をした粒子が見られ，それらの直径はおよそ 30 nm であった．このような構造物は Hayashi らにより報告されているカロース合成酵素の形とよく似たものであると思われた．27°C で incubate してみると $Mg^{2+}$ とUDP-glucose を含むものでは反応液が白濁し，粘性も高くなり多糖類と思われる物質の合成が見られた．反応終了後 buffer で数回洗った後，2 M NaOH 溶液を加えても反応生成物は溶解せず，さらに 100°C で 2 時間の加熱では部分的に溶解したが一部は残留した．現在この生成物の同定を試みているがこのような多糖類を合成する粒子に tubulin が含まれていることは cortical microtubules とセルロース合成との関係を考える上で興味深い事実であると思われる．

# 1pE02

タバコ培養細胞BY-2の核表面ＭＴＯＣに存在する50 kDaタンパク質について

武居　郁、水野　孝一、（大阪大・理・生物）

動物細胞ではcentrosome に微小管をオーガナイズするためのMTOCが存在していることが知られている．しかしながら高等植物細胞にはcentrosome は存在せず代わりに核表面が似たような機能を果たしていると考えられているが,その実体についてはほとんどわかっていない．

すでに報告したようにタバコ培養細胞BY-2の核表面あるいは核膜破砕物中の特定の粒子が MTOCとしての活性を示すが，そこに主要構成成分の一つとして存在する50 kDaタンパク質は通常のチューブリンとは異なるが抗α-チューブリン抗体とは極めて弱いが交差反応を示すことからチューブリン類似タンパク質であると考えられ，γ-チューブリンとの類似性からもその機能には興味が持たれる．特異的な抗体作成のため50 kDaタンパク質を部分的に精製した．核破砕液をsucrose 濃度勾配遠心にかける時，$Mg^{2+}$が存在しない場合には大部分の50 kDaタンパク質は70%と40%の境界面にきたが，$Mg^{2+}$が存在する場合にはもっと低濃度 sucrose 分画へ移動した．各々の50 kDaを含む分画で微小管を形成させると，高濃度 sucrose 分画からのサンプルではひとつの粒子から放射状に多くの微小管束が形成されるのに対して，低濃度 sucrose 分画からのサンプルでは大きな 粒子は見られず微小管束の数も少なかった．このことから$Mg^{2+}$は，MTOC の集合を阻害したりあるいは核膜からの dissociation を引き起こすのではないかと考えられ，実際に細胞内でも MTOC の挙動が $Mg^{2+}$によりコントロールされている可能性が示唆される．また細胞周期のステージに応じて，核膜における50 kDaタンパク質の存在量が大きく変動することから核から生える微小管の変化は，MTOC 中の50 kDaタンパク質の量と相関があるのではないかと考えられる．今後は抗体を作成し，より詳細な解析を進めるつもりである．

# 1pE03

タバコ懸濁培養細胞ＢＹ－２における表層微小管構築を担うタンパク質の解析

熊谷　史、高橋　陽介、馳澤　盛一郎、長田　敏行（東京大・理学系研究科）

植物細胞の形態の決定に表層微小管が重要な役割を果たしているという認識は、広く定着してきている。しかし、表層微小管の起源とその構築の機構に関してはいまだ不明な点が多く、解明が待たれている。

我々は、高度に同調させたタバコ懸濁培養細胞ＢＹ－２におけるＭ・Ｇ１期の境界での変化を間接蛍光抗体法で観察し、表層微小管構築の理解を深めることができた。今回は、これまでの観察結果を統括的に報告する。

一方、我々の過去の実験では、ウニ卵において微小管重合中心（ＭＴＯＣ）の一員として同定されている５１ｋＤａのタンパク質に相当する４９ｋＤａのタンパク質がＢＹ－２細胞にも存在し、微小管の構築に関わっていることが示唆されている。そこでこのタンパク質の分子的特徴を明らかにするために、ウニ５１ｋＤａタンパク質に対する抗体を用いてＢＹ－２細胞のｃＤＮＡライブラリーを探索したところ、真核生物におけるタンパク質合成の伸長因子であるＥＦ１－αと高いホモロジーを持つクローンが単離されてきた。

これらの結果をもとに、表層微小管構築の機構とその意義について考察する。

# 1pE04

ミトコンドリアの分裂装置（MDリング）

黒岩常祥[1]、鈴木邦律[1]、黒岩晴子[2]（[1]東大・大学院理学系研究科、植物、[2]共立女子短大、生物）

真核植物細胞内において、ゲノム(DNA)は、細胞核、葉緑体核、ミトコンドリア核の３核に存在する。従って細胞増殖のしくみを研究するには、この３核の分裂増殖様式を同時に解析する必要がある。細胞分裂は、２つの事象、即ち細胞核分裂と細胞質分裂に分けられる。細胞核分裂は、１９５２年にメイジャと団によって、分裂装置である紡錘体によって行なわれることが発見された。また細胞質分裂に関しては、１９６８年シュレイダーがアクチン繊維の束からなる収縮リングによって行なわれることを見いだした。しかしながらオルガネラの分裂増殖機構に関する研究はほとんどなされていなかった。　著者らは１９７３年に粘菌において初めてミトコンドリア核を,そして１９７８年にミトコンドリアの核分裂を、また１９８１年に葉緑体の核分裂を観察した。その後細胞と分子のレベルで研究を行ない、最近それらの核分裂の分子機構を報告している（黒岩１９９１、１９９３；佐藤ら１９９３）。一方葉緑体全体の分裂である色素体キネシス（細胞の細胞質分裂に相当）を起こす分裂装置（色素体分裂リング）は１９８６年に初めて三田らによって報告され、現在ではほとんどの真核植物に共通の構造であることが分かってきている。しかしながら、動物・植物を問わず、真核生物細胞に共通の構造体であるミトコンドリアの分裂装置に関しては、多くの期待や検索にもかかわらず、依然として見いだされなかった。１９９３年に我々は 、ついに Cyanidioschizon merolae(知られている限り最も細胞核ゲノムの小さい真核生物；8Mbp)で、ミトコンドリアの分裂装置（MDリングと命名）を発見した。ゲノムサイズの小さい生物である故に最初に観察された理由や、MDリングの構造と機能などに関して報告する。

## 1pE05

タバコ培養細胞のオルガネラ DNA ポリメラーゼ

佐藤久美、福田裕穂（東北大・理・生物）

私たちはタバコ培養細胞株 BY2 の培養初期に急激におきるオルガネラ DNA 合成の仕組みを解析するために、オルガネラの DNA ポリメラーゼに着目した。まずオルガネラ DNA ポリメラーゼ活性をみるために、KCl 濃度依存性でアフィディコリン(APC)非感受性の DNA ポリメラーゼ活性を調べたところ、この活性上昇はオルガネラ DNA 合成の上昇とほぼ同じパターンを示した。このことは培養初期のオルガネラ DNA 合成の上昇は DNA ポリメラーゼ活性上昇とカップルしていることを示している。

さらに詳しく解析するためにミトコンドリアと色素体の DNA ポリメラーゼの精製を試みた。4 日目の細胞 300 g からミトコンドリアを単離し、この抽出液を DEAE cellulose, phospho-cellulose, Affi-Prep Heparin, Superose12 の順にカラムクロマトフィーにかけ、DNA ポリメラーゼを部分精製した。

このミトコンドリア DNA ポリメラーゼの性質は次のようであった。① APC と araCTP には耐性で、 NEM と ddTTP で阻害される。② KCl の至適濃度は 150-200 mM 、③ $Mn^{2+}$、$Mg^{2+}$ 要求性で、 ④ 至適 pH は 7.5 である。⑤ 鋳型として、 $Mn^{2+}$ 存在下では poly(A)(dT)$_{12-18}$、 $Mg^{2+}$ 存在下では poly(dA)(dT)$_{12-18}$ が有効である。至適 pH 以外は今まで得られている DNA ポリメラーゼγの性質と類似していることが分かった。さらに現在色素体の DNA ポリメラーゼについて同様の解析を進めており、ミトコンドリア DNA ポリメラーゼの性質と比較するとともに、今後これら DNA ポリメラーゼの抗体を作製し、細胞内局在性を確認したいと考えている。

## 1pE06

抗DNA抗体-免疫電顕法による同調培養ユーグレナの巨大ミトコンドリアの観察

江原友子，長舩哲齊，長谷榮二[1]（東京医大・微生物，[1]帝京大・医・化学）

先にクラミドモナス、ユーグレナの cell cycle 中、塊状でマトリクスが拡がった"巨大ミトコンドリア"が一時的に形成されることを見いだした (Plant Cell Physiol., 13:211, 1972, 16:313, 1975)。

今回は抗DNAモノクローナル抗体－免疫電顕法によりミトコンドリアDNA分子を観察した。 紐状、網目状のミトコンドリアにおけるDNA分子の配置は個々のミトコンドリアのマトリクスに分散して配置されている。 一方、個々のミトコンドリアが相互に融合して、巨大ミトコンドリアが形成されるステージにおけるDNAの配置は巨大なマトリクスに一時的に集合し、相互に会合を行う可能性が示唆された。ユーグレナ、クラミドモナスのミトコンドリアDNA分子はcell cycle中でダイナミックな変化を示すことが抗DNA抗体－免疫電顕法で判った。

巨大ミトコンドリアが一時的に形成される現象はcell cycle中でミトコンドリアDNA分子が一時的に集合する、そのような"場"、"機会"を提供している可能性が考えられる。

## 1pE07

ｼﾛｲﾇﾅｽﾞﾅ茎頂におけるｵﾙｶﾞﾈﾗDNA量の増減と転写産物量の変化

藤江誠、河野重行[1]、黒岩晴子[2]、黒岩常祥（東大・理・植物、[1]東大・理・広域理学、[2]共立女子短大・生物）

茎頂の未分化細胞が葉に発達する過程で、色素体とﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱのDNAは、初期に特異的に増幅されその後細胞の分裂に伴って分配される。この特異的増幅はまず茎頂のﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱで起こり、次いで葉原基の細胞の色素体で起こる。このｵﾙｶﾞﾈﾗDNAの特異的増幅の機構を解析するために、ｼﾛｲﾇﾅｽﾞﾅの種子を暗黒下で発芽させ、親水性樹脂ﾃｸﾉﾋﾞｯﾄ7100に包埋してから切片を作成し、DAPI/DiOC$_6$で染色し蛍光顕微鏡法によりﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱと色素体の変化を観察した。暗黒下の葉肉細胞では直径3～7μmのｴﾁｵﾌﾟﾗｽﾄが観察された。ｴﾁｵﾌﾟﾗｽﾄのDNA量は100～500Tでﾌﾟﾛﾌﾟﾗｽﾁﾄﾞ(15～40T)より多くDNA量は異なっていた。また、DNAは包膜にそって存在していた。ミトコンドリアは、平均1.3TのDNAを含み分化した葉肉細胞のものと似ていた。これはﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱDNAの増幅・分配が光合成よりも細胞の増殖に強く関係していることを示唆している。こうしたｵﾙｶﾞﾈﾗDNAの特異的増幅は、rRNAを含む転写産物を発達中のｵﾙｶﾞﾈﾗに大量に供給するのに役立っている可能性がある。個々のｵﾙｶﾞﾈﾗ内のRNAを定量するために、高解像度の*in situ*ﾊｲﾌﾞﾘﾀﾞｲｾﾞｰｼｮﾝ法を新たに開発した。試料をﾃｸﾉﾋﾞｯﾄ樹脂に包埋し、切片を作製し、ﾊｲﾌﾞﾘﾀﾞｲｽﾞしたﾌﾟﾛｰﾌﾞを間接蛍光抗体法で検出することにより、個々のｵﾙｶﾞﾈﾗ内の転写産物を認識することが十分可能になった。現在、この方法により発生の各段階におけるｵﾙｶﾞﾈﾗDNA量とｵﾙｶﾞﾈﾗの転写産物量の相関を調べている。

## 1pE08

高等植物の細胞質分裂におけるゴルジ体の役割に関するテクノビット包埋蛍光染色法による解析

河津維・河野重行・黒岩常祥（東大・理・植物）

細胞分裂後期にゴルジ体が分裂面周辺に集合し、小胞を放出することが電顕観察されており、初期細胞板の形成に重要な役割を果たしているとされている。しかし、分裂各時期におけるゴルジ体の機能変化を経時的に解析するためには、まず、組織、細胞全体でゴルジ体の動態を観察できる新しい光学顕微鏡法の開発が必要である。そこで、テクノビット8100包埋した試料の薄切片をDNA特異的蛍光色素DAPIと膜特異的蛍光色素DiOC$_6$で二重染色し、それぞれの蛍光顕微鏡像をカラーイメージプロセッサーで処理する方法を開発した。DAPI像とDiOC$_6$像を合成・差分し、DNAを持たないゴルジ体像だけを選択的に高解像で抽出した。この方法とアフィディコリンで有糸分裂周期を同調したタバコ培養細胞（Nicotiana tabacum L.）BY-2を用いて、有糸分裂各期におけるゴルジ体の分布とその動態を解析した。その結果、ゴルジ体は分裂後期には分裂面の周辺部に集まっておらず細胞全体に分布しており、分裂終期になって初めて成熟しつつある細胞板付近に局在することがわかった。この局在はゴルジ体が細胞板の成熟に関与している可能性を示唆している。細胞板生成阻害剤として知られるカフェインで処理した分裂終期の細胞では、部分的に未成熟の細胞板を持つものが多く見られた。未成熟の細胞板周辺にはゴルジ体が集まっておらず、一方成熟した細胞板周辺には多くのゴルジ体が集まっており、ゴルジ体の局在と細胞板の成熟の関与が示唆された。

## 1pE09

ヤエナリ核膜の４９ｋＤ糖タンパク質について

大平万里、前島正義　（北海道大学・低温科学研究所）

遺伝情報は核膜により核内に区画化され、RNA,タンパク質、セカンドメッセンジャー等は核膜孔を通じて選択的に輸送される。植物細胞の場合、核膜の構造形成、輸送機能に関する知見は少ない。我々は核膜の分子レベルでの理解を目的に核膜構成タンパク質の解析を進めている（Plant Cell Physiol.,1994 in press)。今回、concanavalin A (ConA) と反応する糖タンパクの中から比較的量の多い49kDに焦点をあて、いくつかの性質を分析した。

ヤエナリの実生の胚軸を材料とし、Percoll 等を用いて核を単離し、さらに核膜画分を調整した。ここに含まれる49kDタンパク質はConAと強く反応し、ハリエニシダ(UEA-I)、ダイズ(SBA)、ピーナッツ(PNA) のレクチンとは反応しなかった。したがって、49kDはAsp 結合型の高マンノース型糖タンパク質と推定される。49kD糖タンパク質は2Mの KCl処理により核膜から完全に遊離するが、0.5M以下のKCl では全く遊離しない。核膜から遊離した49kD糖タンパク質を非変性条件下でポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけると、他のタンパク質を含む150 ～220kD の大きな複合体として挙動した。これらの結果は49kD糖タンパク質が複合体として核膜に静電的に強く結合している可能性を示唆している。49kDタンパク質の詳細な分布を解析する目的で、電気泳動的に精製した標品を用いて抗体を調整した。免疫ブロットの結果、少なくとも、細胞膜、ER膜、ミトコンドリア膜、液胞膜のいずれにも49kDタンパク質は検出されず、本タンパク質が核膜に特異的に局在していることが確認できた。今後、この49kD糖タンパク質の生理的変動組織特異性についても検討を進めたい。

## 1pE10

PROPERTIES OF THE NUCLEI IN PROTONEMATA OF *ADIANTUM CAPILLUS-VENERIS* AFTER LONGTERM BASIPETAL CENTRIFUGATION

Christian WUNSCH, Masamitsu WADA, Dept. Biol., Tokyo Metropolityan Univ., Hachioji 192-03

Longterm basipetal centrifugation (up to 3 h; ≈ 2000 x *g*) caused several dramatic effects on the interphase nuclei in red-light-grown single-celled protonemata of *Adiantum capillus-veneris*. Besides dislocation and morphological deformation, the disappearance of the nucleoli and the protrusion of a long and very thin thread-like structure at the basal pole of the nuclei were very prominent phenomena, when the protonemal cells were fixed and stained with DAPI. The great majority of the cells underwent division within five days after basipetal centrifugation, if subsequently irradiated with continuous white light. Prior to cell division, a reformation of the nucleoli as well as the removal of the extranuclear DNA-threads took place. The rearrangement of the nuclear interior, and further properties of the DNA-thread and its fate after centrifugation are now being investigated in detail.

Results obtained from these experiments may contribute to a deeper understanding of the intranuclear dynamics and the process of cell division itself.

## 1pE11

原始紅藻類のオルガネラゲノムの解析

太田にじ[1]、黒岩常祥[2]（[1]早大・人間科学、[2]東大・理・植物）

真核生物の起源と進化を細胞内共生の観点から明らかにするためには、最も原始的であると考えられる生物を探し、そのオルガネラゲノムを解析して他の生物と比較することが有効である。原始紅藻類に属する *Cyanidium caldarium* は、非常に単純な細胞体制をした生物で、細胞核 DNA 含量は約13 Mbp と少なく、ラン藻と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など原始的な特徴を有している。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。物理的地図を作成したところ、*C. caldarium* の色素体ゲノムは150 kbp の環状DNAで、約 5 kbp の逆位反復配列 (IR) を持つことがわかった。また、この色素体ゲノムには、色素体内で機能するが緑色植物では細胞核コードであった２つの遺伝子、*trxM* (チオレドキシン *m*)、*trpA*(トリプトファン合成酵素αサブユニット) がコードされていることが初めて見つかった。*trpA* が色素体ゲノムにコードされている一方で、*trpB* は細胞核にコードされていた。*C. caldarium* の色素体ゲノムが他の植物の色素体ゲノムとほぼ同じサイズで、IR を持つことから祖先型ラン藻が共生後に多量の遺伝子を消失し、IRを形成したことが推測される。この中に、*trpB*が含まれる。その後、さらに *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。

以上のように、色素体ゲノムは紅藻類と高等植物とでは類似していた。そこで、ミトコンドリアゲノムについても知見を得るために、*C.caldarium*と同様に原始紅藻類に属する *Cyanidioschyzon merolae* のミトコンドリアゲノムの物理的地図を作成した。このゲノムは約32 kbp の単一の環状DNAであった。高等植物のミトコンドリアゲノムは数百kbpに上るマスターサークルを持つマルチパータイトであることから、紅藻類のミトコンドリアゲノムと高等植物のミトコンドリアゲノムは構成が大きく異なることが示された。

## 1pE12

ｸﾗﾐﾄﾞﾓﾅｽの接合直後に発現される遺伝子群と葉緑体の母性遺伝との相関についての解析

内田英伸，河津維，黒岩晴子[1]，河野重行，黒岩常祥　（東大・大学院理学系研究科，植物，[1]共立女子短大，生物）

葉緑体遺伝子の母性遺伝は被子植物から単細胞藻類まで多くの植物でみられる普遍的な現象である．ｸﾗﾐﾄﾞﾓﾅｽの葉緑体の母性遺伝は雄由来葉緑体核の選択的消化によって起こる．我々は種々の阻害剤およびUVを用いた細胞生理学的実験を行なった結果にもとずいて，接合開始後の10分以内に発現する遺伝子が葉緑体核の選択的消化を引き起していると考えている．この遺伝子を同定するために配偶子と接合開始後10分の接合子のcDNAのﾃﾞｨﾌｧﾚﾝｼｬﾙｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞを行なった．得られた5つのｸﾛｰﾝに対応するmRNAの蓄積量を接合開始後経時的に調べたところ，検出量のﾋﾟｰｸが接合開始後30分にあるものと2時間のものの2ｸﾞﾙｰﾌﾟがあることがわかった．30分にﾋﾟｰｸを持つ遺伝子の1つzys1は遺伝子ﾌｧﾐﾘｰを構成しており，非常にﾎﾓﾛｼﾞｰの高いORFをもったzys1Aとzys1Bがあった．zys1B遺伝子のｹﾞﾉﾐｯｸｸﾛｰﾝの塩基配列を調べたところ，ORFの領域は2つのｲﾝﾄﾛﾝにより分断されていた．そこでzys1BのcDNAｸﾛｰﾝを発現ﾍﾞｸﾀｰpMALcにｸﾛｰﾆﾝｸﾞしﾏﾙﾄｰｽﾊﾞｲﾝﾃﾞｨﾝｸﾞﾀﾝﾊﾟｸ質との融合ﾀﾝﾊﾟｸ質を合成し，抗zys1B抗体を作製した．接合過程におけるzys1Bﾀﾝﾊﾟｸ質の蓄積ﾊﾟﾀｰﾝとUVﾊﾟﾙｽによるこのﾀﾝﾊﾟｸ質の蓄積への効果を調べた結果，この遺伝子は母性遺伝を引き起こす過程に関与しているものと考えられた．

## 1pE13

タバコ培養細胞から単離した原色素体核のin vitro DNA合成能

酒井敦、鈴木健史、河野重行、黒岩常祥（東大・理・植）

タバコ培養細胞BY-2の培養過程における原色素体DNA合成能の変化を解析した。DAPI-蛍光顕微鏡観察の結果、原色素体核あたりのDNA含量は植え継ぎ後24時間以内に3から7倍に増加し、その後減少していくことがわかった。in vivoにおける色素体DNAの合成活性の変化を調べるため、定量サザンハイブリダイゼーションにより色素体DNAの総量の増加曲線を描き、各時期における色素体DNAの増加率を求めた。その結果、色素体DNAの増加率は植え継ぎ後24時間以内に5から6倍に上昇し、それ以降は減少していくことが明らかになった。これらの結果は原色素体DNAの合成が植え継ぎ直後に著しく活性化されることを示している。この現象をさらに解析するため、単離色素体核を用いたin vitro DNA合成系を開発した。単離色素体核を適当な条件下で基質とともにインキュベートすると、色素体核に内在するDNAポリメラーゼの働きにより、色素体DNAを鋳型としてDNAが合成される。この活性がin vivoにおける色素体DNAの複製機能を反映したものであることを確認するため、BY-2を新鮮培地に植え継いだ後、時間を追って色素体核を単離し、DNA合成活性の変化を調べた。その結果、植え継ぎ後24時間以内の細胞から単離した色素体核のみが顕著に高いDNA合成能を示し、単離色素体核のin vitro DNA合成能の変化はin vivoのそれと一致することがわかった。これは、単離色素体核を用いたin vitro DNA合成系が、色素体DNAの複製制御機構の解析に有用であることを示している。

## 1pE14

超微量組織スロットブロット法による根端分裂組織における選択的オルガネラDNA合成の解析とその生理学的意義

鈴木健史，酒井敦，河野重行，黒岩常祥（東大・理・植物）

根端分裂組織では細胞増殖に先立ち，細胞核DNAの複製に先行してオルガネラDNAの選択的な合成が起こり，細胞内のオルガネラDNA量のレベルが数倍に上昇することを見いだしている．超微量組織スロットブロット法を用い，イネやエンドウ等の根端の極微量組織の細胞核とオルガネラのDNA量比とDNA合成量比を測定し，このような増殖様式が植物細胞に一般的にみられる現象であることを確かめた．植物細胞の増殖モデルとしてタバコ培養細胞系BY-2を用い，この現象の生理学的意義を解析した．BY-2は一週間毎に植え継ぐことによって約50倍に増殖するが，この増殖はナリジキシン酸でオルガネラDNAの合成を阻害すると完全に停止した．これはオルガネラDNA合成が細胞増殖の必要条件であることを示している．オルガネラDNAレベルの上昇が細胞増殖能へおよぼす影響を定量的に調べるために，アフィディコリンで細胞核のDNA合成を阻害し，オルガネラのDNA合成のみを行わせ，様々なオルガネラDNAレベルのBY-2を準備した．それらをナリジキシン酸を添加した培地へ植え継ぎ，新たなオルガネラDNA合成を阻害した状態での細胞増殖率を調べた．その結果，細胞はオルガネラDNAレベルに応じて増殖し，オルガネラDNAレベルと細胞増殖率との間に強い相関がみられた．これは，細胞増殖に先行する選択的オルガネラDNA合成とオルガネラDNAレベルの上昇が細胞の増殖能を規定していることを示している．

## 1pF01

**ヤエナリ（*Vigna radiata* L.）胚軸より単離した液胞膜のバナジン酸感受性ATPaseについて**

山西弘恭、笠毛邦弘[1]、加藤忠司
（農水省東北農業試験場、[1]農水省食総研）

従来より、液胞膜画分に検出されるバナジン酸感受性ATPaseは原形質膜の混入によるものであろうと推定されてきた。ところが、液胞膜上にバナジン酸感受性ATPaseが存在することが最近報告された。そこで、液胞膜上のバナジン酸感受性ATPaseの存在を確認するため、ヤエナリ胚軸から純度の高い液胞膜を単離し、ATP加水分解活性および$H^+$輸送活性について、様々な阻害剤の影響を調べたので報告する。液胞膜小胞はショ糖密度浮遊遠心法を用いて単離した。ATP加水分解活性は酵素反応の結果、ATPから遊離した無機リンを定量して測定した。$H^+$輸送活性は、キナクリンの蛍光消光法によって測定した。$H^+$輸送活性は10μM NEM, 50mM $KNO_3$, 10nMバフィロマイシンで完全に阻害されたが、バナジン酸では全く阻害されなかった。このことから、原形質膜の混入は極めて少ないと判断された。一方、ATP加水分解活性は100μMバナジン酸で約40%阻害され、50mM $KNO_3$では50%阻害された。これらの事実より、単離した液胞膜画分は、硝酸感受性・バナジン酸非感受性で$H^+$輸送活性を持つATPaseと、バナジン酸感受性で、$H^+$輸送活性を持たないATPaseが存在すると考えられる。

## 1pF02

塩ストレス感受性の異なるイネ培養細胞の液胞膜$H^+$-PPaseにおよぼす塩ストレスの影響

榊原祥清、鈴村麻理子[1]、笠毛邦弘（農水省食総研、[1]日本女子大・家政）

植物の塩ストレスに対する耐性に、液胞のプロトン輸送系が関与することが報告されている。我々はこれまで、モヤシマメの根を用い、その細胞の液胞膜ピロフォスファターゼ（PPase）の活性が高濃度の塩処理で著しく阻害されることを報告した。そこで今回は、単離した塩ストレス感受性の異なるイネ（*Oryza sativa* L.）培養細胞を用い、塩ストレスと液胞膜PPaseとの相関について解析したので報告する。

材料として、我々が単離したイネ培養細胞のうち、塩ストレスに対して強いK-1（cv. Nipponbare）株と弱いK-13（cv. Boro）株を用いた。液体培地で6日間培養したのち、塩処理として100mM NaCl存在下で4時間から4日間培養を行った。それらからデキストラン濃度勾配法により液胞膜小胞を単離した。PPase活性はピロリン酸の加水分解による無機リン酸の生成量によって、プロトン輸送能はキナクリンの蛍光消光の経時的変化によって測定した。

その結果、K-13株の細胞は塩処理後4時間でPPase活性ならびにピロリン酸依存のプロトン輸送能が低下し始めたのに対し、K-1株ではいずれもほとんど阻害されなかった。さらに、これらの株における液胞膜$H^+$-PPaseの遺伝子発現についても検討を行っている。

## 1pF03

低温処理による低温感受性イネ細胞の液胞膜におけるＡＴＰ依存プロトン輸送低下の機構解明
笠毛邦弘（農水省・食総研・分子情報解析研）

液胞膜のATP依存プロトン輸送はNativeな液胞膜小胞内で低温処理によって著しく低下することを著者らは報告している。今回はこの低下がどのようなしくみでおこるかを検討したので報告したい。

材料は耐冷性の強い品種としてＫ－１株（日本晴）と弱い株としてＫ－１３（ボロ）を主として用いた。これらから得た培養細胞を５℃で２日～６日間低温処理後デキストランの密度勾配法で液胞膜小胞を得た。また、ATPaseは液胞膜からDOCとOGで可溶化された。可溶化されたATPaseとリポゾームとの再構成膜の構築はDOC除去法で行った。

Ｋ－１３の培養細胞を５℃で低温処理後得られたNativeな液胞小膜でのATP依存プロトン輸送は未処理から得たものに比べ著しく阻害された。しかしＫ－１細胞から得られたものではほとんど阻害は見られなかった。また低温処理されたＫ－１３細胞から得られた液胞膜小胞から可溶化したATPaseをアゾレクチンリポゾームに取り込んだ再構成小胞では未処理のそれに比べATP依存プロトン輸送はほとんど阻害されていないことが判明した。また低温処理することによってＫ－１３細胞の液胞膜はリン脂質を構成する不飽和脂肪酸が著しく増大した。また、不飽和脂肪酸の増大は液胞膜$H^+$-ATPaseにに依存するプロトン輸送を著しく低下させた。

これらのことから低温耐性の弱い細胞の低温処理による液胞膜におけるATP依存プロトン輸送の低下は低温が直接ATPase分子に作用するのではなくむしろ脂質を介して作用すると思われる。

## 1pF04

**オオムギ根原形質膜小胞の$H^+$輸送活性に対するイオン輸送体阻害剤の効果**

<u>山下耕生</u>、山本洋子、松本英明　　（岡山大・資生研）

膜小胞を用いた$H^+$輸送活性の測定には、$H^+$-ATPaseが形成したプラスの膜電位を打ち消すアニオンの輸送が必要であると一般に考えられている。このことはすなわち、$H^+$輸送活性はアニオン輸送活性を反映しているものと考えられる。そこで本研究ではオオムギ根原形質膜小胞を用い、アニオン輸送体の阻害剤を検索するために、$H^+$輸送活性に対するイオン輸送体阻害剤の効果を検討してみた。

阻害剤として、アニオン輸送体の阻害剤（DIDS、A-9-C、NIF、$Zn^{2+}$、PGO）とカチオン輸送体の阻害剤（TEA-Cl）を選んだ。また$H^+$輸送活性は、KCl存在下におけるキナクリンのクエンチングで測定した。最初に原形質膜$H^+$-ATPaseに対する阻害剤の効果をみたところ、A-9-C、NIF、TEA-Clはほとんど阻害しないことがわかった。次にこれらの阻害剤を用いて、$H^+$輸送活性に対する効果をみたところ、NIFのみが阻害することがわかった。このNIFによる阻害は、KClをBTP-Cl及び$KNO_3$に代えて測定しても認められた。以上の結果からNIFは原形質膜小胞におけるアニオン輸送体の阻害剤であると考えられる。

## 1pF05

**SEPARATION AND PURIFICATION OF GUARD CELL PROTOPLASTS FROM ADAXIAL EPIDERMIS OF *Vicia faba* LEAVES.**

<u>Chang-Hyo GOH</u>[1], Tatsuo OKU[1] and Ken-Ichiro SHIMAZAKI[2]
[1]Biophys. Lab., Dept. Forestry, Fac. Agr., Kyushu Univ., Fukuoka 812 ; [2]Biol. Lab., Coll. of Gen. Edu., Kyushu Univ., Fukuoka 810

Guard-cell protoplasts were isolated from adaxial epidermis of *Vicia faba* with cellulase digestion and discontinuous Percoll density gradient centrifugation. Adaxial epidermes of *Vicia* were separated mechanically by homogenization of the leaves devoid of abaxial epidermis according to the method by Kruse *et al.*(1989) with slight modifications. Preparations obtained by this method yielded about 3 x $10^4$ adaxial guard-cell protoplasts (DGCPs)/ leaflet(≦0.04 % mesophyll fragments on a cell basis), and no epidermal, mesophyll cells. Isolated DGCPs hydrolyzed fluorescein diacetate, suggesting that the cells were viable. Average sizes of the DGCPs and those of abaxial guard-cell protoplasts (BGCPs) were 16.30 and 16.92 μm in diameter, respectively. Ratios of Chl *a/b* were 3.05 for DGCP and 2.85 for BGCP. Contents of Chl were 0.8 and 1.0 % in DGCP and BGCP, respectively, on soluble protein basis. Flavonoid content estimated by the absorbance around 350 nm was 1.8 times higher in DGCP than in BGCP on Chl basis, suggesting that DGCP could be more resistant to UV-B radiation than BGCP. DGCPs increased their volume by 70 % by incubation with fusicoccin (10 μM) for 65 min, indicating that DGCP had an active plasma membrane proton pump. DGCP and BGCP showed almost similar profiles of protein, but enrichment of 21 KD protein was found in BGCP. Other physiological and biochemical data will be presented.

Kruse,T., Tallman, G. and Zeiger, E. (1989) *Plant Physiol.* **90**, 1382-1386

## 1pF06

気孔孔辺細胞ミクロソームにおけるバナジン酸感受性プロトン輸送活性に対する $Ca^{2+}$ の影響

<u>木下俊則</u>、西村光雄、島崎研一郎[1]　（九州大・理・生物、[1]九州大・教養・生物）

青色光に依存した気孔開孔は、孔辺細胞原形質膜に存在するプロトンポンプが活性化されることにより引き起こされる。しかしながら、青色光がどのようにプロトンポンプを活性化するのか、その分子機構は不明の部分が多い。そこで、本研究ではソラマメ（*Vicia faba* L.）葉孔辺細胞プロトプラストより単離したミクロソームを用いて、プロトンポンプの実体とされる原形質膜 $H^+$-ATPase のプロトン輸送活性の調節機構について調べた。　ミクロソームにおけるプロトンの輸送はアクリジンオレンジを用いた分光的方法で測定を行なった。孔辺細胞ミクロソームより得られるプロトン輸送活性は約 70% がバナジン酸感受性であり、これは原形質膜 $H^+$-ATPase 由来の活性と思われる。プロトン輸送活性に対する生理的濃度範囲の $Ca^{2+}$ の影響を調べたところ、0.01 μM $Ca^{2+}$ の場合を 100% とした時 0.1 μM で 92%、1 μM で 32%、10 μM で 26% となり、$Ca^{2+}$ 濃度が 0.1 μM から 1 μM に上昇することによりプロトン輸送活性が顕著に阻害された。Iso 値は約 0.5 μM $Ca^{2+}$ であった。この $Ca^{2+}$ によるプロトン輸送活性の阻害は、プロテイン・キナーゼの阻害剤 k-252a を添加しても変化しないことから、$Ca^{2+}$ 依存性の蛋白質リン酸化を介さない阻害と思われる。また、プロトンポンプを活性化するカビ毒フシコクシンを加えてもプロトン輸送活性は回復せず、$Ca^{2+}$ によるプロトン輸送活性の阻害は、プロトンポンプそのものが阻害されている可能性を示している。

## 1pF07

葉緑体局在ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を導入した形質転換タバコにおける低温耐性能力の向上

児玉浩明、濱田達朗、堀口吾朗、西村光雄、射場　厚
(九大・理・生物)

植物の膜脂質における多不飽和脂肪酸含量の増加は、植物の低温馴化に伴う反応の一つであり、低温耐性に重要な役割を有しているものと考えられている。トリエン脂肪酸($C_{16:3}$+$C_{18:3}$)含量が増加した形質転換タバコを、シロイヌナズナ葉緑体ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*fad7*)を導入することによって作成した。葉組織でのトリエン脂肪酸含量は野生株と比較して約10%増加していた。この形質転換タバコを光照射下で7日間、1℃にさらした後、引き続き25℃、5日間生育させたところ、野生株で見られた葉の成長阻害が緩和され、低温処理していない状態の植物の葉と同様の成長を示した。低温処理による葉の白化現象(クロロシス)を示す個体の割合も形質転換タバコでは野生株と比べ減少した。これらの低温障害は若い葉組織において特徴的に生じた。実際に若い葉では多不飽和脂肪酸含量は成熟した葉と比較して少ないが、形質転換タバコではこの若い時期の葉でも脂肪酸の不飽和度が高い。以上の結果は、トリエン脂肪酸含量を増加させることにより高等植物の低温耐性能力を向上させることができることを示している。

## 1pF08

タバコω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の単離

濱田達朗、児玉浩明、西村光雄、射場　厚　(九州大・理・生物)

生体膜脂質の不飽和脂肪酸の含量が減少しているシロイヌナズナの突然変異体の解析から、植物の低温耐性機構に多不飽和脂肪酸が重要な役割を果たしていることが示唆されている。我々の研究室では、リノール酸を不飽和化しリノレン酸を生成する葉緑体局在ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*fad 7*)を、ポジショナルクローニングの技法を用いてシロイヌナズナから単離した。この遺伝子の発現及び機能を調べることにより、不飽和脂肪酸が植物細胞に与える生理的機能について明らかにすることができると考えられる。タバコは外来遺伝子を導入することが容易な植物種であり、分子生物学的手法による解析を行なうためには良い研究材料であると考えられる。そこで、タバコからω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の単離を行なった。

*fad 7*遺伝子をプローブにして、タバコ(*Nicotiana tabacum* cv. SR-1)の葉より調製したcDNAライブラリーから緩やかな条件下でスクリーニングを行ない、タバコのω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子をコードしていると思われる二つのクローンを単離した。そのうちの一つのクローン(pF1)の全塩基配列を決定したところ、塩基数は1381bpで、塩基配列より推定されるアミノ酸残基数は379であった。pF1と*fad 7*の塩基配列、およびアミノ酸配列における相同性は、ともに約70%であった。pF1のトランジットペプチドと思われる領域のアミノ酸残基数は21で、すでにクローニングされているアラビドプシスの小胞体局在ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のトランジットペプチド領域のアミノ酸残基数(25)とほぼ一致した。pF1は、葉および根のどちらの組織でも発現していた。以上の結果は、pF1が小胞体局在ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子をコードしていることを示している。また、現在もう一つのクローン(pH1)のシークエンスを行なっているところである。

## 1pF09

コムギの根における温度環境と成長に対応した脂肪酸多不飽和化

堀口　吾朗、岩川　洋隆、児玉　浩明、川上　直人[1]、
西村　光雄、射場　厚　(九大・理・生物、[1]横浜市立大木原生物学研究所)

シロイヌナズナには葉緑体局在型の低温誘導性ω-3脂肪酸不飽和化酵素が存在し、低温にさらされた葉においてリノレン酸含量を増加させることが知られている。しかしこの酵素をコードする遺伝子(*fad 8*)は根では発現せず、根における低温誘導性のω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子について分子生物学的に調べた例はない。われわれはコムギを用いて温度環境の変化に伴う脂肪酸組成の変化を調べた。コムギを播種後高温(30°C)または低温(15°C)で成育させると、リノレン酸含量に大きな差が生じ、全脂肪酸にしめる割合は30°Cで約10%であるのに対して15°Cでは約40%であった。播種後30°Cで生育後15°Cに4日間移した場合、15°Cで新たに成長した部分でリノレン酸含量の増加が認められた。またこの根におけるリノレン酸含量の増加はホスファチジルコリンとホスファチジルエタノールアミンにおけるリノレン酸の増加によるものであった。これらの脂質分子種における脂肪酸不飽和化はおもに小胞体で行なわれているので、根において小胞体局在型の低温誘導性ω-3脂肪酸不飽和化酵素が存在する可能性が示唆された。

## 1pF10

膜脂質不飽和脂肪酸のシアノバクテリアの凍結耐性に及ぼす影響

野口勝三[1,2]、渡辺正勝[1,2]、村田紀夫[1,2]　([1]基礎生物学研究所、[2]総合研究大学院大学・生命科学)

耐凍性の植物を低温順化させると膜脂質脂肪酸の不飽和度が増大する。このことから凍結耐性への膜脂質の不飽和脂肪酸の関与が示唆されているが、現在まで直接的な証明はない。そこで我々はより直接的な知見を得るため膜脂質の不飽和脂肪酸の異なるシアノバクテリア変異株を用いて膜脂質の不飽和結合と凍結耐性の関係を研究した。

材料としては、34℃で培養した*Synechocystis* PCC6803の野生株および変異株Fad6(Δ6位の不飽和化活性を欠損)とFad6/desA⁻(Δ6位とΔ12位の不飽和化活性を欠損)の細胞を用いた。まず、これらの細胞を1℃/minの速度で冷却して−10℃の凍結処理をおこなった。次にこれらの細胞を解凍し、25℃における光合成的酸素発生能を測定した。その結果、−10℃の凍結処理により野生株に比べFad6/desA⁻では酸素発生能が著しく低下していることがわかった。この結果は、膜脂質の脂肪酸の不飽和結合が凍結耐性能の増強に関係していることを示唆している。光合成系のどの段階が凍結により傷害を受けるかについての結果と併せて報告する。

## 1pF11

ラン藻のΔ9位脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子

坂本敏夫[1,2]、和田元[3]、西田生郎[1,2]、大森正之[4]、村田紀夫[1,2]　([1]総合研究大学院大、[2]基礎生物学研究所、[3]九州大・教養、[4]東京大・教養)

ラン藻における不飽和脂肪酸の生合成は、膜脂質に結合した脂肪酸を不飽和化することによって行われる。特に、脂質に結合したステアリン酸に、直接、二重結合を導入することによってオレイン酸を合成する不飽和化経路は、ラン藻に特有である。本研究では、ラン藻*Synechocystis* PCC6803より、ステアリン酸の不飽和化を司るΔ9位脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*desC*)を単離し、その構造を明らかにした。本来脂肪酸不飽和化酵素を持たない大腸菌で*desC*を発現させたところ、オレイン酸の蓄積が認められた。*desC*より推定されるアミノ酸配列をラット、マウスおよびイーストのステアロイル-CoA不飽和化酵素のアミノ酸配列と比較したところ、いずれも約25%の相同性が認められた。一方、*desC*と高等植物のステアロイル-ACP不飽和化酵素との間には、相同性は認められなかった。また、二重結合の導入位置に関して特異性が異なる4種類の不飽和化酵素間で比較を行ったところ、活性中心と思われる領域で、アミノ酸配列の一致が見いだされた。

## 1pF12

葉緑体膜糖脂質合成酵素の精製とその性質

下嶋美恵、太田啓之、増田建、塩井祐三、高宮建一郎　(東工大・生命理工・生体機構)

UDP-galactose:diacylglycerol galactosyltransferase (UDGT) は、葉緑体膜の主要構成糖脂質である monogalactosyl diacylglycerol の生合成過程に関わっている酵素である。我々は、葉緑体分化と糖脂質生合成の関係を明らかにするために、UDGTの精製を行なった。

UDGTはキュウリ子葉のミクロソーム画分から lauryldimethylamine N oxide (LDAO) を用いて可溶化した。可溶化酵素は、金属キレートアフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイト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を用いて精製した。最も効果的な精製のステップはヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーであった。可溶化された酵素は、活性測定時にミクロソーム由来の脂質を添加することにより、活性が著しく増大した。この脂質添加によるUDGTの活性化はホスファチジルグリセロールでは観察されるが、レシチンでは活性化が起こらないことが判った。このことから、本酵素の活性発現には、酵素の局在部位である葉緑体包膜の構成脂質の存在が必須であると考えられる。

## 1pF13

葉緑体膜糖脂質合成酵素の活性発現に必要な膜脂質

荒井健之、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)

我々はキュウリの葉緑体膜糖脂質合成酵素をミクロソーム画分から可溶化し、精製する過程で、可溶化後、活性の低下した酵素に、酵素から取り除かれた脂質画分を再添加してやると活性を回復することを見い出した[1]。そこで本研究では、キュウリ子葉より単離した各脂質クラスについて、酵素の活性発現に対する効果を詳細に解析した。

ミクロソーム画分に含まれる膜脂質であるMGDG, DGDG, SQDG, PG, PC, PE, PIの7種の極性脂質について、活性化効果を調べた。7種の脂質なかでは、葉緑体の主要リン脂質であるPGの効果がもっとも高く、脂質無添加のものに比べて約15倍程度の活性を示した。またPG以外でも、同じ酸性脂質であるSQDG, PIが顕著な活性化を示したが、葉緑体の主要糖脂質であるMGDGやDGDG、また、PE, PCの活性化能は低かった。これらのことから、酵素の活性化には脂質のネガティブチャージが関与していると考えられる。

1) 下嶋ら　本会講演要旨集　(1994)

## 1pG01

ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の硝酸イオン輸送体サブユニット NrtC のC末端ドメインの機能に関する研究

小俣達男, 小林正樹, 堀江宣行, 澤木弘道, 鈴木石根 (名古屋大・農・応用生物科学)

*Synechococcus* PCC7942 の硝酸イオン能動輸送体は、*nrtA, B, C, D* の4つの遺伝子によってコードされるABC型輸送体である。*nrtC* と *nrtD* の産物 (NrtC と NrtD) はそれぞれ659残基、274残基のアミノ酸から構成されるタンパク質で、すべてのABC型輸送体の間で構造が保存されているATP結合性サブユニットである。通常、ATP結合性サブユニットは250～300個のアミノ酸残基から構成されているが、NrtC の場合、この保存配列に対応する部分 (N末端から254アミノ酸残基) にリンカー様構造を介して約 380 アミノ酸残基から成るC末端ドメインが結合しており、他に例のない特異な構造となっている。本研究では、このC末端側領域の硝酸イオン輸送における役割を検討するため、*nrtC* 遺伝子からC末端ドメインに対応する部分を遺伝子操作によって除去したラン藻変異株を作製した。得られた変異株は低濃度(5mM)の硝酸イオンを含む培地で増殖可能であり、また、培地中の硝酸イオンを完全に消費することができた。この結果から、NrtCのC末端ドメインは硝酸イオンの能動輸送に必須ではないことが明らかとなった。

## 1pG02

タバコ培養細胞*Nicotiana tabacum* BY-2の原形質膜リン酸輸送活性：リン酸飢餓による高親和型輸送の誘導

下河原浩介，臼田秀明（帝京大・医学部・化学）

従来、高等植物の細胞内へのリン酸輸送系には、低親和型（$K_m$ = 数10μM～数mM）と 高親和型（$K_m$≅ 数μM）の少なくとも２種類が存在し、このうち高親和型の系の活性がリン酸飢餓により著しく高まることが主張されてきた。しかしながら、これまでに報告されているこれらの輸送系に関する$K_m$値、$V_{max}$値は、研究者や材料により著しく異なっており明確な結論を得るには至っていない。我々はリン酸輸送活性のキネティクスおよび活性誘導のプロフィールを正確に知るため、種々のリン酸栄養条件下で育てたタバコ培養細胞（*Nicotiana tabacum* BY-2）のリン酸取込みを測定し、そのプロフィールを非線形回帰法で数値解析して正確な$K_m$と$V_{max}$を算出した。その結果、タバコ培養細胞においては、1)リン酸取込みのプロフィールは、単一のMichaelis-Menten 型の輸送（$K_m$ ≅ 2.5μM）の存在を仮定することで完全に説明され、いわゆる低親和型のものは存在しないこと、2)リン酸欠乏状態にある細胞では、このリン酸輸送活性の$V_{max}$値が5倍以上に増加するが、そのような場合でも、リン酸に対する親和性($K_m$値)は変化しないことがわかった。また、3)活性の誘導は、培地よりリン酸が消失すると直ちに始まり、ほぼ直線的に増加して、その後約16時間で最大活性に到達することが観察された。さらに、4)この活性の誘導はシクロヘキシミドにより完全に抑制されることから、新たに誘導された活性は、タンパク合成レベルで調節されていることが強く示唆された。

## 1pG03

**ニチニチソウ細胞によるリン酸吸収**

坂野勝啓、沖原清司、三村徹郎*、矢崎芳明、清田誠一郎
（農水省・生物研、＊姫路工大・生命）

ニチニチソウ培養細胞のリン酸吸収速度はこれまでに報告されている植物細胞のどれよりも高く（およそ 20 μmoles/h/g fresh weight）、しかも吸収過程にはfeed back inhibition のような調節機構が存在しない。このため、Murashige-Skoog 培地のようにリン酸を1 mM程度含む植物細胞用の培地では細胞密度を低くすると（$10^5$個/ml程度以下）、リン酸の過剰摂取が引き起こされ細胞の増殖は阻害される。また、通常の細胞密度でもリン酸濃度を高めて細胞あたりの吸収可能なリン酸量を高めると、同様の増殖阻害を引き起こす。今回、ニチニチソウ細胞を用いて細胞が吸収し得るリン酸の最大量を検討したところ、細胞密度の如何によらず100 μmoles/g fresh weight程度で、$^{31}$P-NMRスペクトルからみると吸収されたリン酸の大部分が液胞に蓄積すると同時に、細胞質のリン酸濃度も上昇している傾向がみられた。またニチニチソウ細胞のみかけのリン酸吸収の$K_m$は 10 μM程度で、これよりも大きい$K_m$をもったリン酸吸収はみられなかった。

## 1pG04

蛍光試薬を用いた細胞膜リン酸輸送担体同定への試み

沖原清司、清田誠一郎、三村徹郎[1]、坂野勝啓
（農水省・生物研、[1] 姫路工大・生命）

リン酸は植物細胞に関与する各種の無機イオンのうち、三大栄養素の一つであり、しかも生体エネルギー代謝に最も密接な関係をもつイオンである。しかしながら、そのイオンの生理学的な重要性にも関わらず、植物細胞膜のリン酸輸送担体の同定の報告例は未だ無い。その理由の１つには、その担体に結合する適当なプローブが発見されていないからであろう。

我々の目標はその植物細胞細胞膜の無機リン酸の輸送担体を同定し、その輸送及び制御機構の解明をすることにある。現在独自に見つけた蛍光性阻害物質を用いてリン酸輸送担体同定の検討を進めているのでその進捗状況について報告する。

我々は前回の学会で報告した一連のリン酸輸送阻害物質と類似した蛍光試薬 9FSCをニチニチソウ (Catharanthus roseus) 培養細胞に与えた結果リン酸輸送が阻害されることを見い出した。この阻害機構としてこの試薬が輸送担体のリン酸結合部位のアミノ基と共有結合してリン酸輸送を阻害する可能性が考えられた。その仮定のもと、水性二層分配法で純化した細胞膜を用いてリン酸の有無の条件下で蛍光標識を行い、ゲル濾過によって分析した。その結果、リン酸無の条件下でのみ強く蛍光標識される画分があることを見い出すことができた。

## 1pG05

ニチニチソウ培養細胞における親和性の異なる２種類のリン酸取り込み成分の性質

降旗　敬、直井由紀、桜井英博　（早稲田大・教育・生物）

ニチニチソウ培養細胞におけるリン酸取り込みには、構成的に見られる低親和性成分($K_m$≒47μM)と、リン酸（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（+Pi細胞）にはほとんど見られないが、リン酸を含まない培地での培養（-Pi培養細胞）により誘導される高親和性成分($K_m$≒3.0μM)の２種類が存在する[1]。

細胞の反応速度論的解析を、懸濁培養細胞をそのまま用いて行ったところ、両成分ともに$K_m$値はプロトプラストを用いた場合の値（上記）と誤差範囲内でほぼ一致しており、セルラーゼ、ペクチナーゼ処理に伴う親和性の顕著な変化は認められなかった。

高親和性成分（-Pi細胞、リン酸初期濃度１または３μMにおける取り込み）、および低親和性成分（+Pi細胞、リン酸初期濃度500μM）に対する各種阻害剤の効果を比較した。NEM、ヨード酢酸などのSH修飾剤は、高親和性成分に比べて低親和性成分による取り込みをより強く阻害した。感受性の差は両成分が発現している-Pi細胞における測定結果の解析によっても確認できた。このとき、リン酸取り込みを50%阻害するのに必要なNEM濃度は、高親和性成分で0.5μM、低親和性成分で0.1μMであった。なお、阻害が最大に達するまでの処理時間には大きな差はみられなかった。

[1] Furihata *et al.* (1992) *Plant Cell Physiol.* 33, 1151-57

## 1pG06

ニチニチソウ緑葉のホスファターゼの精製とその諸性質

今井　宏、佐藤　康之、城市　篤、桜井　英博
（早稲田大・教育・生物）

植物個体ではリン酸欠乏時にリン酸の取り込み活性が上昇すること、リンの易動化のためのホスファターゼの活性が根周辺で上昇することが知られている。ニチニチソウ培養細胞では、細胞外酸性ホスファターゼに少なくとも４つのアイソザイムが存在し、うち３つはリン酸欠乏によって活性が大きく上昇する（Joichiら、1992,1993）。ニチニチソウ緑葉では、ＮＡＴＩＶＥ－ＰＡＧＥ、活性染色により細胞外酸性ホスファターゼとほぼ同様のアイソザイムの他に、移動度の大きく異なるアイソザイムが１つ認められた。我々はこのアイソザイムの精製を試み、その性質を細胞外ホスファターゼと比較した。

ニチニチソウ成葉を破砕後遠心し、得られた上清から、硫安分画、ＤＥＡＥ、ゲル濾過（Toyoperl HW55）、ハイドロキシルアパタイトクロマトグラフィー及び、ＭｏｎｏＱ（ＦＰＬＣ）により他のアイソザイムと分画し精製した：①ｐＨ６．０でＤＥＡＥに吸着されるが、他のアイソザイムは非吸着であった。②ＮＡＴＩＶＥ－ＰＡＧＥ後の活性染色において、ｐＨ８．５におけるβ－ナフチルリン酸を基質としたFast RedＴＲによる染色ではこのアイソザイムだけが特異的に染色され、Fast GarnetＧＢＣを用いたｐＨ４．５における活性染色では全アイソザイムが染色された。③このアイソザイムの至適ｐＨは５．５であった（３種の細胞外フォスファターゼの至適ｐＨは４．５及び５．０）。

## 1pG07

タバコ培養細胞(BY-2)の原形質膜のイオン透過性と選択性に及ぼすＣａ$^{2+}$の効果

村田芳行、吉橋学、小尾一郎、角谷忠昭、池田篤治
（京都大・農・農化）

［目的］Ｃａ$^{2+}$が塩ストレスの軽減やＫ$^{+}$の流出、Ｎａ$^{+}$の流入の抑制などに関与していることは、これまでに報告されてきている。本研究では、タバコ培養細胞原形質膜のイオン透過性と選択性とに対するＣａ$^{2+}$の効果について検討した。

［方法］材料としてタバコ培養細胞(BY-2)より単離したプロトプラストを用いた。チャンネル電流は、パッチクランプアンプCEZ-2200(NIHON KOHDEN)を用いて、whole-cell configuration、outside-out patchで測定した。

［結果］ホールセル電流の測定より、原形質膜のイオン透過性は、細胞外のＣａ$^{2+}$の濃度の増加(0.1～10.0mM) に伴い、減少した。また、細胞内のＣａ$^{2+}$の増加(0～4$\mu$M)は、イオン透過性を変化させなかった。一方、逆転電位測定より、イオン選択性は、変化しなかった。細胞外のＣａ$^{2+}$がタバコ培養細胞の原形質膜のイオン透過性の制御に大きく寄与しているが、イオン選択性には関与していないことが示唆された。

また、この透過性の変化は、Ｋ$^{+}$チャンネルのシングルチャンネルコンダクタンスの変化ではなく、開頻度の変化によるものであることが明らかになった。

## 1pG08

濃厚Ｃａ$^{2+}$-塩溶液中でのChara 節間細胞の原形質流動に及ぼす光と低温処理

清沢桂太郎(大阪大学・基礎工学部・生物工学科)

車軸藻節間細胞の原形質流動の流速は、F-アクチンと同定された繊維状構造の周囲のＣａ$^{2+}$と、ＡＴＰ-Ｍｇ濃度に依存することが、知られている。外液のＣａ$^{2+}$濃度を高くすると、外液中のＣａ$^{2+}$を細胞内に入れようとする力が大きくなる。明暗は細胞膜に接する様に存在する葉緑体表面の電荷を初め、細胞質中のＡＴＰ濃度を変える。低温処理は、仮定的なＣａ$^{2+}$の能動輸送系に影響を与え、細胞質中のＣａ$^{2+}$濃度を変えるかも知れない。そこで、濃厚Ｃａ$^{2+}$溶液中、明暗条件で原形質流動の流速を測定した。次いで、濃厚Ｃａ$^{2+}$溶液中に節間細胞を入れ、各々明暗条件で３℃に１週間放置した後、２５℃での流速を測定した。結果は、原形質流動の流速及び生存率は明暗条件にのみ依存し、Ｃａ$^{2+}$濃度、Ｃａ$^{2+}$の対イオンの種類には依らなかった。１週間の低温処理は２５℃復帰後の原形質流動を停止させることはなかった。

## 1pG09

原形質流動の光誘発には細胞膜H$^{+}$ポンプが関与している

原田明子，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葉肉細胞では、光刺激により、フィトクロムと光合成色素との協働作用を介して、周回型の原形質流動が誘発される。流動の原動力発生はマイクロフィラメント系に依存しており、Ca$^{2+}$による制御を受けている。また、赤色光照射に伴って細胞外へCa$^{2+}$が放出される。細胞膜H$^{+}$ポンプの阻害剤であるバナジン酸は、赤色光に依存した流動誘発とCa$^{2+}$放出とを共に阻害する。そこで、H$^{+}$ポンプ阻害剤として知られるDCCDと DES、脱共役剤であるCCCPが流動の光誘発に与える影響を調べた。細胞外pH 7.0では、全ての薬剤が赤色光による流動誘発を阻害する。これに対して細胞外pH 5.5では、DCCDもしくは DESの存在下でも流動は誘発される。この場合の流動誘発作用は赤色光特異的で、近赤外光によって打ち消される。細胞外pH 5.5でCCCP処理を施すと細胞は死ぬ。DCCDと DESは、プロトプラストにおけるCa$^{2+}$放出も阻害する。これらの結果から、次のように推論している。光合成に依存して活性化される細胞膜H$^{+}$ポンプの働きにより、細胞膜を介したH$^{+}$勾配が形成される。Ca$^{2+}$は、このH$^{+}$勾配を利用したCa$^{2+}$/H$^{+}$対向輸送によって放出される。Ca$^{2+}$放出が起こるためには、Ｐｆｒの存在が必要である。以上の条件が満たされた時、原形質流動が誘発される。

## 1pG10

汽水産藻類シラタマモ節間細胞の低張処理に伴う細胞質pHおよび液胞pHの変化

岡崎芳次、岩崎尚彦（大阪医大・教養・生物）

汽水産藻類の一種シラタマモ（Lamprothamnium succinctum）の節間細胞は膨圧調節機構を持っている。低張処理に伴って細胞質中の遊離$Ca^{2+}$濃度の増加と共に液胞から$K^+$と$Cl^-$が外液に洩れだして膨圧が回復する。この過程で細胞質$Ca^{2+}$が膨圧調節に伴うイオン輸送の調節因子となっていることがすでにわかっている。

本実験では低張処理に伴う細胞質pH($pH_c$)および液胞pH($pH_v$)の初期変化を測定した。$pH_c$は二連式pH微小電極により直接測定した。$pH_v$は節間細胞から液胞内液を分離して、そのpHをpH微小電極により測定した。

低張処理に伴って$pH_c$は、変化しないとき、アルカリ化するとき、酸性化するときがあった。細胞を酪酸処理して$pH_c$を人為的に酸性化させると、膨圧調節は阻害された。これらのことは調節に伴うイオンの液胞からの流失は$pH_c$に依存するものの、$pH_c$自体が細胞質$Ca^{2+}$のような膨圧調節に伴うイオン輸送の調節因子ではないことが示唆された。$pH_c$の変化は調節に伴う細胞質無機イオン環境の乱れを反映するのかもしれない。

$pH_v$は低張処理５分後には約0.5だけアルカリ化し１時間以内に元のレベルまで戻った。このアルカリ化は増加した細胞質$Ca^{2+}$の液胞内への$Ca^{2+}/H^+$ antiport 系による取り込みを反映しているのかも知れない。

## 1pG11

フラスモの興奮におけるカルシウムの役割

菊山宗弘、島田希代、新免輝男[1]（放送大・生物、[1]姫路工大・理・生命科学）

フラスモの興奮時にはまず原形質膜の$Ca^{2+}$チャンネルの活性化によって$Ca^{2+}$の流入が促進され細胞質内$Ca^{2+}$濃度の上昇が起こる。これによる原形質膜や液胞膜の$Cl^-$チャンネルの活性化が活動電位の実体であるとされている。それでは$Cl^-$チャンネルの不活性化の過程はどうなっているのであろうか。すなわち$Cl^-$チャンネルそのものが活性化・不活性化過程を内包しているのか、それとも活性化・不活性化過程は単に$Ca^{2+}$消長を反映しただけなのか。これを明らかにすることを試みた。

あらかじめ aequorin を注射したフラスモを用い、活動電位の様子、膜コンダクタンス変化と細胞質内$Ca^{2+}$濃度の変化（＝aequorin 発光強度変化）の関係を測定した。

活動電位発生の直後から$Ca^{2+}$の増加は始まり、活動電位のピークあたりで濃度は最高に達し、膜電位の回復とほぼ一致して$Ca^{2+}$濃度も回復した。膜コンダクタンスの変化の様子も$Ca^{2+}$の挙動にほぼ一致した。この結果は、$Cl^-$チャンネルの活性の程度は細胞質内$Ca^{2+}$濃度に直接的に依存しているという可能性を示唆する。

## 1pG12

シャジクモ節間細胞興奮の閾値電圧について．

大川和秋・筒井泉雄[1]・野坂修一[2]（阪大・教養・生物、[1]岡崎生理研・生体膜、[2]滋賀医大・麻酔）

シャジクモ節間細胞原形質の $K^+$は通常活動量としては40 mMよりは高く，濃度としては 110 mMよりは低いと予想される．外液の人工池水の $K^+$ 濃度が0.5mM の時，$K^+$の平衡電位の値は -110～-135 mV となる．電位固定あるいは電流刺激により細胞の興奮性を調べていると膜が上記の$K^+$ の平衡電位と予想される付近にまで脱分極した時，興奮することが多い．このことから閾値電圧を決定しているのは主として $K^+$ チャンネルの開口であると予想し，実験を進めている． 電流固定条件下で矩形波電流刺激時間を70mSに固定し，刺激の強さを変えてみた．閾値以上の刺激に対し、応答波形は70mSの間に極大値を示す．刺激電流の大きさと、応答の極大値との関係はほぼ直線で近似できる．直線の傾斜は極大値における膜の抵抗と関係し，また直線を電流ゼロへ外挿した時の電圧は極大値における膜起電力を示す．外液の$K^+$濃度を0.1と1.0mMの間で変化させた時，極大値における膜起電力の値は それぞれの濃度における$K^+$平衡電位に近く，10倍の濃度変化に対し約60 mVの変化を示す．すなわち$K^+$チャンネルのこの時期における開口が 閾値への膜の脱分極の主要因であることを暗示する．応答の極大値での膜コンダクタンスは静止時おける値の数倍程度であり，起電性$H^+$ポンプのコンダクタンスの静止状態からの減少が意外と速いことを暗示する．

## 1pG13

オオムラサキツユクサ生葉の$CO_2$ストレス応答解析

斉藤美佳子、本間知夫、根本泰行、松岡英明（東京農工大・工・応用生物）

植物生葉は $CO_2$ストレスに応答して顕著な細胞電位変化示す。この応答パターンが匂い分子によって変化することから、匂いセンサーへの応用を図る基礎として、$CO_2$ストレス応答の機構解明が望まれている。

本研究では、オオムラサキツユクサ(*Tradescantia virginiana* L.)の生葉の$CO_2$ストレス応答を、新たに開発したマルチ微小電極システムを用いて、電気化学的に応答機構解析を行なった。その結果、生葉の表皮細胞は2mm程度の範囲内では電気的に導通状態にあるが、電気化学的には制御された状態であることが明らかにされ、生葉内の細胞電位変化を指標とした情報伝達は、広範囲には伝達されないと考えられた。また、電子顕微鏡による生葉構造解析結果、および蛍光色素注入法に基づき、細胞内応答シグナルは、細胞液胞内電位変化であると推定された。細胞電位とは液胞膜電位、細胞膜電位などの和であるが、各膜電位は、拡散電位と起電性電位とから成る。そして、実際に得られた応答パターンを説明するためには起電性電位を考えなければ説明できないと判断した。そこで、まず生葉から液胞膜を調整した。さらに、可溶化したATPaseをアゾレクチンを用いて再構成しポンピング活性を測定した結果、オオムラサキツユクサ生葉液胞膜にV型のATPaseが存在しており、これは$H^+$輸送性ATPaseであることが明らかにされた。このことから、$CO_2$ストレス応答が、$H^+$,$K^+$の拡散電位およびこの$H^+$輸送性ATPaseに基づく起電性電位の組み合わせによって定性的に説明できることを明らかにした。

## 1pG14

マメ科植物幼根の生長に伴う電位分布及びイオン濃度変化

渡邊由美，竹内賢，池澤泰成，高村勉（立教大・理・化）

植物が活動する際に電気的な応答を伴うことは古くから知られている．我々はマメ科植物幼根を対象として，その周囲に発生する電位分布を詳細に測定した．その結果，根の先端部の生長領域において，大きな負電位が得られた．一方，成熟域においては，小さな負の電位ピークが観測されることがあった．このピークに対応する根の表面は外見上平坦であった．しかしほぼ１５時間後にこの部位から側根の発生が観察された．これは，外部からは見ることのできない，根内部における生理活性を外部から捕らえることができたと考えられる．これらの電位は，細胞活動に伴うイオン種の輸送によるものであると考えられる．そこで側根を含む幼根周囲の主要イオンの濃度分布を測定し，液間電位の理論計算式（ Hendarsonの式）を用いて電位分布の電気化学的な解析を行った．

## 1pH01

電子伝達鎖中でのチトクロムc'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[1]，岡田輝之，和田正徳(鳥取大・工・物質工，[1]京大・人間環境)

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、不均一反応速度定数の算出や分子間相互作用が水素結合に起因しているらしいことを報告した。今回は、修飾剤の種類による酸化還元挙動の差から、チトクロムc'の分子間相互作用について考察する。

Rs. rubrumチトクロムc'の電気化学的酸化還元が、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た事から、これに類似する化合物１１種を選び、金電極に修飾した。その結果、反応の可逆度はD-、L-システインで2-メルカプトコハク酸と同様となった他、電極表面のチオールから３、４番目にカルボキシル基や水酸基を有する化合物で不可逆ながら酸化還元が観察された。したがって、この相互作用の実体は電極修飾剤のカルボキシル基や水酸基とヘム周辺のいずれかのアミノ酸残基（特にリジン残基）との間の水素結合の可能性が大きい。

## 1pH02

**Ｐ７００の抽出再構成は可能か？**

池上勇、仲村亮正[1]、渡辺正[1]（帝京大・薬、[1]東大・生産研）

P700の再構成実験を可能にするためにはP700結合部位が変性しないようにP700を抽出しなくてはならない。凍結乾燥したホーレンソウの光化学系Ｉ粒子をエーテル処理することにより、アンテナ色素の大部分を抽出することができるが、P700は殆ど抽出されない。その結果、Chl-a/P700比が約10の粒子を得ることができ、これはアンテナ色素の再構成に用いることができる。一方、微量のアセトアルデヒドを含むエーテル処理をすると、アンテナ色素がより抽出され、アンテナサイズのさらに小さい粒子を得ることができるが、同時にP700の抽出も可能になる。この方法で得た粒子を用いてP700の再構成実験を試みた。

1)P700の50%以上が抽出された粒子に、Chl-aと共に脂質を加えると条件によってP700量は最大２倍になるまで増える。最も有効な脂質はMGDGでありPGがこれに次ぐ。MGDGは濃度を増すにしたがってより有効になるが、PGは濃度を増すと逆に効果が下がる。DGDG、PC、PIは殆ど無効である。Chl-aまたは種々の脂質を単独で添加してもP700量は変化しない。

2)再構成されたP700は定常光における光酸化活性を持ち、その酸化還元差スペクトルも再構成前のP700とほぼ同じである。

3)Chl-a'(Chl-a epimer)は脂質との親和性がChl-aとは異なっていたが、条件によってはChl-aとほぼ同程度のP700再構成能を示し、低濃度のPGまたはMGDGと共に加えると有効であった。

## 1pH03

光阻害条件下におけるシトクロム*b*-559の酸化還元電位の変化

岩崎郁子、田村典明[1]、岡山繁樹（九大・教養・生物、[1]福岡女子大・家庭理学・植物）

高い酸素発生能を持つ光化学系IIのシトクロム*b*-559は少なくとも３種の酸化還元電位(Em)すなわちHigh Potential (HP)-form, Low Potential (LP)-form, Very Low Potential (VLP)-formを持ち、かつHP-formの占める割合が大きい(60%以上)。酸素発生系を取り除いた系II標品では、強光照射下では光化学系IIの酸化側からの破壊が還元側の破壊よりも先に生じる。$NH_2OH$処理を施した後強光照射 (7000 $\mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) したPSII膜標品について、シトクロム*b*-559の酸化還元滴定をおこなった。光による光化学系IIの酸化側の破壊が進行する過程で、シトクロム*b*-559の酸化還元電位の成分に変化がみられた。 HP-formは短時間 (半減期1分以内) に減少し、約120mV低いEm値を持つIntermediate Potential ($IP_1$)-form が出現した。10分後には$IP_1$-formは消失し、LP-formより約100mV低い$IP_2$-formが出現した。この間LP-formの量にはほとんど変化が見られなかったが、VLP-formは徐々に増加した。光化学系IIの酸化側を破壊するような光阻害条件では、シトクロム*b*-559のHP-formが減少していく過程で、今までみられなかった新しいEm値を持った中間体が生成されることがわかった。

## 1pH04

THE UNSATURATION OF MEMBRANE LIPIDS ACCELERATES THE RECOVERY OF PHOTOSYNTHESIS FROM PHOTOINHIBITION

Byoung Yong MOON, Sho-Ichi HIGASHI and Norio MURATA, Department of Regulation Bilogy, National Institute for Basic Biology, Myodaiji, Okazaki 444

Effects of unsaturation of thylakoid membrane lipids on the chilling sensitivity of photosynthesis were studied in transgenic tobacco plants which had been transformed with the gene for glycerol-3-phosphate acyltransferase from squash. The transformed plants had a depressed level of unsaturated phosphatidylglycerols in thylakoid membranes of chloroplasts. The thylakoid membranes isolated from the wild-type and transformed plants showed little differences in their sensitivities of photosystem II activity measured by oxygen evolution to different temperatures. They were also indistinguishable in their sensitivities to strong light and heat. However, the recovery of photosynthesis from the photoinhibited state was much depressed in leaves of the transformed plants as compared to the wild-type plants. We conclude that the unsaturation of membrane lipids accelerates the recovery of photosynthesis from the photoinhibited state via the enhanced turnover of D1 protein.

## 1pH05

低温においてキュウリの葉に光を照射すると光化学系IIではなく光化学系Iが傷み，それが光合成失活の原因となる

寺島一郎，舟山幸子，園池公毅　（東大・理・植物）

低温感受性植物であるキュウリの葉を，220 $\mu$mol $m^{-2}$ $s^{-1}$の穏和な光のもとで，数時間，4℃の低温にさらすと葉の光合成活性がほとんどなくなる．このような葉からチラコイド膜を穏和な方法で単離し，過剰量のフェレドキシンの存在下で，diaminodurene(DAD) から $NADP^+$ への電子伝達活性速度を弱光下で測定することによって求めた量子収率（相対値）は対照チラコイド膜の20%程度であった．量子収率の低下は，10℃以下の光・低温処理でのみ起こり，4℃で5時間処理した場合には，50$\mu$mol $m^{-2}$ $s^{-1}$程度のごく弱い光でも約50%の低下が見られた．これらは，葉の光合成の失活の条件とよく一致していた．また，窒素気流中で光・低温処理を施した場合には，葉の光合成も，系Iの量子収率もほとんど低下しなかった．

本研究によって，生理学的にも意味のある穏和なストレス条件下で系Iが系IIよりも顕著な損傷を受け，それが葉の光合成失活の原因であることが初めて明らかになった．

寺島，舟山 & 園池 (1994) Planta, in press.

（反省点）系I活性は，DADからmethyl viologenへの電子伝達速度として測定するのが一般的である．しかし，DAD→$NADP^+$の量子収率が20%程度に低下した膜標品でも，強光下のDAD→MVの活性は対照の70%にも達する．系Iの光阻害の発見が遅れたのはこのためである．

## 1pH06

キュウリの葉における光化学系I光阻害のメカニズム

園池公毅、寺島一郎（東大・理・植物）

先にわれわれは、キュウリの葉に、4℃において数時間200 $\mu$mol·$m^{-2}$·$s^{-1}$ 程度の穏和な光を照射すると、光化学系Iが選択的に失活することを見い出した。この系I光阻害のメカニズムを明らかにするために、光阻害を受けた葉からチラコイド膜を単離して系Iの電子伝達成分を分光学的に測定することによってその阻害部位を追跡した。また単離したチラコイド膜より系I反応中心複合体を調製してサブユニットの変化などを調べた。その結果、1)系Iの電子受容体側が最初の阻害部位であること、2)次に反応中心クロロフィルであるP-700自身の失活が起きること、3)最終的には反応中心結合大型サブユニットであるPSI-A/B の部分的な分解が引き起こされること、4)この大型サブユニットの分解は光阻害処理を窒素気流中で行なうと起こらないこと、5)複合体の小型サブユニットの組成には変化がないこと、6)反応中心と集光性サブユニットLHC-I の間の結合には変化がないことなどが明らかになった。本研究は生理的な条件下で引き起こされる系Iの光阻害のメカニズムを初めて明らかにしたもので、また生体内における系I大型サブユニットの分解の最初の報告である。この系Iの光阻害のメカニズムは、系IIの光阻害について提案されているメカニズムと比較して、反応中心サブユニットの分解の仕方、集光性サブユニットの役割などの点で大きく異なっていることがわかった。

## 1pH07

光化学系 II の表在性18-kDa タンパク質の大腸菌による発現

竹内　麻里子、本多　修三、中嶋　信美[1]、近藤　矩朗[1]、桑原　朋彦（　筑波大・生物、[1]国立環境研　）

光化学系IIの表在性18-kDaタンパク質のcDNA（不完全)をプラスミドpUC118を用いて大腸菌JM109にクローニングし、β-ガラクトシダーゼとの融合タンパク質の形で発現させた。大腸菌の膜構造をライソザイム－低張処理によって破砕したところ、前駆体タンパク質(pre18-kDa)は、7℃で1h放置することにより、大腸菌のタンパク質分解酵素により、成熟18-kDaタンパク質とほぼ同サイズ（ E18-kDa )にまで分解した。E18-kDaは成熟 18-kDaタンパク質と同様な方法でCM-Tyopearl 650M 及び Mono Sを用いて精製された。E18-kDaのN-末端アミノ酸配列は成熟18-kDaタンパク質に比べトランジットペプチドのC末端の4アミノ酸残基Ala-Val-Leu-Ala-がN端に残っていた。E18-kDaはホウレンソウの1M NaCl 処理光化学系II膜に、表在性23-kDaタンパク質の存在下で再結合し、低塩素イオン濃度下での酸素発生能を回復させた。このことから、ホウレンソウの18-kDaタンパク質と同じ機能を有するタンパク質が大腸菌を用いて生産できることがわかった。

## 1pH08

ホウレンソウ光化学系Ⅱ膜から精製したプロリルエンドプロテイナーゼの基質特異性

桑原朋彦、鈴木恒平（筑波大・生物）

光化学系Ⅱの表在性18-kDaタンパク質のPro12-Leu13結合を特異的に切断するプロリルエンドプロテイナーゼをホウレンソウの光化学系Ⅱ膜から精製し、性質を調べた。酵素は18-kDaタンパク質の他の部位または他のタンパク質を分解しなかった。酵素の18-kDaタンパク質に対するKm値は0.3 μMであった。プロリル結合含有化合物によるタンパク質分解の阻害から、本酵素との相互作用にはプロリル結合と正電荷の両方が必要であること、18-kDaタンパク質の高い親和性にはその他の構造要因も関与していること、が示唆された。本酵素はフラボバクテリウムのプロリルエンドペプチダーゼとは基質特異性およびDFPに対する感受性においてきわめて異なっていることが示された。これらの結果は、本酵素が新しいタイプのプロリン特異的エンドプロテアーゼであることを示唆した。

## 1pH09

光化学系IIの表在性23-kDaタンパク質に作用するアスパルティックプロテアーゼ

鈴木恒平、桑原朋彦（筑波大、生物）

pH 7において*p*CMPS存在下で、光化学系IIの表在性23-kDaタンパク質を16 kDaに分解するプロテアーゼは、ゲル濾過クロマトグラフィーとキレートクロマトグラフィーによって部分精製された。pHおよび阻害剤の効果を調べたところ、本酵素はpH 3で極大活性を持つアスパルティックプロテアーゼであることが示唆された。以前の研究では、本活性は粗抽出液中に活性を阻害する核酸が含まれていたため検出できなかった。このpH 3での活性は0.05M NaCl以上の高塩条件下で促進されることから、本プロテアーゼは高塩環境での酸性化による光合成装置の損傷時に働くことが予想される。Nativeおよび*p*CMPS化された23-kDaタンパク質の分解のpH依存性から、このプロテアーゼは比較的広いpH範囲(pH 2-11)で働き得るが、基質の分解は基質タンパク質のコンフォメーション変化に依存することが示唆された。

## 1pH10

ゼンマイ緑色胞子の発芽時に消失する葉緑体２０ｋＤ蛋白の性質とその分解

井上 弘、高野篤生 （富山大・理・生物）

ゼンマイ緑色胞子の特徴の一つは、その葉緑体チラコイド膜にゆるく結合して、SDS-PAGEで分子量が２０kDである蛋白質が多量に存在することである。この蛋白は、胞子の発芽に伴って消失する。シクロヘキシミド存在下で胞子を培養すると、胞子は全く発芽せず、２０kD蛋白の消失も見られないが、光合成は活発に起きているので、２０kD蛋白は光合成活性とは直接に関係は無い。発芽・細胞分裂と呼応して、この蛋白の消失が観察されるので、発芽に伴って起こる葉緑体の分裂・増殖に必要なアミノ酸を供給する機構の一環であろうと推測している。今回、２０kD蛋白を完全に精製した。nativeの分子量は、７９kDと推定されたので、この蛋白は４量体で存在している。Ｎ末端アミノ酸の部分配列を４６残基決定した。アラニン、グリシン、リジンの順に多くみられたが、リジンの量は等電点１０以上の高塩基性を予想するには少なく思われる。この蛋白を特異的に分解するプロテアーゼは、まだ発芽していない胞子の葉緑体に既に存在しており、部分的に精製した。

## 1pH11

光化学系IIカタラーゼ反応の陰イオンによる阻害

真野純一，川本邦男，G. Charles Dismukes[1]，浅田浩二 （京都大・食研，[1]Princeton大・化学）

光化学系II（PSII）$H_2O$酸化酵素（WOE）は水の4電子酸化・酸素発生（$H_2O$酸化反応）を触媒する。本研究ではWOEの$S_2$状態と$S_0$状態とにより触媒される$H_2O_2$の不均化反応（$S_2/S_0$カタラーゼ反応）に対する陰イオンの効果を$H_2O$酸化反応と比較した。$S_2/S_0$カタラーゼ活性は$H_2O_2$中で暗処理したホウレンソウPSII反応中心複合体に閃光を照射し，生じさせた$S_2/S_0$状態によって$H_2O_2$から発生する$O_2$を気体透過薄膜－質量分析計を用い測定した。

$S_2/S_0$カタラーゼ反応の至適pHは6.5であり，$H_2O$酸化反応のそれと一致した。50 mM $H_2O_2$での$S_2/S_0$カタラーゼによる酸素発生はKCN, $NaN_3$, KF, NaClによりそれぞれ10 mM, 15 mM, 40 mM, 100 mMで50%阻害された。また、その酸素発生の半減期も同様の阻害を受けたことから，これらの陰イオンは$S_2/S_0$カタラーゼの反応中間体と結合して活性を阻害すると考えられた。5 mM $H_2O_2$ではこれらの陰イオンの半阻害濃度は50 mM $H_2O_2$の場合より高かった。$H_2O_2$はWOEのMn複合体を還元し，水和$Mn^{2+}$イオンを生じさせることから，$H_2O_2$濃度に依存して異なった機構でカタラーゼ反応が起こると考えられる。$N_3^-$，$CN^-$は$H_2O$酸化反応をも強く阻害した。$S_2/S_0$カタラーゼを阻害する$Cl^-$濃度は$H_2O$酸化反応に要求される$Cl^-$の濃度（50%活性化に約2 mM）より高く、$H_2O$酸化反応と異なる結合部位の存在が示唆された。

## 1pH12

アジドイオンによる光化学系II膜の電子伝達阻害

川本邦男、真野純一、浅田浩二　（京都大・食研）

$N_3^-$ は光合成電子伝達の阻害剤としては知られていなかったが、演者らは、$N_3^-$によって光化学系 (PS) II膜の光阻害が電子受容体存在下で促進されることを発見したので報告する。

PSII膜を$N_3^-$と2,6-dimethylbenzoquinone (DMBQ) 存在下、25 °C で光照射 (50 W $m^{-2}$) すると、酸素発生活性が阻害された。このPSII膜を遠心により洗浄しても活性は回復しなかったので、不可逆的な阻害であった。また、この阻害は、$N_3^-$、DMBQ、および光に依存し、50% 阻害は 30-60 s の光照射で生じた。$N_3^-$とDMBQ存在下で光照射 ($N_3^-$ 処理) したPSII膜では、Tris処理後の diphenylcarbazide (DPC) から2,6-dichloroindophenol への電子伝達活性が、酸素発生活性と同程度に阻害され、$N_3^-$ 存在下、PSII がターンオーバーすると、$Y_Z$から$Q_B$への電子伝達活性が阻害されることが明らかとなった。また、DPC を電子供与体、DMBQ を電子受容体として、クロロフィルの蛍光をTris処理後に測定したところ、$N_3^-$ 処理したPSII膜では $F_M$ が大きく低下し、PSII の酸化側が阻害された。さらに、$N_3^-$ 処理によって $Y_Z^+$ の ESR シグナルが大きく減少したが、$Y_D^+$はほとんど影響受けなかった。したがって、電子受容体存在下、$N_3^-$ は $P680^+$ による $Y_Z$ の酸化を光照射下で不可逆的に阻害したことが明らかとなった。

## 1pH13

マトリックスＥＮＤＯＲからみたマンガンクラスタ-周辺の構造変化　

三野広幸、河盛阿佐子（関西学院大・理）

マルチラインＥＰＲ信号は低温では（＜１８０Ｋ）非常に安定な信号である。低温ではマルチラインは長期保存（＞１年）に対してほとんど線形も強度も変化しない。　これに対してマルチラインのENDOR信号の線形は著しく変化する。

１９８Ｋで光照射直後のマルチラインのmatrix ENDOR信号は4 MHzの範囲内に６対の分離をもっている。　しかし７７Ｋで保存することにより、分離幅１ＭＨｚ内に別の信号が現われる。ENDOR-Induced EPR を用いて新たに出現した信号もまたマンガンクラスター起源であることが確認できた。

マトリックスENDORは核-電子間の双極子相互作用からなり分離幅は核-電子間距離の3乗に反比例する。つまりこの信号は電子から4－6Å離れた比較的遠い位置での陽子との相互作用の変化を反映していることになる。　またこの信号は再照射により消失する。この信号の増加速度は$Q_A^-$と$D^+$の電荷再結合の速度によく対応している。　両者の関係については現在検討中である。

また光照射直後から存在する６対の信号は長時間の低温での保存によって減少、消失することがわかった。

以上の変化はマンガンクラスター及びその周辺の構造変化を反映したものと考えられる。

## 1pI01

*Arabidopsis thaliana* のホメオボックス（ＨＢ）を持つ遺伝子のcDNAクローンの単離と発現解析

古金谷敏之，田坂昌生，藤澤久雄　（京大・理・植物）

ホメオドメイン（ＨＤ）を持つタンパク質は、動物の形態形成や細胞分化の調節過程において中心的役割を担う転写因子として知られている。最近高等植物においてもＨＤを持つタンパク質が相次いで報告されている。トウモロコシの葉脈のパターンが乱れる突然変異を引き起こす遺伝子（*Kn1*）もＨＤを持つタンパク質をコードしていた。この遺伝子は茎頂で特異的に発現しており、茎頂における細胞分化や組織形成に関わる可能性が示唆された。我々は植物の発生過程、特に栄養成長過程における調節機構の解明を目的として研究を行っている。本研究では、この過程におけるＨＢ遺伝子の働きに注目し、その機能を明らかにするためにモデル植物であるシロイヌナズナからＨＢを持つ遺伝子の単離を試みた。*KN1*のＨＤの保存領域をもとにオリゴＤＮＡを合成し、シロイヌナズナの栄養成長期地上部由来のｍＲＮＡから作ったｃＤＮＡを鋳型にしてＰＣＲを行った。得られたＤＮＡ断片がＨＢの一部配列であることを確認後、このＤＮＡをプローブに用いてｃＤＮＡライブラリーのスクリーニングを行ったところ、いくつかのクローンが単離された。それらは制限酵素地図をもとに３グループに分けられた。その１つについて塩基配列を決定したところ、それは１つの長いＯＲＦを含み、その中に*KN1*に類似したホメオドメインが存在した。これは、今までに報告されたシロイヌナズナのＨＢを持つ遺伝子群と全く異なる遺伝子である。またノザンハイブリダイゼーションの結果からこの遺伝子は、*Kn1*とは異なり葉で特異的に発現することが明らかになった。

## 1pI02

ニンジンのホメオボックス配列をもつｃＤＮＡのクローニング

川原良一、駒嶺穆[1]、福田裕穂（東北大・理・生物、[1]日本女子大・理・物質生物科学）

ホメオボックス（ＨＢ）は１８０ｂｐのＤＮＡ配列で、６０アミノ酸からなるホメオドメイン（ＨＤ）をコードしている。ＨＤをもつタンパク質は、ＨＤにより特定のＤＮＡ配列を認識し結合する転写調節因子と考えられている。ＨＢは最初、ショウジョウバエの発生の制御に関与する遺伝子に共通する配列として見つかったが、その後多くの動物種でＨＢ遺伝子がクローニングされている。最近、植物においてもＨＢ遺伝子が確認され、トウモロコシ、シロイヌナズナ、イネなどで、遺伝子のクローニングとその解析が行われている。演者らは、これまでニンジンの不定胚分化過程における遺伝子発現制御機構の解析を行ってきた。今回は、ニンジンのＨＢ配列をもつｃＤＮＡクローンの単離と、それらの遺伝子の不定胚分化過程での発現について報告する。

ＨＢ配列をもつｃＤＮＡクローンを単離するために、演者らは、ＨＤの保存配列をもとに作成されたオリゴヌクレオチドプローブを用いて不定胚のｃＤＮＡライブラリーのスクリーニングを行った。その結果ＨＢ配列をもつ１個のクローンが単離された。予想されるアミノ酸配列から、このクローンはＨＤの直後にロイシンジッパー（Ｚｉｐ）構造をもつことがわかった。さらに、このクローンの　ＨＤ－Ｚｉｐ領域をプローブにしてスクリーニングを行い、独立した５個のクローンを得た。これらはＨＤ－Ｚｉｐ領域の類似性は高いが、不定胚分化過程でそれぞれ異なる発現様式を示した。

## 1pI03

イネホメオボックス遺伝子ＯＳＨ１の発現と形質転換植物の形態変化の関係

松岡信，村上（嘉納）ゆり子[1]　（生物研，[1]果樹試）

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果たしていることが知られている。最近、植物においても動物のホメオドメインに類似したアミノ酸配列をコードした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との関連が期待されている。実際、我々がイネより単離したホメオボックス遺伝子*OSH1*のcDNAを35Sプロモーターによりアラビドプシス中で多量に発現させると、転換植物が形態異常を引き起こすことから、*OSH1*は植物の形態形成に重要な役割を持つ遺伝子と考えられている（Plant Cell 5, 1039, 1993）。今回我々はこの*OSH1*の発現と転換植物の形態異常の関係をより詳細に検討する目的で、３種類のプロモーター（35S, NOS, 及びタバコPR1a遺伝子）により*OSH1*cDNAをタバコ内で発現させ、その発現量と葉の形態異常との関係を調べた。その結果、NOS及び35Sプロモーターにより*OSH1*cDNAを発現させると、発現量と形態異常とは密接な関係が観察され、*OSH1*の発現が多いほどシヴィアーな形態異常を示した。一方、PR1aプロモーターの場合は、シヴィアーな形態異常を示した葉でも*OSH1*の発現は観察されなかった。PR1a遺伝子の発現は健全なタバコでは茎頂や発達中の維管束に限定されると考えられることから、*OSH1*によるタバコ葉の形態異常には単に発現量のみではなく、発現場所や発現のタイミングとも密接な関係があることが予想された。

## 1pI04

イネのMADSボックスのクローニング

木村貴志、永田俊文、田中正美[1]、森　昌樹（農水省・九州農試、[1]熊本農研センター）

近年、花器官形成のアイデンティティを支配する遺伝子群がキンギョソウやアラビドプシスから単離され、花器官形成を支配する遺伝的プログラムが明らかにされつつある。われわれはイネなどの花器構造の異なる植物種における花器官形成のプログラムを明らかにすることを目的とし、その第一段階として以下の実験を行なった。

既知の花器官形成関与遺伝子にMADSボックス[1]とよばれる58アミノ酸残基からなる保存性の高い配列が存在することに注目し、まずアラビドプシスのAGAMOUS(AG)ファミリー[2]のMADSボックスをPCRにより得た。このプローブを用いて17種類の植物より抽出したゲノムＤＮＡに対してサザーン分析を行なうと、イネ、メロン等6種類の植物で強いハイブリシグナルが検出された。そこでまずイネのMADSボックスをクローニングすることにした。アラビドプシスのAG遺伝子のMADSボックスのＮ末端とＣ末端に対応するミックスプライマーをそれぞれ合成し、イネのゲノムＤＮＡを鋳型にPCRを行なった。PCR産物をクローニングして塩基配列を決定したところ、イネより３種類のMADSボックスがクローニングされたことが明らかになった。いずれもAGのMADSボックスと高い相同性を示し、アミノ酸レベルでの相同性はそれぞれ96, 93, 91%であった。現在cDNA及びゲノムDNAのクローニングを試行中である。

1)Z.S.-Sommer et al. Science 250:931-936 (1990)
2)H.Ma et al. Genes & Development 5:484-495 (1991)

## 1pI05

ペチュニアの花器官特異的遺伝子群の単離とその発現様式の解析

山下　博史、高野　博嘉、河野　重行、黒岩　常祥
（東京大学　理　植物）

ペチュニアの花器官の形成過程における遺伝子の発現調節機構を解析することを目的として、デイファレンシャルスクリーニングを行ない、花器官特異的に発現する遺伝子を６つ単離した（前年度本大会）。ノーザン解析の結果、これら６つの遺伝子は空間的にも時間的にも異なる発現様式を示し、それぞれが異なる遺伝子であることがわかった。

単離したcDNA の部分的塩基配列を決定し、ホモロジー検索を行なった。その結果、得られた６つの cDNA のうち４つには有意に相同性のある遺伝子は報告されていなかったが、残りの２つのcDNA(clone205, 301)にはホモロジーがあることがわかった。clone 205はグリシンリッチ蛋白質と、clone 301はプロテイナーゼインヒビターと高いホモロジーが見られた。ノーザン解析によりclone205は、花弁で強い発現が見られ、clone301は雌蕊で強い発現が見られることがわかった。さらにこれらの遺伝子における組織特異的発現性を調べるために*in situ* ハイブリダイゼーションを行なった。その結果、clone205は花弁と花糸の維管束および柱頭の表皮において強く発現していることが明らかになった。また、clone301は柱頭の内層部分および花粉とタペート細胞において特異的に発現していることが明らかになった。

## 1pI06

ヤナギ科植物にみられるヒトＳＲＹに類似したＤＮＡ塩基配列とその発現特性

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)を持った転写因子である。この遺伝子が雌雄異株の植物にも存在するのか、あるならばどのような機能を担っているのか調べている。

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(Salix bakko K,)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。ヒトSRY(Dr.P.Goodfellow, ICRF,Londonより供与)をプローブとして、最終的に4種類のクローン(SB10,SB12,SB17,SB18)を選抜した。得られたDNA断片の塩基配列は全て異なり、ヒトSRYに対する相同性(約45-65%)も様々であった。そのうち、ヒトSRYに最も高い相同性を示すSB 10では、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。しかし、その転写産物の存在を通常のノーザン法により検討したが、雌雄の初生葉、雄花、雌花、雄ずい、雌ずいで全く検出できなかった。SB12に対する転写産物は、雄花でのみ特異的に検出することができた。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、さらにこれらDNA塩基配列を持つ遺伝子の発現特性を詳細に検討している。

## 1pI07

イネのエネルギー代謝関連遺伝子群の冠水ストレスに対する発現応答

梅田正明、内宮博文（東大・分生研）

エネルギー代謝に関与する遺伝子群は、様々な外的ストレスに応答して協調的な発現制御を行ない、細胞内のホメオスタシスを維持しているものと考えられる。我々は、イネのcDNAのrandom sequencingによって、エネルギー代謝関連遺伝子を多数単離することに成功している。そこで、これらのcDNAをプローブとして用いて、冠水条件下での解糖系とアルコール醗酵の遺伝子の転写産物量を、Northern hybridizationによって解析した。

冠水ストレス開始後の経時的な変化を調べたところ、10時間後に転写産物量が最大になる遺伝子群(Type I)と、24時間後に最大になるaldolaseやpyruvate kinase(Type II)の２タイプに分けられることが明らかになった。Type Iの遺伝子群は、好気的条件に移したりシュートの先端を水面上に出した時に発現量が低下するので、低酸素分圧下で誘導される遺伝子群であると考えられる。さらに、浸水耐性のイネ品種について同様な解析を行なったところ、Type Iの遺伝子群の中でも、glucosephosphate isomerase, phosphofructokinase, glyceraldehydephosphate dehydrogenase, enolaseの発現量が冠水ストレスによって顕著に増加することが明らかになった。以上の結果から、嫌気的条件下でのエネルギー代謝の活性化には、解糖系に関与する複数の遺伝子の発現誘導が必要であると考えられる。

## 1pI08

イネ Nucleoside Diphosphate Kinase の発現解析

矢野　明、サマラジーワ、内宮博文（東大、分生研）

我々はイネカルス由来の cDNA ライブラリーから Nucleoside Diphosphate Kinase （NDK）をコードする cDNA rNDK を単離しその塩基配列を決定した。rNDK を pGEX-2T ベクターに組み込み GST との融合タンパク質として大腸菌で発現させた。このタンパク質をグルタチオンカラムを用いて精製し、ATP から各種のヌクレオチド二リン酸へのリン酸の転移反応を測定した。その結果 ATP のγ位のリン酸を GDP, CDP, TDP, UDP に転移し、ADP と GTP, CTP, TTP, UTPを生成する活性を有することが判明した。本タンパク質のポリクローナル抗体を得、植物体における NDK の存在をティッシュプリント法により調べた。その結果組織全体で発現が確認されたが維管束組織での発現が弱い事が明らかになった。

## 1pI09

トウモロコシ、プラスチド型グルタミン合成酵素遺伝子の発現調節機構の解析

榊原　均、小林香子、杉山達夫（名古屋大・農）

高等植物において硝酸同化の結果生ずるアンモニアは、主にプラスチド型グルタミン合成酵素(GS2)によって同化される。GS2遺伝子は硝酸還元酵素(NR)と同様に硝酸を一次シグナルとして認識すると考えられるが、両遺伝子の発現調節機構がどこまで共有されているのかについてはよくわかっていない。そこで今回GS2遺伝子を中心に解析を行なった。低い窒素栄養状態(0.8ｍＭ硝酸、2週間)で生育させたトウモロコシの切取り葉に16ｍＭ硝酸塩を与えるとGS2,NRm RNAは顕著に蓄積された。アンモニア添加にはこの様な効果がなかったことから硝酸塩に特異的な応答であると考えられる。またC4光合成遺伝子(PEPC, CA)で報告されているようなサイトカイニンの必要性は観察されなかった。この硝酸による誘導は蛋白質合成阻害剤であるシクロヘキシミドでは抑制されなかったが、プロテインホスファターゼ(PP1,PP2A)の阻害剤であるオカダ酸(0.2μM)で抑制された。現在このリン酸化、脱リン酸化の影響についてさらに解析を行なっている。これらの結果についても報告する予定である。

## 1pI10

**トウモロコシのグルタミン酸脱水素酵素（ＧＤＨ）ｃＤＮＡのクローニングとその発現様式の解析**

**藤井和俊、榊原 均、杉山達夫 （名古屋大・農・応用生物科学）**

**グルタミン酸脱水素酵素（ＧＤＨ）は、アンモニアの同化に関与すると考えられているが、高等植物での生理的な機能については不明な部分が多い。本研究では、ＧＤＨの機能を遺伝子発現の上から理解するために、ＧＤＨｃＤＮＡの単離を試みた。**

**イネのｃＤＮＡライブラリーより得られた、ウシＧＤＨとホモロジーのあるクローン（農水省イネプロジェクトより分与）をプローブとして用い、トウモロコシ根のｃＤＮＡライブラリーよりスクリーニングを行った。その結果最長2.0kbを含む複数個の陽性クローンが得られた。塩基配列を決定したところ、その予想アミノ酸配列は、他の生物種のＧＤＨと有意な相同性を示した。さらに、トウモロコシ根より精製したＧＤＨのリシルエンドペプチダーゼ分解産物の部分アミノ酸配列順序と一致する領域が存在した。**

**ノーザン解析によりトウモロコシにおける器官特異性、細胞特異性を調べたところ、緑葉組織よりも根組織でｍＲＮＡの蓄積が多くみられた。緑葉組織においては、その蓄積は維管束鞘細胞に特異的であることが分かった。これらｍＲＮＡの発現は、ＧＤＨ活性の分布と一致するものであった。**

## 1pI11

トウモロコシの炭素同化系と窒素同化系遺伝子発現におけるクロストーク機構の解析

榊原　均、S.C.Huber[1]、鈴木石根、出路篤、杉山達夫
（名古屋大・農、[1]North Carolina State Univ.）

C4植物型ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ(PEPC)と硝酸還元酵素(NR)はそれぞれ炭酸同化および硝酸同化の第一反応を触媒する。両者は代謝経路の上では離れているが、近年、光などのシグナルに対しそれらの発現は翻訳後修飾を含め密接な調節機構下にある可能性が示唆されている。今回我々は窒素(N)に対する両者の発現調節の関わりに着目し以下の実験を行なった。

N欠乏状態のトウモロコシへの硝酸投与によるN回復過程でNRとPEPCの誘導様式を経時的に調べたところ、NR活性はPEPCmRNAの増加に先んじて誘導された。この過程で細胞内のグルタミン(Gln)プールは有意な増加を示した。N欠乏状態の切取り葉へGln(10mM)を投与すると、PEPCmRNAの蓄積量の増加に対しNRmRNAは減少した。さらに窒素回復過程におけるPEPCmRNAの優先的蓄積はシクロヘキシミド(CHX)およびオカダ酸により抑制された。CHXはGlnの蓄積を阻害しなかったことから、PEPCmRNAの蓄積にはGlnプールサイズ増加後のステップに何らかの蛋白質合成が関与しているものと考えられる。

## 1pI12

β-コングリシニン遺伝子を利用した植物のイオウ栄養に応答した遺伝子発現制御機構の解析

藤原　徹, 平井優美, 松井章房, 茅野充男(東大・農・農化), Philip A. Lessard (Monsanto), Roger N. Beachy (Scripps研), 内藤　哲（北大・農・応生）

植物の栄養条件に応答した遺伝子発現制御の研究は栄養応答の理解に必須である。ダイズ種子貯蔵タンパク質β-コングリシニンβサブユニットはイオウ栄養によって発現制御が起こることから、植物のイオウ栄養に応答した遺伝子発現機構の解析の材料として適している。

演者らは形質転換植物を利用してβサブユニット遺伝子プロモータ:GUS融合遺伝子がイオウ栄養による制御を受けることを明らかにしてきた。本講演ではイオウ栄養に対する応答に必須なプロモータ領域の解析を行ったので報告する。プロモータ領域の5'欠失変異を作成しGUSをレポータ遺伝子としてシロイヌナズナに導入した。形質転換植物をメチオニンを高濃度に蓄積する変異株mto1-1と掛け合わせることによってメチオニンによる発現抑制、硫酸欠乏で水耕栽培しイオウ欠乏による発現誘導性を解析した。転写開始点上流-442塩基まで欠失させたプロモータはメチオニンによって発現抑制され、-307塩基まで欠失したものではイオウ欠乏に反応して種子でのGUS活性を10倍程度上昇させた。これらの領域にはダイズ種子に見られるDNA結合因子SEF4が結合することからこの因子の活性のイオウ栄養による変化、ダイズのイオウ栄養に応じた生理的変化についても報告する。

## 1pI13

ダイズ種子貯蔵タンパク質遺伝子発現のイオウ栄養応答

平井（横田）優美、藤原徹、内藤哲[1]、茅野充男
（東大・農・農化、[1]北大・農・応用生命科学）

ﾀﾞｲｽﾞ種子貯蔵ﾀﾝﾊﾟｸ質の１つである7Sﾀﾝﾊﾟｸ質βｻﾌﾞﾕﾆｯﾄは、ﾀﾞｲｽﾞ植物体を$SO_4^{2-}$欠乏(S欠)条件で栽培すると蓄積量が増加する。演者らはこの機構を解明するため、βｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子ﾌﾟﾛﾓｰﾀｰ領域とβ-ｸﾞﾙｸﾛﾆﾀﾞｰｾﾞ(GUS)構造遺伝子との融合遺伝子を導入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て研究を行っている。水耕栽培による生理学的実験から、培地の$SO_4^{2-}$濃度低下に伴ってﾄﾗﾝｽｼﾞｪﾆｯｸ・ｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽの種子のGUS活性が上昇すること、及びこのS欠応答反応は可逆的であることを明らかにし、1993年度年会にて報告した。ﾀﾞｲｽﾞなどいくつかの植物ではS欠栽培による植物体内の窒素化合物含量・組成の変化が知られている。またS欠という条件は相対的な窒素過剰条件とも考えられる。外部環境のS欠というｼｸﾞﾅﾙをﾀﾞｲｽﾞあるいはｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽがどういう形で感知しているのかを明らかにする目的で、このﾄﾗﾝｽｼﾞｪﾆｯｸ・ｱﾗﾋﾞﾄﾞﾌﾟｼｽを用いて培地の$NO_3^-$濃度に対するGUS活性の応答を調べた。水耕栽培の培地の$SO_4^{2-}$濃度を一定にして$NO_3^-$濃度を欠乏、通常、過剰条件に変化させると、ある濃度範囲においては$NO_3^-$濃度の低下に伴ってGUS活性が低下することが確認された。このことからβｻﾌﾞﾕﾆｯﾄ遺伝子発現には培地の$SO_4^{2-}$と$NO_3^-$の濃度比が影響を与えている可能性が示唆された。

## 1pI14

トウモロコシ亜硫酸還元酵素のタバコでの発現

米倉圭子、芦刈俊彦、久住高章、井手口隆司[1]、明石哲行[1]、長谷俊治[1]（サントリー基礎研究所、[1]大阪大　蛋白研）

植物において、硫黄は1次代謝、2次代謝産物の生合成及び補酵素の合成に必須な成分である。われわれは、同化的硫酸還元系の酵素の1つである亜硫酸還元酵素（SiR）に着目し、このSiRの植物体内での存在量の変化や改変体の発現により引き起こされる植物の応答を解析しようと試みている。本研究ではその1つとして、すでにクローン化したトウモロコシSiR前駆体をコードするcDNAをCaMV 35Sプロモーター制御下に、センス及びアンチセンスの方向で連結したバイナリーベクターを構築し、タバコに導入した。それぞれのトランスジェニックタバコの粗抽出物をトウモロコシSiR抗体を用いてウエスタンブロット法で解析したところ、センス方向の形質転換体にのみ、トウモロコシSiRの成熟蛋白質と一致する約65kDaのバンドを検出した。また、この分子の細胞内局在性は、葉緑体ストロマであることを確認した。しかしながら、いずれのトランスジェニックタバコにおいてもSiR活性の大幅な増加は認められなかった。目下、その原因を調査中である。

# 一般講演

## 第２日　３月29日（火）

一般講演

第2日　3月29日（火）　午前の部

A会場　遺伝子構造（1）
B会場　光合成（4）
D会場　環境応答（3）
E会場　オルガネラ（2）
F会場　成長制御（1）
G会場　情報伝達（1）
H会場　光合成（5）
I会場　遺伝子発現（3）

## 2aA01

アラビドプシス染色体の領域特異的なcDNAライブラリーの作製法の開発　林田信明、鷲見芳輝[1]、和田忠士[1]、半田宏、御崎一雄（理研・植物分子生物、[1]東工大・生命理工）

モデル植物であるアラビドプシスでは、詳細な遺伝子地図の作成やコンティグの作成、YACクローンのマッピングなどのゲノム解析が進んでいる。またYAC、コスミッドおよびP1ファージベクターを用いていくつものライブラリーが作られ、多くの研究室で遺伝子歩行が行われている。ランダムに末端配列を決定するcDNAプロジェクトも開始されているが、特定のゲノム領域から発現した遺伝子のcDNAを体系的かつ効率的に選択する方法の必要性も指摘されている。今回我々は、ラテックス粒子に共有結合したYACのDNAを用いてcDNAを選択し、領域特異的なサブライブラリーを作成する試みを行ったので報告する。ラテックス粒子は物理化学的に安定で、非特異的吸着が少なく、安価であり、DNAとの結合も容易な、新しい担体である。実際のサブライブラリーの作成に先立ち、モデル系を用いて条件検討を行い、良好な結果を得た。つぎに、第５染色体にマップされるEG10D9というYAC-DNAを結合したラテックス粒子を用いて、PCRによって増幅したcDNAを選択し、再び増幅ののちλベクターを用いてクローニングした。得られたサブライブラリーには、EG10D9領域に由来すると思われるcDNAが1000倍以上に濃縮されていた。現在、そのcDNAを解析中である。

## 2aA02

シロイヌナズナのサイクロフィリン／ペプチジル-プロリルイソメラーゼ遺伝子のクローニングと構造解析
中川　強、斉藤　武[1]、芦田裕之、川向　誠[1]、落合英夫[1]
松田英幸[1]（島根大・遺伝子、[1]島根大・農・応用生物機能）

サイクロフィリンは免疫抑制剤サイクロスポリンＡの細胞内結合タンパク質であり、動物細胞ではサイクロフィリン・サイクロスポリンＡ複合体がタンパク質フォスファターゼ２Ｂを阻害して免疫抑制を行うことが知られている。またサイクロフィリンはペプチジルプロリルイソメラーゼであることでも知られており、細胞中でタンパク質のプロリンイミド結合のシス-トランス異性化を触媒し高次構造形成の補助を行なっていることが推察されているが、正確な機能は明らかにされていない。サイクロフィリンは微生物から動植物にいたるまであらゆる生物に存在し、また細胞の様々な区画に特異な分子種が局在している。我々は植物のサイクロフィリンの構造や性質、細胞における機能を解明することを目的にシロイヌナズナのサイクロフィリン遺伝子のクローニングを進めてきた。既知の植物サイクロフィリンの配列をもとにしてＰＣＲによりシロイヌナズナサイクロフィリン遺伝子の一部を増幅し配列を決定した。その結果既知サイクロフィリンと高い相同性を有する４種類の分子種が見いだされた。これら断片をプローブとして対応する遺伝子をクローン化した。そのうち２種について周辺の配列を決定したところ、そ１７２および１７４アミノ酸をコードするＯＲＦが存在していた。それぞれの相同性は７６％であった。両者とも移行シグナルが見られず、細胞質で働いている分子種であると考えられた。

## 2aA03

ジャスモン酸メチルによって誘導される
サツマイモのタンパク質イポメリンの構造と遺伝子発現
今西俊介、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、塊茎形成促進などの生理活性を持ち、傷害誘導性遺伝子などの発現を誘導することが知られている。我々は、ジャスモン酸メチル(M-JAS)の蒸気処理によりサツマイモ幼植物体の葉において約20 kDaのタンパク質の大量の蓄積が誘導されることを見いだしているが、今回このタンパク質（イポメリン）のほぼ全鎖長のcDNAを単離しその発現を解析した。

イポメリンcDNAは726bpの長さで154アミノ酸残基よりなるポリペプチド鎖をコードし得るORFを含んでいた。イポメリン前駆体のＮ末端にシグナルペプチド様配列は存在せず、そのアミノ酸配列はイネの塩ストレスと乾燥に応答する*salT*タンパク質と34%の相同性を示した。またイポメリン前駆体のＣ末端側70残基はバ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前駆体のGal結合部位を含むＣ末端側70残基と50%の相同性を示した。

サツマイモ各器官におけるイポメリンmRNAを調べた結果、葉においてのみ構成的なmRNAの蓄積が見られた。また、幼植物体のM-JAS蒸気処理により葉におけるmRNA量は約100倍となったが、葉以外の組織においては顕著なmRNAの誘導は見られなかった。

植物体より切断した葉－葉柄部に種々の濃度のM-JAS水溶液を吸わせたところ、$5\times10^{-5}$Mでイポメリンの誘導はピークとなり、ジャガイモの傷害誘導性遺伝子であるプロテアーゼインヒビターなどのM-JAS誘導における濃度依存性と類似していた。また、葉に傷害を加えるとイポメリンmRNAの誘導が見られた。これらのことからイポメリンのM-JASによる誘導は傷害応答反応を反映し、イポメリンは何らかの植物の自己防御機能を担うタンパク質であると推定された。

## 2aA04

ニセアカシアレクチン遺伝子のクローニング
吉田和正、田崎清（農水省　森林総研）

レクチンは特定の糖鎖構造を認識し結合するタンパク質である。マメ科落葉広葉樹であるニセアカシア（*Robinia pseudoacacia*）の内樹皮と種子には、それぞれ免疫学的に異なったレクチンが存在する。種子レクチンは種子の成熟にともなって合成されるのに対し、内樹皮レクチンの合成は季節的な制御を受けている。内樹皮レクチンの遺伝子の季節的あるいは組織特異的な発現調節にかかわるシス因子を調べるために、われわれはレクチン遺伝子のクローニングを行い、得られたクローンの塩基配列を決定した。

そのクローンは一つのオープンリーディングフレームをもち、以前に単離した内樹皮レクチンのｃＤＮＡの塩基配列と比較したところ、イントロンは存在しなかった。これはマメ科草本植物の種子レクチンの遺伝子の場合と同様であった。また、ゲノミッククローンから推定されるレクチンのアミノ酸配列は、ｃＤＮＡから推定される配列と８０％のホモロジーがあった。

## 2aA05

### アサガオの絞り模様形成に関与する易変性遺伝子 *a-3$^f$*の構造

久富恵世、稲垣善茂[1]、飯田滋
（東理大・基礎工、東大・薬[1]）

園芸植物として親しまれ、葉や花に関する種々の変異体も分離されているアサガオの中で雀斑（*flacked*）と呼ばれる系統の絞りアサガオのアントシアニン色素生合成系遺伝子の一つであるＤＦＲ（dihydroflavonol-4-reductase）遺伝子中には約6 kbのトランスポゾン *Tpn1* が存在していることを我々は既に報告した。この *Tpn1* が挿入しているＤＦＲ遺伝子が絞り模様を形成する易変性遺伝子 *a-3$^f$* の本体であるか否かを今回分子遺伝学的手法により検討したのでその結果を報告する。

まず絞り花アサガオより全色花を示すようになった生殖細胞復帰変異体（F1）を分離し、さらにこの自殖次世代アサガオ（F2）を得て、これら各個体のＤＦＲ遺伝子領域のゲノム構造を制限酵素切断断片長多型（RFLP）により検討し、各個体の花の表現型と比較した。その結果、2対のＤＦＲ遺伝子中少なくとも一方で、*Tpn1* が脱離していた個体は全て全色花であった。従って *Tpn1* が挿入しているＤＦＲ遺伝子が易変性遺伝子 *a-3$^f$* の本体であると思われる。この *Tpn1* 及びその類縁因子によるトランスポゾンタギングの可能性についても言及する。

## 2aA06

### アサガオのアントシアニン色素遺伝子ＤＦＲ－Ｂの構造

高橋咲子、稲垣善茂[1]、、浅野正寛、飯田 滋
（東理大・基礎工・生物工、[1]東大・薬）

アントシアニン系色素は花の主要な色素の一つであり、その生合成系に関する遺伝子についてはキンギョソウやペチュニア、トウモロコシなどで遺伝学的、生理学的知見が蓄積されている。

アサガオのＤＦＲ遺伝子領域には、ペチュニアのＤＦＲｃＤＮＡの5'領域に相同性のある領域が3箇所（ＤＦＲ－Ａ，Ｂ，Ｃ）存在する。我々は前報において、絞り花（雀斑）アサガオにおいてトランスポゾン *Tpn1* の挿入しているＤＦＲ－Ｂ遺伝子 が絞り模様を形成させる易変性遺伝子の *a-3$^f$* の本体であり、その野生型である *A-3* 遺伝子が花弁の色素生合成に関与するＤＦＲ遺伝子であるということを明らかにした。そこで今回はアサガオのＤＦＲ－Ｂ遺伝子を含む、４．５ｋｂのゲノム領域の塩基配列を決定し、その構造解析を試みた。

その結果、アサガオＤＦＲ－Ｂ遺伝子は６つのエキソンと、５つのイントロンから構成され、プロモーター領域にはこの遺伝子の発現制御に関すると思われるシス配列も見いだされた。これらの結果は、アサガオＤＦＲ－Ｂ遺伝子が偽遺伝子でなく、花弁で機能している遺伝子であることを支持している。また、ＤＦＲ－Ｂ遺伝子と既知のペチュニアやキンギョソウなどのＤＦＲ遺伝子を比較した結果についても報告する。

## 2aA07

### アサガオの易変性遺伝子 *a－3$^f$* 中に見出されたトランスポゾン *Tpn1* の構造

是野敦、稲垣善茂[1]、飯田滋
（東理大・基礎工、東大・薬[1]）

我々は前報において、雀斑（*flacked*）系統の絞りアサガオの易変性遺伝子 *a－3$^f$* の本体が、アントシアニン色素生合成系遺伝子ＤＦＲ－Ｂ中に、トランスポゾン *Tpn1* が挿入されたものであることを明かにした。さらに、*Tpn1* はその末端構造などから、トウモロコシのトランスポゾン *Spm/En* 類縁の因子であることも昨年度本大会で報告した。

今回、*Tpn1* の全塩基配列を決定し、その構造を解析を行った。その結果、*Tpn1* は全長６４１２ｂｐであり、両末端領域の各々０．８ｋｂ及び１．０ｋｂにわたり、*Spm/En* 類縁因子に見られる、転移酵素の結合部位と考えられる構造を有していた。また、*Spm/En* や、その類縁のキンギョソウの *Tam1* などの自律性因子では転移酵素をコードするために特徴的なＯＲＦの存在が知られているが、*Tpn1* はこれにあたる配列を持たなかった。　従って *Tpn1* は、自律性因子の内部欠損型であり、アサガオゲノム中に存在する自律性因子の作用により転移する非自律性因子であると考えられる。

*Tpn1* の転移による体細胞変異の頻度やタイミングは絞り模様の大きさや激しさを決めると考えられ、それらの性質を決定する遺伝因子と *Tpn1* 関連の自律性因子との関係についても論じる。

## 2aA08

### キュウリ子葉からの*hemA*遺伝子のクローニング

田中亮一、中屋敷徹[1]、増田建[2]、井口八郎[1]、辻英夫（京大・理・植物、[1]生物物理、[2]東工大・生命理工・生体機構）

ポルフィリン合成の最初の反応は、高等植物や大腸菌などの細菌においては、glutamyl-tRNA$^{Glu}$のglutamate 1-semialdehydeへの還元である。この反応を触媒する酵素は、高等植物からはまだ精製されていないが、大腸菌など数種の原核生物では*hemA*遺伝子にコードされていることが明らかになっている。

今回、我々はキュウリ子葉から*hemA*のcDNAクローンを得たので報告する。我々は、B. Grimmら(1992, Photosynth. Res. 34: 168)の単離したオオムギ*hemA*から予想されるアミノ酸配列に基づいて、PCRのプライマーを作製し、キュウリ子葉cDNAをテンプレートとしてPCRを行なった。得られたPCR産物をプローブとしてキュウリ子葉より作成したcDNAライブラリーをスクリーニングし、ポジティブなクローンを得た。このクローンの塩基配列は、先に我々が単離したオオムギのもの( R. Tanaka et al. 1993, XV Int. Bot. Congr. P-5060)と相同性が高かった。

## 2aA09

イネのADPリボシル化因子ホモログcDNAの単離と構造解析

肥後健一、肥後ひろみ、岸本直己、斎藤　彰[1]（農水省・生物資源研、[1]農水省・九州農試・作物開発部）

動物や酵母の細胞では、蛋白質のERからゴルジを経てリソゾームへの転送や細胞外への分泌に、多数の低分子量GTP結合タンパク質が関与している。これらはその構造からrab/ypt1/sec4 typeとARF typeに分けられる。高等植物では、低分子量GTP結合蛋白質は約30種類のrab typeのcDNAが単離されているが、詳細な機能解析はこれからである。我々は最近、高等動物や酵母のADPリボシル化因子（ARF）のホモログcDNAをイネ・カルスより単離した。全塩基配列はpoly A部分をのぞいて約1,000bpで、181アミノ酸からなる蛋白質をコードしていた。推定アミノ酸配列は、本研究進行中に報告されたArabidopsisのARFとはわずか4箇所しか相違が無く、また動物や酵母のARFに非常に類似していることから、進化の過程でその構造が非常に強く保存されてきたことが判る。既知のARFに見られるGTP結合領域は3箇所とも保存されている。またmyristoyl化、N-glycosyl化、casein kinase 2及び protein kinase Cによるリン酸化のモチーフは保存されている。ゲノミックＤＮＡのサザン分析によって、イネではArf遺伝子は2コピーあることが判り、RFLP分析によって別々の染色体上にマップされた[1)]。ノーザン分析の結果、Arf遺伝子は培養細胞で発現しているが、幼苗（発芽後2週間）及び登熟期初期の種子（開花後6日）で強く発現していた。1)Kishimoto et al.TAG(1994)in press

## 2aA10

イネFerredoxin-NADP$^+$ reductaseの器官特異的cDNA及びその核遺伝子の構造解析

青木秀之、土山直美、田中國介[1]、井田正二（京都大・食研、[1]京都府大・農・農化）

Ferredoxin-NADP$^+$ reductase(FNR,EC 1.18.1.2)は従来光合成電子伝達系のNADPH生成反応に関与する酵素であると考えられてきた。しかし近年、非光合成器官（根）にも一次構造の異なるFNRが存在し、それが硝酸還元系に関与していることが示唆されている。

我々は、イネ非光合成器官（根）由来のFNR(FNRr)の分子的特性を解明し、光合成器官（葉）由来のFNR(FNR1)との特性を比較した。イネ根及び葉由来のλgt 11 cDNA libraryから、イネ葉FNR抗体を用いて両FNR cDNAのcloningを行った。その結果、昨年発表したFNRr部分配列を含むcDNAに続き、完全長と思われるFNRr cDNA(1394 bp)とFNR1 cDNA(1400 bp)を取得し、それぞれの塩基配列を決定した。また、イネ根と葉よりFNRを精製し、それぞれの Ｎ末端アミノ酸配列も決定した。

イネ根と葉のFNR cDNAにはそれぞれ378個と362個のコード領域が存在し、成熟タンパクの相同性は49 %であった。しかし、イネFNR1と他の高等植物FNR1の相同性は80 %以上である。このことから、FNRは種間による相違よりも、器官特異性が高い酵素であることが判明した。1)

また、両FNR cDNAをprobeとして、イネEMBL 3 genomic libraryより、ゲノムDNAをcloningした。その結果、FNRゲノムクローン(15-20 kb)をそれぞれ数個取得し、それらの解析を行った。サザン解析によって、FNR1とFNRrのゲノムクローンはそれぞれシングルコピーのFNR遺伝子に由来することが判明した。

1) H.Aoki and S.Ida(1994)Biochim.Biophys.Acta. in press.

## 2aA11

イネ器官特異的フェレドキシンcDNAとその遺伝子のクローニング

土山直美，梶原寛之，大森健司，井田正二，田中國介[1]（京大・食研，[1]京都府大・農化）

高等植物のフェレドキシン（Fd）は，その一次構造やcDNA塩基配列の解析から，光合成器官のみならず非光合成器官にもisoformsとして存在することが知られている。しかし後者のFd isoformの機能は不明である。最近我々は，イネ根フェレドキシン－NADP$^+$ レダクターゼ（FNR）cDNAの構造を解析し，光合成FNRとは異なる遺伝子産物であること，そのmRNAの発現は$NO_3^-$によって誘導されることを報告した。[1)] これらのことから，イネ根Fdもまた$NO_3^-$誘導性のisoformであり，光合成Fd遺伝子の発現・制御とは異なることが推定される。この可能性を実証する目的で，イネFd isoform cDNAsとそれらに対応するゲノムDNAのクローニングを行った。

イネFd cDNAsは$NO_3^-$誘導緑化幼植物から調製したλgt 11バンクから，オオムギ葉Fd抗体を用いてクローニングした。イネ根Fd cDNAの塩基配列から推定される成熟蛋白質の一次構造はイネ葉Fdのそれと約60％の相同性がある。後者は既に報告されているオオムギ，コムギ，トウモロコシの葉Fdとは90％以上の相同性が認められる。イネ根Fd cDNAに対応する遺伝子は現在解析中である。

1) H. Aoki and S. Ida (1993) BBA, in press.

## 2aA12

イネ科植物ミトコンドリアゲノムの葉緑体配列の変動性

渡辺奈津，中園幹生，堤　伸浩，平井篤志（東京大・農・農業生物）

高等植物のミトコンドリアゲノムには葉緑体ＤＮＡから転移した断片が含まれている。イネ(*Oryza sativa*)では16の断片が含まれているが、そのうち*rps19-trnH-rpl12-rpl23*を含む断片と*ψrpl23-rbcL-atpB-atpE-trnM-trnV*を含む断片は葉緑体ゲノム上で26kb以上も離れているにもかかわらず、ミトコンドリアゲノム上では*ψrpl23*を介してつながっている。塩基配列の解析から前者はイネとトウモロコシが分岐する以前に、後者は分岐した後にミトコンドリアに転移したことが明らかになった。そこで他のイネ科植物を調べてみると、前者の断片はコムギを除く調べたすべてでミトコンドリアＤＮＡに存在した。さらにミトコンドリアと葉緑体の*rps19*側の境界部分の塩基配列が同じであることから、この断片はイネ科植物成立のかなり初期に葉緑体からミトコンドリアゲノムへ転移したことが示された。しかしこの断片の反対側は植物により異なっており、これらの葉緑体相同配列がミトコンドリアゲノムの中で変動性に富むことが明らかになった。またこの変動性が高等植物のミトコンドリアゲノムの構造を複雑にしている原因の一つと考えられる。

## 2aB01

RuBisCOが示すfalloverの可逆反応解析と
そのモデルによる検証

村山　寛、和田野　晃[2]、横田　明穂[1]（[1] 地球環境研 RITE,[2] 大阪府大　農化）

RuBisCOは反応直後の高い活性が反応の進行に伴いゆるやかに低下し、数分で定常状態となる二相性の反応を示す。この活性の折れ曲がりはfalloverと呼ばれ、その原因にはインヒビター（主にXuBP）によるとする説とタンパク質機能形態変化によるとする説の２つの考えが示されている。

falloverのそれぞれの原因について理論的に検討するため、RuBisCOのfalloverモデルを構築した。機能形態変化モデルではモデルのシュミレーションと直接測定した活性のTime courseの実測値とがよく一致した。また、形態変化の逆反応速度を実測し、速度定数を約0.07($m\ in^{-1}$)であると求めた。これとは別に構築したインヒビターによる阻害モデルでは、触媒部位において生成したXuBPは同部位に対して非常に強い親和性を示すと仮定するとモデルのシュミレーションは実測値とうまく適合した。しかし、この仮定はfalloverの逆反応がほとんど起こらないことを意味し、実測の結果とは合わない。従ってインヒビターによる阻害モデルでは実測を再現出来ない事になり、falloverの原因は機能形態変化によると結論した。

## 2aB02

ラン藻光合成の$CO_2$濃度変化に対する調節機構について

佐藤良平、姫野道夫、和田野晃（大阪府大・農・農化）

光合成速度は$CO_2$濃度変化に依存して変化する。高等植物ではこの変化をRuBisCOのキネティックスと光合成炭素還元サイクル（PCRサイクル）の中間代謝物濃度変化により説明している。高等植物と同様に酸素発生型の光合成を営んでいるラン藻では中間代謝物濃度に関する研究が進んでおらず、このような考察を行うことは不可能であった。そこで、ラン藻における光合成の$CO_2$濃度変化に対する調節機構を明らかにするために、ラン藻*Synechococccus* PCC7942を用いて$CO_2$濃度変化に対するPCRサイクル中間代謝物濃度変化を調べた。その結果、中間代謝物濃度は高等植物と似た挙動を示すことが明らかとなり、ラン藻でも同様に光合成速度が中間代謝物レベルの調節を受けている事が示唆された。ところが高等植物と異なり、高$CO_2$濃度下でもリブロース1、５－ビスリン酸（RuBP）濃度はRuBisCO活性部位濃度の約20倍までにしか減少せず、RuBisCO活性を律速しているとは考えにくい。また、この濃度比は5%$CO_2$環境下で培養した細胞で約5倍まで減少した。我々は、この濃度比の差はラン藻RuBisCOが局在し、培養時の$CO_2$濃度によりその性質が変化すると考えられているカルボキシソームに起因すると仮定した。そこでカルボキシソームと可溶化したRuBisCOをそれぞれ調整し、RuBPに対するKm値を測定したところ両者に差が見られた。

## 2aB03

藻類の光合成$CO_2$固定関連チオール酵素の活性調節機構

武田　徹、岡本　剛、石川孝博、重岡　成、平山　修（近畿大・農・食栄）

高等植物の光合成$CO_2$固定関連酵素であるフルクトース-1,6-ビスホスファターゼ(FBPase)、$NADP^+$-グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH)およびリブロース-5-リン酸キナーゼ(Ru5P-K)はフェレドキシン-チオレドキシン系を介した光還元力により活性化される。低濃度の$H_2O_2$はこれらチオール酵素を容易に酸化失活させ、その結果$CO_2$固定が停止する。我々はこれまでに、単細胞真核藻類のEuglena、Chlamydomonasおよびラン藻 Synechococcus PCC7942、Synechocystis PCC6803の光合成$CO_2$固定は $H_2O_2$ に対して耐性を有すること、そしてその耐性はチオール酵素の$H_2O_2$耐性に依存していることを明らかにした。また最近、Euglena葉緑体のFBPaseは 高等植物のそれと異なり光還元力による活性調節を受けないことを明らかにしている。そこで今回、藻類のチオール酵素に及ぼす光および DTT、GSHなどの還元剤の影響について検討し、藻類チオール酵素の調節機構を考察した。Euglena、Chlamydomonasおよびラン藻のチオール酵素は全て光による活性化を受けなかった。40000 luxの光照射を行ったホウレンソウ葉葉緑体の チオール酵素はDTTおよびGSHにより活性化されないのに対し、Euglena、Chlamydomonas葉緑体およびラン藻のチオール酵素はDTTにより顕著に活性化され、GSHにおいても1.2～1.5倍の活性化が認められた。

## 2aB04

トウモロコシ葉における凍結融解により誘引されるホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼとリブロース　1、５－ジリン酸カルボキシラーゼの不活化と分解について

臼田秀明、下河原浩介（帝京大、医）

トウモロコシ（２４日目の個体）の第２葉を凍結融解処理（液体窒素で凍結した葉片を26°Cで濡れたろ紙の上で融解させる）すると、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ(PEPC), リブロース　１、５－ジリン酸カルボキシラーゼ(RuBPC)を含むいくつかの酵素は急速に不活化、分解された。

１）不活化と分解は擬１次反応

２）50%の不活化に要する時間:PEPC (3.2分),RuBPC (2.4分)

３）融解開始10分後の残存活性には酵素間で大きな差異: RuBPC (7%), PEPC (16%), hydroxypyruvate reductase (54%), Cyt *c* oxidase (64%), NADP-malic enzyme (97%), α-mannosidase (98%).

４）融解開始30分後の残存量にも大きな差異: 可溶性タンパク (61%), RuBPC 大サブユニット (2%), RuBPC 小サブユニット(16%), PEPC (8%), NADP-malic enzyme (66%).

５）凍結融解処理により誘引されるPEPCの不活化は葉齢が増すに従って速くなった。

植物におけるタンパク質分解の過程は未解明の問題が残されている。上記の結果をそれらとの関連で考察する。

## 2aB05

*Spartina anglica* および*Zoysia japonica* のホスホエノ-ルピルビン酸カルボキシキナ-ゼの精製と性質

松葉恭一、今泉信之、鮫島宗明[1]、金子誠二、大杉立[1]
（ジャパンタ-フグラス、[1]農水省・生物研）

イギリスの海岸に自生するC4植物の*S. anglica* は*Z. japonica*（ノシバ）と同様PCK型のサブタイプに属するが、例外的に低温下でもC4光合成を駆動させることが知られており、本草種ではC4回路関連酵素の低温反応性が優れていることが予想される。両植物の脱炭酸酵素であるホスホエノ-ルピルビン酸カルボキシキナ-ゼの活性、温度反応性を粗酵素液で検討したところ、*S. anglica*の最適温度が10°C程度低かった。次に、同酵素の性質を詳細に比較検討するためBurnell(1986)の方法に準じて精製を試みた。

両植物とも精製段階を重ねるごとに比活性が上昇し、最終標品の比活性は*S. anglica*で26.7、*Z. japonica*で16.7 units / mg proteinとなり、活性は粗酵素のそれぞれ46、98倍となった。精製標品の温度反応性をArrhenius plotで解析した結果*S. anglica*の方が低温における反応性は優れている傾向が認められた。

## 2aB06

クラミドモナスのホスホグリコール酸ホスファターゼ欠損突然変異株を用いた光合成能の改善

鈴木健策（農水省・東北農試・生理生態）

ホスホグリコール酸ホスファターゼ欠損突然変異株（*pgp-1*-18-7F）は明所での生育に高濃度の$CO_2$を必要とし、光呼吸のおこる条件では生育できない。この株に更に突然変異をおこさせることにより大気条件でも生育できる二重変異株を数多く得た。そのうちの16株について比較検討したところ各変異株の光合成特性に顕著な相違が認められ、特に高$CO_2$生育細胞の光合成の$CO_2$に対する親和性に相違が目立った。野生株の高$CO_2$細胞の5倍近く高い親和性を示す株――光合成半飽和$CO_2$濃度（$K_{0.5}$）が7μM前後（40 μM $NaHCO_3$）と著しく小さく、かえって低$CO_2$適応細胞のそれに近い――が6株も得られたが、その一方で$CO_2$に対する親和性が野生株の半分もない株も5株得られた。$CO_2$親和性の高い株はいずれも最大光合成能が野生株より低かったが7 μM $CO_2$における光合成速度は、7FR2N株の38 ± 4 μmol $O_2$ $mg^{-1}$ Chl $h^{-1}$ をはじめ6株とも野生株2137株の22 ± 4 μmol $O_2$ $mg^{-1}$ Chl $h^{-1}$ より高く、これらの株の低$CO_2$における光合成能は明らかに向上していると結論した。また、光合成の$CO_2$親和性には向上は認められないものの最大光合成能と生育速度が野生株より高い株も得られており更に詳細な検討を要する。

## 2aB07

トウモロコシ葉肉細胞葉緑体へのH⁺/ピルビン酸共輸送におけるPEPの役割

青木直大、大西純一、金井龍二　（埼玉大・理・生化）

$C_4$光合成経路において、葉肉細胞葉緑体では、ピルビン酸が取り込まれ、ピルビン酸リン酸ジキナーゼでPEPに変換され、PEPが放出される。ピルビン酸は、光に依存して能動的に$C_4$植物葉肉細胞葉緑体に取り込まれ、この時、$H^+$と共輸送される種（$H^+$型、トウモロコシなど）と、$Na^+$と共輸送される種（$Na^+$型、キビなど）がある。一方、PEPは、リン酸輸送体で運ばれることが知られている。

今回は、$C_4$植物トウモロコシおよびキビから葉肉細胞葉緑体を単離し、PEP添加に伴う外液のpH変化と、ピルビン酸添加に伴う外液のアルカリ化およびストロマの酸性化に対するPEPの影響を調べた。外液のpHはpH電極で測定し、ストロマのpHは[$^{14}$C]5,5'-dimethyloxazolidine-2,4-dioneを用いたシリコンオイル層濾過遠心法で測定した。

トウモロコシおよびキビの葉肉細胞葉緑体懸濁液にPEPを加えると、暗所でも、光照射下でも、一時的な外液のアルカリ化が見られた。このアルカリ化は、$C_4$植物葉肉細胞葉緑体へのPEP輸送に伴い、$H^+$も輸送されることを示している。このことは、すでに報告されている葉緑体への3-PGA輸送と同様に、PEPは生理的pHでは3価のアニオンであるが、$C_4$植物葉緑体のリン酸輸送体は2価のPEPアニオンを輸送することにより説明される。また、光照射したトウモロコシの葉肉細胞葉緑体では、ピルビン酸添加に伴う外液アルカリ化およびストロマの酸性化が見られるが、PEP存在下では、部分的に抑えられた。

これらの結果から、トウモロコシなどの$H^+$型$C_4$種の葉肉細胞葉緑体では、光照射下でピルビン酸との共輸送により取り込まれた$H^+$は、PEPと共に放出され、ストロマ内のpHが維持されていると考えられる。

## 2aB08

円石藻*Emiliania huxleyi*の光合成および$CaCO_3$生成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）

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）は細胞外殻にココリスと呼ばれる石灰質の結晶を有する。現在約70属200種が知られ、外洋における広範囲なブルームを形成する。また、中世代白亜期において大量の大気中$CO_2$を$CaCO_3$として固定したことでも知られている。

演者らは、これまで円石藻*Emiliania huxleyi*の溶存無機炭素(DIC)固定および利用機構を調べ、1）細胞内に細胞外濃度の約13倍程度のDICを蓄積するが、光合成のDICに対する親和性は単細胞緑藻等に比べ非常に低く、2）光合成におけるカルボニックアンヒドラーゼの関与はないこと等を示した。

本研究では、特にacid-stable fraction（主に光合成産物）への$CO_2$固定(PS)、DIC濃縮(IIC)、$CaCO_3$生成に対する光の必要性について20分間の14C-DICの取り込みをもとに調べ、1）IICはdarkではlightの50%,dark+呼吸阻害剤存在化では25%にまで阻害されたが、2）$CaCO_3$生成はdarkでは影響を受けず、dark+呼吸阻害剤存在化ではlightの60%にまで低下した。また、3）長時間に渡る14C-DICの取り込みを調べたところ、lightでの取り込みが10時間程度直線的に増大したのに比べ、darkでの取り込みは殆ど増大しなかった。

以上より、本種でのDIC濃縮および$CaCO_3$生成は光依存性および非依存性のステップより成り、光依存の過程で生成された物質があれば、呼吸のエネルギーのみによってDIC濃縮および$CaCO_3$生成が行われるものと思われる。

## 2aB09

溶存炭酸ガス測定法の開発とその方法を用いた葉緑体の炭酸ガス取り込みの測定

高橋正昭、島津一樹（甲南大・理・生物）

光合成で固定される炭酸ガスは大気中から細胞質に拡散し、葉緑体膜を透過して反応の場である葉緑体ストロマに到達する。水棲の光合成生物では無機炭素の輸送系を持ち、無機炭素を濃縮して光合成効率の低下を防いでいる。高等植物の無機炭素の輸送濃縮系に関しては藻類のようには十分に研究されていない。本研究では、簡単な溶存炭酸ガスの測定法を開発し、その方法を用いてホウレンソウ葉緑体の炭酸ガス取り込みについて検討した。

ある種のフェノール酸化物の蛍光が$NaHCO_3$の添加により増加することを見い出した。蛍光収率の増加は$NaHCO_3$濃度に比例し、5 mMで無添加に対し1,000倍の増加を示した。蛍光の増加はアルカリ性$NaHCO_3$をアッセイ反応液(pH 6.8)に添加後10～20秒でプラトーに到達するが、カーボニックアンヒドラーゼを共存させるとほとんど遅れがなくなることから溶存炭酸ガスが蛍光収率を高める分子種であることが明らかとなった。*Synechocystis* PCC6803による溶存炭酸ガスの取り込みをこの方法を用いて測定すると、光照射開始後比較的ゆっくりと蛍光が減少して溶存炭酸ガスの取り込みを示したが、光照射を中断しても蛍光のレベルは回復せず、ガス分析から得られた無機炭素の取り込みパターンとは異なる結果が得られた。

## 2aB10

**ラン藻の無機炭素濃縮機構のキネッテックス**

**○和田野晃、松島好見**

**（大阪府立大学・農学部・農芸化学）**

**炭酸ガスにたいする親和性が低いRuBisCOをもつラン藻は、無機炭素を濃縮する機構を備えている。この無機炭素の濃縮は$HCO_3^-$と$CO_2$-ポンプのが関与していると言われている。しかしこれらのポンプの実体は現在不明である。そこで種々の阻害剤および$Li^+$イオンの無期炭酸濃縮機構に対する影響と、$HCO_3^-$と$CO_2$-ポンプ関係を検討した。**

**$CO_2$-ポンプの測定は日本真空のマスフィルター型質量分析機MSQ101にDow Cornigの機能性膜(Silastic Medical Grade Sheeting 0.01inch thick sheet)を備えたセルにより行った。光合成の測定はHANZATECHの溶液用のセルを備えたLeaf Disk Systemにより行った。ラン藻はSynechococcus PCC7942を用いた。**

**50 mM Hepes-Na, pH 8.0中で測定すると、無機イオンの透過に関係する阻害剤の中で、NEM,ウワバイン、プロカイン、ベラパミール、モネンシン、ヘパリンは効果が見られなかった。一方カルモジュリンの阻害剤であるジブカイン、クロルプロマジンはそれぞれ100, 50 μM、$Ca^{2+}$チャンネル阻害剤であるイオノマイシン、ブレニルアミンラクテートは80,50 μMで光合成が阻害された。しかしこれらは$CO_2$-濃縮機構の阻害には、300、150、230、90 μMが必要であった。一方$Li^+$イオンは$CO_2$-濃縮機構を阻害せず$Na^+$イオン共存下ではむしろ見かけ上促進した。**

## 2aB11

**A GENE (*ccmA*) REQUIRED FOR CARBOXYSOME FORMATION IN *Synechocystis* PCC6803**

Teruo OGAWA, Eduardo MARCO[1], M. Isabel ORUS[1], Solar Energy Research Group, The Inst. of Phys. & Chem. Res. (Riken), Wako, Saitama 351-01, Japan and [1]Dept. Biol., Faculty Sci., Univ. Autonoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain

A high $CO_2$-requiring mutant, G7, of *Synechocystis* PCC6803 capable of inorganic carbon ($C_i$) transport but unable to utilize the intracellular $C_i$ pool for photosynthesis was isolated. The mutant does not have any carboxysomes. A clone that transforms the G7 mutant to the WT phenotype was isolated from a WT genomic library. Sequencing of nucleotides in the region of mutation elucidated an ORF, designated *ccmA*, encoding a protein consists of 302 amino acids. Cloning and sequence analysis of the respective G7 gene revealed a T to C substitution that results in a Asp to Gly substitution in the deduced amino acid. The result indicated that the *ccmA* gene encodes a protein essential for the formation of carboxysomes. An ORF encoding a proline rich protein of 271 amino acids was found downstream of the *ccmA* gene but no *ccm*-like genes or *rbc* operon were found in this region.

## 2aB12

*Eleocharis vivipara* における炭酸固定酵素遺伝子の発現とクランツ構造の形態形成との関連性

内野彰、石井龍一、松岡信[1]（東大・農、[1]農水省・生物研）

カヤツリグサ科の水陸両生植物 *Eleocharis vivipara* は、生育環境によって炭酸固定様式を変化させ、陸生型ではC4型、水生型ではC3型の光合成の特徴を示すことが知られている。本実験では、この *E. vivipara* を用いて、クランツ構造の形態形成と炭酸固定酵素遺伝子のC4的発現との関連性を *in situ hybridyzation* によって検討した。

陸生型では、クランツ構造が未発達の若い光合成組織において、ﾘﾌﾞﾛｰｽﾞ-1,5-ﾋﾞｽﾎｽﾌｪｰﾄｶﾙﾎﾞｷｼﾗｰｾﾞの小サブユニットの遺伝子（*rbcS*）が葉肉細胞に発現していた。一方、同じ発達段階の組織にﾎｽﾎｴﾉｰﾙﾋﾟﾙﾍﾞｰﾄｶﾙﾎﾞｷｼﾗｰｾﾞの遺伝子（*pepc*）の発現は観察されなかった。このことから、クランツ構造が未発達の若い光合成組織では、光合成遺伝子がC3的な発現をしていると考えられた。クランツ構造の発達が進むと、*pepc*遺伝子の葉肉細胞特異的な発現が観察され、*rbcS*遺伝子は葉肉細胞にも発現が残るものの、より強くクランツ細胞に発現するようになった。一方、陸生型から水生型（C4→, C3）への変換途中の光合成組織においては、クランツ細胞のサイズが減少して水生型（C3型形態）と同レベルになっているにも関わらず、*rbcS*がクランツ細胞に強く発現していた。これらのことから、*E. vivipara* の陸生型における光合成遺伝子の発現は、水生型と共通のC3的発現をした後、クランツ構造の形成にともなってC4的に変化すること、その一方で、その遺伝子発現はクランツ構造の形態形成とは独立して制御されていることが考えられた。

## 2aD01

活性酸素ストレスによるグルタチオン還元酵素の遺伝子発現

田中　浄, 五十嵐隆夫, 李　増周, [1]別府敏夫、青野光子, 久保明弘
（国立環境研究所・生物、[1]西東京科学大学）

活性酸素生成を伴う環境ストレス（水欠乏、高酸素濃度、強光、低温凍結、二酸化硫黄、マグネシウム欠乏等）下に置かれた植物でグルタチオン還元酵素活性が増加すること、また、この酵素がこのような環境ストレス耐性と強く関わっているという証拠が蓄積してきた。ここでは光合成炭酸固定系を阻害することにより、細胞内の活性酸素濃度を高める効果のあるマグネシウム欠乏下で育成した植物中のグルタチオン還元酵素（ＧＲ）の遺伝子発現について検討した。

ホウレンソウ葉からcDNAライブラリーを作成し、ホウレンソウの葉緑体型ＧＲの抗体を用いてＧＲのcDNAをクローニングした。インゲンを水耕栽培し、マグネシウム欠乏処理した。欠乏植物においてＧＲ、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ等の活性酸素解毒酵素が３－６倍増加した。インゲン葉には少なくとも２種以上のＧＲのアイソザイムが存在することが、DEAE-Toyopearlカラムクロマトグラフィーで明らかになった。両アイソザイムはサブユニットの分子量が58,000と同じであるが免疫学的に異なることが明らかになった。マグネシウム欠乏により何れのＧＲアイソザイムも活性増加した。また、このＧＲ活性増加はＧＲタンパク質とＧＲのmRNA増加を伴うことがウエスタンブロッティング、ノーザンブロッティングで明らかになった。

## 2aD02

ホウレンソウチラコイド膜での CuZn- スーパーオキシドジスムターゼの免疫金標識法による検出

小川健一、金松澄雄[1]、浅田浩二[2]
（京大・理・植物、[1]南九州大・食品工、[2]京大・食研）

葉緑体では、最適な環境下でさえ光化学系Ｉで$O_2$が１電子還元され常に$O_2^-$が生成している。生体にとって有毒な$O_2^-$はスーパーオキシドジスムターゼ（SOD）により$H_2O_2$と$O_2$に不均化消去される。$O_2^-$がカルビン回路の酵素にダメージを与えうることを考えると、SODはその生成部位に局在していることが必要である。ここで我々は、SODが実際にチラコイド膜に局在していることを報告する。

そこで、葉緑体のインタクトな状態を観察できる急速凍結置換固定法を用い、ホウレンソウの緑葉を固定置換した。固定した試料を親水性アクリル樹脂であるLR Whiteに包埋して超薄切片を作成後、葉緑体型CuZn-SODに対する抗体で免疫金標識を行い、透過型電子顕微鏡による観察を行った。葉緑体型CuZn-SOD抗体による金標識はチラコイド膜に沿って観察された。特にグラナチラコイドのストロマに近い部分及びストロマチラコイドのルーメン側とストロマ側への局在が見られた。ストロマ画分の可溶CuZn-SODがチラコイド膜近傍に局在していることは、光化学系Ｉで光生成した$O_2^-$がストロマに拡散する前にSODにより効果的に消去されていることを示している。また、アスコルビン酸ペルオキシダーゼを初めとする$H_2O_2$の消去系酵素もSODの近傍に存在していることが予想される。

## 2aD03

フタバネゼニゴケ培養細胞の細胞質型 Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD) の不活性化

田中克幸、滝尾進、佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

フタバネゼニゴケ細胞はMn-SOD、Cu/Zn-SOD、Fe-SODの３つのイソ酵素を持ち、Cu/Zn-SODは細胞質に局在した。液体培養において１）Cu/Zn-SODは培養中期において失活し、２）その後、細胞の生長に伴い、そのタンパクも分解し、３）これらは、培地中の銅欠乏に起因することを報告している。今回は、このCu/Zn-SOD不活性化の過程における銅の影響を調べ、次の結果を得た。１）失活直後の細胞抽出液中のCu/Zn-SODはSDS-PAGE／イムノブロットから、サブユニットの分子量は活性型酵素と同じであったが、Native-PAGE／イムノブロットでは活性型酵素とは異なる移動度を示した。２）活性型酵素をもつ抽出液に銅のキレーターである10mM diethyldithiocarbamateを添加し、Native-PAGE／イムノブロットすると、１）の不活性型酵素と同じ移動度を示した。３）１）の抽出液に3mM $CuSO_4$を添加すると、Cu/Zn-SOD活性が回復した。以上の結果より、この苔類細胞の銅欠乏によるCu/Zn-SOD失活過程において、タンパクから銅が遊離した不活性型タンパクが存在することが明らかとなった。

## 2aD04

無傷ホウレンソウ葉緑体でのモノデヒドロアスコルビン酸ラジカルの光による生成及び消去

多田孝清、三宅親弘、U.Schreiber[1]、浅田浩二
（京大食研、[1]Würzburg大）

葉緑体光化学系Iで生成したH2O2は、アスコルビン酸(AsA)ペルオキシダーゼ(APX)によって消去され、モノデヒドロアスコルビン酸ラジカル（ＭＤＡ)を生成する。MDAはNAD(P)Hを電子供与体とするMDAレダクターゼ及び、還元型フェレドキシン(Fd)により還元されAsAを再生する。我々は、無傷葉緑体でのＭＤＡの生成と消去をEPRを用いて調べ、またこれに対するのH2O2の効果を調べた。

無傷葉緑体では光照射によってMehler反応で$O_2^-$,H2O2が生成している時でも、ＭＤＡシグナルの増加はみられなかった。またチラコイド膜にAsAとFdを加え$O_2^-$によるMDA生成があるときでも光照射によるMDAの増加は認められなかった。これらのことはMDAが無傷葉緑体で効果的に光によって還元消去され、MDAが集積しないことを示している。一方、暗中でH2O2を加えAPX反応でMDAを生成させて光照射を行うと、ＭＤＡレベルが低下し実際に葉緑体でMDAの光還元を示すことができた。しかし光照射後、MDAの光還元がなくなるとMDAレベルが上昇し、その後不均化反応によって低下した。これはH2O2によりMDAの生成が、おそらくストロマで、誘導されることを示唆している。

## 2aD05

アスコルビン酸非存在下でのアスコルビン酸ペルオキシダーゼの失活機構

三宅親弘、浅田浩二　（京都大、食研）

葉緑体型アスコルビン酸 (AsA) ペルオキシダーゼ (APX) はチラコイド膜上で光生成する$H_2O_2$をAsAを電子供与体として消去する。葉緑体型APXは、細胞質型APX、シトクロム *c* ペルオキシダーゼ (CPX) 及びグアヤコールペルオキシダーゼ (GPX) と異なり、電子供与体であるAsAが存在しないと速やかに失活する。我々は、ホウレンソウから単離したチラコイド膜結合APX(tAPX) を用い、AsA非存在下でのtAPXの失活機構を解析した。

tAPX希釈によりAsA濃度を2 μ M以下にすると、tAPX活性は半減期15秒で失活する。このtAPXの失活は嫌気条件では見られずカタラーゼで抑制されたが、スーパーオキシドディスムターゼはその抑制効果を示さなかった。これらの結果は、2 μ M以下のAsAの自動酸化で生成する$H_2O_2$によりtAPXが失活していることを示唆する。　$H_2O_2$がtAPXを失活させることは、　嫌気条件で$H_2O_2$によりtAPXが失活すること、さらに$CN^-$により$H_2O_2$とAPXとの相互作用を抑制すると、好気条件でもtAPXの失活が抑制されることにより証明された。

tAPXに$H_2O_2$を添加するとCompound-Iのスペクトルが見られ、AsAが存在しないとCompound-IのSoret帯ピークが半減期25秒で消失する。これらの結果は、GPX及びCPXに比べAPXのCompound-Iが電子供与体がないとき非常に不安定であることを示しており、これがAsAが存在しないときの葉緑体型APXの失活の原因と考えられる。

## 2aD06

イネascorbate peroxidaseの組織局在性および水中芽生えの酸素適応時の消長　丑丸敬史、小柴共一[1]、辻英夫（京都大・理・植物、[1]都立大・理・生物）

6日間水中で発芽したイネ(*Oryza sativa*)芽生えでは、6種類の活性酸素消去系酵素の活性は空気中で発芽した芽生えよりも低いが、芽生えを空気中へ移すと増加する (Ushimaru et al. 1992, *Plant Cell Physiol.* 33:1065-1071)。今回は、ascorbate peroxidase (APX)に焦点を当てた。イネ水中芽生えでは、catalase、APX、guaiacol peroxidaseの活性は低く、好気芽生えのそれぞれ10、25、45%であり、空気中へ移すといずれも3時間後には増加が認められ、24時間後には好気芽生えのレベルよりも高くなった。トウモロコシ細胞質局在性APXの抗体 (Koshiba 1993, *Plant Cell Physiol.* 34:713-721) を用いてWestern blotを行なうと、イネ黄化芽生え抽出液から27、29 kDaの2つのアイソザイムが検出され、これらは活性と同様な消長を示した。このAPXアイソザイムは根にも認められた。乾燥種子中にはAPXの活性は検出されないが、superoxide dismutaseなど他の5種類の活性酸素消去系酵素の活性は認められ、Western blotでも同様な結果が得られた。

## 2aD07

**イネカタラーゼcDNAの単離と酸素適応過程におけるその発現**

森田重人、田坂昌生、藤澤久雄、丑丸敬史、辻　英夫
（京都大・理・植物）

低酸素条件下である水中で発芽させたイネ芽生えを空気中へ移すと、SODをはじめとする6つの活性酸素消去系酵素のすべての活性が上昇する(1)。これらの中で最も著しい変化の見られたカタラーゼについて、cDNAを単離し、転写レベルでの発現の変動を調べた。暗所好気下で4日間培養したイネ芽生えからcDNAライブラリーを作成した。既知の植物カタラーゼの配列に基づいてプライマーを合成し、PCRによって増幅したDNA断片を用いてスクリーニングを行った。得られたクローンは，既にイネで単離されているカタラーゼcDNA(2)とは異なるアイソザイムをコードし，トウモロコシ *Cat1* と80.7%の相同性を示した。また、ノザンブロットの結果から、カタラーゼのmRNA量は水中芽生えでは好気芽生えに比べて低いが、これを空気中に移すと上昇することがわかった。

(1)Ushimaru et al. (1992) Plant Cell Physiol. 33:1065-1071
(2)Mori et al. (1992) Plant Mol. Biol. 18:973-976

## 2aD08

亜硝酸共存下でのペルオキシダーゼ反応によるクロロフィルの分解

山下澄子,河野泰久[1],柴田　均（島根大·農·応用生物機能学,[1]鳥取大·医·細菌）

大気汚染物質である二酸化窒素（$NO_2$）による高等植物への可視傷害が指摘されているが、このメカニズムの詳細はいまだ解明されていない。生体内に取り込まれた$NO_2$から生じる亜硝酸塩（$NO_2^-$）の細胞毒性についてペルオキシダーゼ関与の可能性を検討し、フリーラジカルの形成を含むクロロフィル分解のメカニズムを提示する。

セイヨウワサビペルオキシダーゼ（HRP）は$H_2O_2$でCompIを形成し種々の化合物が電子供与体となりCompIIを経由してHRPに戻る。$NO_2^-$がCompI，IIの電子供与であることを確認した。クロロフィルの分解がHRP/$NO_2^-$/$H_2O_2$反応系で生じる$NO_2^-$の代わりに硝酸塩（$NO_3^-$）を添加しても分解は起こらなかった。また、$NO_2^-$，$H_2O_2$，HRP濃度に依存する範囲での標準反応系を確立した。クロロフィルの分解はマンニトールで阻害されず、アスコルビン酸，*p*-ヒドロキシフェニル酢酸，グリシルチロシンやモルホリン，ピペリジンなどのアミン化合物の添加で阻害された。標準反応系で反応後の*p*-ヒドロキシフェニル酢酸、又はグリシルチロシンはアルカリ性条件下で431 nmに吸収極大を示した。葉緑体膜内のクロロフィルも標準反応系で分解された。これらの結果は窒素酸化物由来の$NO_2^-$又は根から吸収された$NO_3^-$由来の$NO_2^-$が、酸化ストレス条件下で生成する$H_2O_2$と共同してHRP反応を介して新たなフリーラジカルを生成し、クロロフィルを分解する可能性を示唆している。

## 2aD09

ラン藻*Synechococcus* PCC 7942の亜硝酸還元酵素活性の$CO_2$制限条件下における不活性化

鈴木石根、杉山達夫、小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

ラン藻*Synechococcus* PCC 7942を、硝酸イオンを窒素源とし、$CO_2$を制限して培養したところ培地中に500～700μMの亜硝酸イオンが蓄積した。一方、$CO_2$が充足した条件下では亜硝酸イオンの蓄積は起こらなかった。17時間$CO_2$制限条件下で培養した細胞の亜硝酸還元酵素(NiR)および硝酸還元酵素(NR)の活性は、$CO_2$充足条件下のそれぞれ25%、50%であった。これらのことから$CO_2$制限条件下では亜硝酸還元反応が硝酸同化の律速段階になっているものと推測された。$CO_2$充足条件で培養した細胞を$CO_2$制限条件下へ移すと、3時間でNiR活性は50%低下したがNR活性の低下は10%以下であった。$CO_2$充足条件下では、リファンピンで転写を阻害してもNiR、NR活性の低下は3時間でそれぞれ15%、10%であった。したがって$CO_2$制限下でのNiR活性の低下は、遺伝子の転写活性の低下やmRNAの不安定化によるものではないと結論された。また$CO_2$制限下で培養した細胞を$CO_2$充足条件に移すと、NiR活性の回復が見られたが、この回復はリファンピシンによって阻害された。これらの結果は、$CO_2$制限条件下ではNiRが不可逆的に不活性化されていることを示している。

## 2aD10

*Chlamydomonas reinhardtii*による$H_2SO_3$取り込みと光阻害

桜井英博、Supreeya POMPRASIRT（早稲田大・教育・生物）

大気汚染物質$SO_2$は植物に大きな被害をもたらすが、その取り込み機構は植物のみならず細菌でも判っていない。また、$SO_2$による光合成系の障害発生と拡大の経過に関しても不明な点が多い。*Chlamydomonas*を材料として、この問題を研究した。

細胞による[$^{35}$S]-$H_2SO_3$の取り込みをシリコン層を通した遠心ろ過法により測定した。同一濃度における取り込みをpH4-7の範囲で測定したところ、pHが低いほど取り込み速度は高かった。取り込みは調べた時間範囲40分までは時間に対して直線的で、飽和濃度以下では途中でpHを上げると取り込み速度は直ちに低下した。取り込み速度の濃度依存性の研究から、取り込みには少なくとも飽和型の取り込み系が存在すること、その$H_2SO_3$に対する親和性はpHが低いほど高いことが示された。[$^{35}$S]-$H_2SO_3$を取り込ませた細胞の抽出液をHPLCにより分析したところ、暗所では$H_2SO_3$の代謝は遅く、明所ではやや速かった。

細胞をpHを変えて$H_2SO_3$とプレインキュベートしたのち遠心により洗い、中性溶液に懸濁して強光照射し、その後の光合成活性を測定した。$H_2SO_3$取り込みと光合成の光失活の程度との間には強い関連が認められ、プレインキュベートのpHが低いほど、また時間が長いほど、その後の光失活が大きかった。取り込まれた$H_2SO_3$があるレベルを超えると、その後の光照射によって防御系の限界を超えた障害が発生すると結論された。

## 2aD11

リン酸化・脱リン酸化によるコマツナ葉硝酸還元酵素の光環境応答

小島道子、杉本敏男、南森隆司、上子善清（神戸大・農・植物栄養）

高等植物の硝酸還元酵素（NR）の活性調節について、NRタンパクの合成・分解によるものと可逆的な修飾によるものが報告されている。我々はコマツナ（*Brassica campestris* L.）葉を短時間明暗処理し、粗酵素抽出液のNR活性とNRタンパク量の変化を調べた。NR活性は20分の暗処理で約30%に減少し、続く20分の光照射でもとのレベルに回復した。この急速な変化は$Mg^{2+}$存在下でNRを活性測定したときに顕著であった。一方、ウェスタンブロッティングによって検出されたNRタンパクバンドに変化は見られなかった。明所で採取したコマツナ葉の粗酵素抽出液をATPおよび$Mg^{2+}$とインキュベートすると、NR活性が減少した。この活性減少はリン酸化の阻害剤であるK-252aによって抑制された。また、暗所で採取した葉の粗酵素抽出液を30℃でインキュベートするとNR活性が増加した。これは脱リン酸化の阻害剤であるカリクリンAによって阻害された。

以上のことから、短時間の明暗変化に応答したNRの急速な活性変化はNRタンパクの合成・分解によるのではなく、NRタンパクの可逆的なリン酸化・脱リン酸化によると結論した。

## 2aE01

タバコ培養細胞の分子量 69kDa 原色素体 DNA 結合タンパク質の cDNA クローニング

本間知夫、清水紀男、松岡英明、根本泰行、高橋陽介[1]、長田敏行[1]（東京農工大・工・応用生物工学、[1]東京大・理・植物）

葉緑体は原色素体から分化するが、その分化の機構は未だよくわかっていない。タバコ培養細胞から単離した原色素体核には分子量 69kDa の原色素体 DNA 結合タンパク質が多量に存在するが、タバコ葉肉細胞より単離した葉緑体核にはこのタンパク質は検出されず、別種の分子量 35kDa の DNA 結合タンパク質が存在する。葉緑体分化の分子機構を明らかにするために、演者らはこれら色素体 DNA 結合タンパク質に着目し、その機能・発現様式を調べている。本研究ではまず、分子量 69kDa の原色素体 DNA 結合タンパク質の遺伝子をクローニングすることを目的とした。タバコ培養細胞 BY-2 より単離した原色素体核を塩処理し、目的タンパク質を色素体 DNA より解離し、SDS-PAGEにより精製・濃縮した。このタンパク質のアミノ酸配列は N 末端は不明だが、第 2 残基から第 13 残基までは順に Ser-Thr-Pro-Ala-Lys-Pro-Ala-Ala-Val-Glu-Pro-Lys であった。また、このタンパク質は V8 プロテアーゼ処理すると、まず 52kDA と17kDa に切断され、さらに 52kDa が 38kDa と 14kDa に切断された。これらペプチド断片のアミノ酸配列から、52kDa が N 末端側であることがわかった。現在合成 DNA を作製し、これをプローブとしてタバコ培養細胞の cDNA より 69kDa タンパク質の遺伝子のクローニングを行っている。

## 2aE02

**タバコ培養細胞BY-2の原色素体DNA結合タンパク質と色素体DNAの結合**

白石達哉、本間知夫、松岡英明、根本泰行（東京農工大学・工・応用生物工学）

**演者らは、タバコの原色素体核及び葉緑体核を比較し、両色素体DNA結合タンパク質の組成が大きく異なることを見出し、これらのタンパク質が原色素体から葉緑体への分化の過程においてどのように関与しているか明らかにすることを目的としている。そこで本研究では、原色素体核中にもっとも多量に存在する分子量69kDaのDNA結合タンパク質に着目し、このタンパク質のサブユニット構造やタンパク質と色素体DNAとの結合様式を調べることにした。タバコ培養細胞BY-2から原色素体核を単離し、これを高塩濃度(2M NaCl)処理あるいは核酸分解酵素(Micrococcal Nuclease: MNase)処理してDNA結合タンパク質を調製した。ゲル濾過法によりこれらのタンパク質の分子量を測定したところ、2M NaCl処理した場合は69kDaのタンパク質が二量体で存在することが示されたが、透析により脱塩した場合、多量体（30量体以上）で存在した。MNase処理した場合も同様に多量体を形成していた。原色素体核を低塩濃度(0.2M NaCl)で処理すると核様体構造は一部変化するが、69kDaタンパク質はDNAと結合したままである。この処理後、MNaseで色素体DNAを処理した場合、69kDaタンパク質はやはり二量体を形成していた。また、このとき残るDNA断片は約100bpであった。すなわち、69kDaのタンパク質は二量体の形で約100bpの色素体DNAと結合し、さらに二量体同士が静電的に結合している構造が推察された。**

## 2aE03

ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の *secA* 遺伝子の単離と発現産物の細胞内局在部位の解析

野原哲矢, 中井正人, 杉田大悟, 遠藤斗志也（名大・理・化学）

ラン藻は原核生物であるが、細胞内にチラコイド膜と呼ばれる独立した内膜系を持っている。したがって、細胞質膜に移行するタンパク質とチラコイド膜に移行するタンパク質は、厳密に仕分けられねばならないが、仕分けに関与する膜透過装置等については、全く分かっていない。

SecA タンパク質は、大腸菌等でタンパク質の細胞質膜透過に関与していることが明らかとされているタンパク質である。われわれは、ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 のゲノム DNA から、SecA 相同遺伝子をクローニングした。この遺伝子より予想される 948 アミノ酸残基からなる SecA タンパク質は、大腸菌の SecA タンパク質とは 43 %、藻類葉緑体 DNA にコードされている SecA タンパク質とは 47-48 % の相同性を示した。サザン解析の結果、SecA 遺伝子は *Synechococcus* PCC7942 のゲノム DNA 上、シングルコピーであることが分かった。細胞分画とウェスタン解析の結果、SecA タンパク質は、主に細胞質ゾルに可溶性の二量体として存在していたが、一部は細胞質膜とチラコイド膜にも存在していた。また、この膜結合型の SecA タンパク質の一部は、膜に深くアンカーして存在していることも明らかとなった。以上の結果は、SecA タンパク質が、ラン藻細胞内では、細胞質膜、チラコイド膜の両方の膜系で、タンパク質の膜透過に関与している可能性を示唆している。

## 2aE04

トウモロコシ・フェレドキシン前駆体の葉緑体への輸送解析

廣橋利哉、藤田祐一、長谷俊治 （阪大・蛋白研）

植物のフェレドキシン(Fd)は、電子伝達体としてプラスチド内で機能している。トウモロコシでは発現様式が葉と根で異なる光合成型のFdIと非光合成型のFdIIIが存在する。両Fdは共に細胞質で前駆体として合成された後、プラスチド内に輸送され、鉄硫黄クラスターが挿入されて、機能しうるホロ型Fdとなると考えられる。

我々は、小麦胚芽抽出物で合成したFdI、FdIII前駆体を用いて葉緑体への輸送の比較解析を行っている。暗条件下では両分子は共にATPに依存して効率よく輸送された。しかし光照射条件下では両者で明確な違いが観察され、FdIは暗下と同様に輸送されたが、FdIIIは大半が葉緑体の包膜に結合し、内部に輸送される効率は非常に低かった。この輸送特性の違いが、両Fd前駆体の延長ペプチド部分あるいは成熟体領域のどちらの構造上の差異に由来するか検討するため、FdIとFdIIIの延長ペプチドを交換した2種類のキメラFd（FdI-III、FdIII-I）を作製し、上に同様の輸送実験を行なった。その結果、FdI-IIIはFdIと、FdIII-IはFdIIIと同じ輸送特性を示すことが観察された。従って光照射条件下でのFdI、FdIIIの輸送特性の違いは延長ペプチドに起因していることが明らかとなった。

## 2aE05

**葉緑体包膜に含まれるＤＮＡ結合タンパク質の分析**

佐藤直樹，吉田真琴，J. JOYARD[1]，R. DOUCE[1]（東京学芸大，生命科学，[1]CENG，フランス）

**若い葉の葉緑体では，葉緑体ＤＮＡ（ｃｐＤＮＡ）が葉緑体包膜に結合していることが，電子顕微鏡或いは蛍光顕微鏡による観察により知られている。ｃｐＤＮＡと包膜の結合は，ｃｐＤＮＡの複製，或いは娘葉緑体へのｃｐＤＮＡの分配に関与していると解釈されているが，明確な証拠はない。サウスウェスタン法を用いた我々の研究により，若い葉緑体の包膜には１３０ｋＤａのＤＮＡ結合タンパク質が存在し，ｃｐＤＮＡの特定の領域と結合することが明らかにされた（EMBO J 12: 555-561, 1993）。ビオチンラベルＤＮＡプローブとアビジン結合磁気粒子を利用したアフィニティ法を用いることにより，このＤＮＡ結合タンパク質をある程度まで濃縮することができたが，量的に極めて少ないタンパク質であるため，完全に精製するには到っていない。この過程で，ｃｐＤＮＡの様々な領域をプローブとしてアフィニティ精製を行うことにより，包膜には，サウスウェスタン法では検出できなかった新しいＤＮＡ結合タンパク質が含まれていることが判明した。包膜に含まれるＤＮＡ結合タンパク質の種類と結合ＤＮＡ領域について報告する。**

## 2aE06

苔類培養細胞の葉緑体DNAのメチル化部位の同定

生田和江，滝尾進，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

我々が分離したフタバネゼニゴケ（*Marchantia paleacea* var. *diptera*）細胞は、暗所でも葉緑体を形成する特徴を持つ。色素体DNAのメチル化の役割を調べるため、暗所培養細胞の葉緑体DNAを3組のメチル化感受性／非感受性イソ制限酵素、*Eco*RII/*Bst*NI、*Msp*I/*Hpa*II、*Mbo*I/*Sau*3AIで切断した。*Msp*I/*Hpa*II、*Mbo*I/*Sau*3AIの2組では切断パターンに違いが見られなかったが、*Eco*RII/*Bst*NIで切断したとき、3.0kbpのバンドが*Eco*RIIにのみ検出された。メチル化遺伝子を同定するため、このバンドを切り出してクローニングし、2種類の形質転換体を得た。挿入されたフラグメントの制限酵素地図と、5'末端の約200塩基の配列をゼニゴケと比較した結果、フタバネゼニゴケの葉緑体DNAのメチル化部位は、*rpoB*と*psbG*のコード領域と同定された。また、これらのフラグメントをプローブとしたサザンハイブリダイゼーションにより、これらの部位のメチル化は葉緑体の一部のゲノムのみに存在することが明らかになった。さらに、ゼニゴケの光従属栄養細胞やフタバネゼニゴケの光独立栄養細胞、また新たに分離した暗所で黄化するフタバネゼニゴケ細胞株の暗所培養細胞でも、同じ部位がメチル化していることが確認された。

## 2aE07

タバコ緑色培養細胞における葉緑体核様体の
新規ＤＮＡ結合性タンパク質のｃＤＮＡクローニング

中野雄司、秋月　岳、佐藤文彦、山田康之（京大・農・農化）

色素体分化における核様体タンパク質の機能解明を目的として、タバコ緑色培養細胞より葉緑体核様体の精製法を確立した。さらにこの核様体はＤＮＡ・タンパク質の両面において核等の混入の極めて少ない高度に精製された試料であることを確認した。この葉緑体核様体タンパク質の２次元電気泳動およびサウスウエスタン法により、塩基性で分子量４１ｋＤのＤＮＡ結合性タンパク質を一種同定した。

*In situ* digestionによってこのタンパク質の内部アミノ酸配列を決定し、そのｃＤＮＡのクローニングを行った。決定した塩基配列をもとに数種のデータベースを検索したが顕著な相同性を示すものは見られなかった。

塩基配列より推定される翻訳領域は５０２アミノ酸からなり、さらに植物体より得られた当タンパク質のＮ末端アミノ酸配列との比較から、そのｃＤＮＡより推定されるＮ末端から１２０アミノ酸はトランジットペプタイドであると考察された。また内部にはリジンが高密度に存在する領域やジンクフィンガーモチーフが見られた。また当ｃＤＮＡ全長ならびに上記のモチーフを順に欠削したタンパク質を大腸菌中に発現させサウスウエスタン法で解析したところ、リジン高密度領域がそのＤＮＡ結合能に関して特に重要であると考察された。またノザン法により当タンパク質ｍＲＮＡの組織別発現量について解析中である。

## 2aE08

ワラビ葉緑体ゲノム上のaccD相同配列の構造と発現－シダ葉緑体における RNA editingの可能性－

江尻成美，山田恭司　（富山大・理・生物）

accD遺伝子は、コケ類や高等植物の葉緑体ゲノムで最近同定された遺伝子である。この葉緑体遺伝子は、大腸菌のaccD遺伝子と相同であり、脂肪酸合成関連酵素Acetyl-CoA Carboxylaseのサブユニットをコードしている。我々は、この遺伝子accDに相同な配列を下等な維管束植物であるワラビの葉緑体ＤＮＡ上に見いだした。ワラビのaccD相同配列について構造と機能発現を調べたところ、この配列は RNA editingによって機能発現している可能性があることが明らかとなった。

ワラビ葉緑体ＤＮＡ上のaccD相同配列は、rbcL遺伝子の 516 bp下流の位置に、258 アミノ酸残基からなるペプチドをコードしうる ORFとして存在していた。予想されるアミノ酸配列は、ゼニゴケ、蘚類の一種、リュウビンタイで報告されているaccD相同遺伝子の場合とそれぞれ高い相同性（いずれも 75-80%）を示した。しかし、ワラビ ORF259 には、次のような特徴があった。(1) 開始コドンにあたる位置には ACGが入っており、その位置から上流にも下流にも ATGやGTG は存在しない、(2) accD相同遺伝子間で保存的なzinc finger モチーフ (C-X2-C-X15-C-X2-C)の配列の中で、二番目のCys(TGN)が Arg(CGT) に変化している。

ワラビ ORF259 の発現を調べるために、前葉体および胞子体から調製した全ＲＮＡに対して、ドット分析およびノーザン分析を行なった。その結果、胞子体ではポジティブなシグナルが得られなかったが、前葉体では極めて微弱なもののシグナルが検出された。したがって、このORF は少なくとも前葉体の時期には転写されている可能性がある。もし発現しているとすれば、RNA editing を受けている可能性が高いので、現在、RT-PCR法によるcDNAの解析を試みている。

## 2aE09

クロマツ葉緑体におけるRNAエディティング

若杉達也、広瀬哲郎、續　伯彦[1]、Hans Kössel[2]、杉浦昌弘
（名大　遺伝子、[1]愛知学院大、[2]フライブルグ大 生物研）

RNAエディティングはmRNA前駆体が塩基置換や挿入・欠失を起こすことにより機能的なmRNAに変換される現象で、被子植物ではミトコンドリアと葉緑体においてC→U（まれにはU→C）変換によるRNAエディティングが起きていることが知られていた。このRNAエディティング機構はコケから被子植物へと進化してくる過程で獲得されたと考えられている。

我々は最近、裸子植物のクロマツの葉緑体ゲノムの全塩基配列（119,707 bp）を決定した。その配列データをもとにして、RNAエディティングが起きていると考えられる部位を検索し、RNAエディティングが予想される部位を多数発見した。それらの部位でRNAエディティングが起きているかどうかを検証するために、クロマツの芽生え（新王子製紙提供）より抽出した全RNAからRT-PCRによりcDNA断片を増幅し、その塩基配列を決定した。その結果、クロマツ葉緑体の8遺伝子中の19ヶ所においてRNAエディティングが起きていることを見いだした。これは裸子植物の葉緑体におけるRNAエディティングの最初の報告であり、このことから、葉緑体のRNAエディティング機構は裸子植物の段階ですでに獲得されていたことが示唆された。

## 2aF02

コムギの１回結実
幸田泰則・木下浩
植物、[1]作物）

ほとんどの作物
後、各個体は老化
は毎年開花結実を
うに１回結実性植
り、茎葉に残存す
るために役立って
A、子実と茎葉の
物質の生成説、の
始直前まで茎葉に
が成り立つ可能性
証明はなされてい
カ）を用いて、１
の究明を試みるこ
茎葉の老化は、
イニンのバランス
茎葉が穂とのサイ
可能性もあるため、
経時的変動を調べ
期に急増したが、
め、この可能性は
ついて検討した結
化促進活性が検出
なった。現在これ

## 2aF03

ダイズ下胚軸切片に
橋本博文、山本興太
学・環境分子生物）

オーキシン作用機
下胚軸切片よりオ
グを行なった。下胚
1時間後に誘導され
ン法によりクローニ
1）。オーキシン処理
Aにベクターへのラ
ら、コントロールか
サブトラクトされて
成した。ｃＤＮＡプロ
レシャルスクリーニン
部分的な塩基配列を
(Crowell & Amasino
あった。ＳＡＭ２２に
きに誘導される遺伝子
てその発現が変動す
ロジーがなかった。
なったところ、これら
に誘導の見られるクロ
ン２個とに分けられた

## 2aE10

**進化的に保存された高等植物色素体のRNA エディッティング部位の解析**

広瀬哲郎、若杉達也、[1]続伯彦、[2]Hans Kössel、杉浦昌弘
（名大・遺伝子、[1]愛知学院大、[2]フライブルグ大・生物研）

高等植物色素体には、遺伝子の発現過程において、転写されたmRNAの配列がDNA上の配列から変化するRNAエディッティングの機構が存在する。今回我々は、双子葉植物のタバコ、裸子植物のクロマツを材料に用いて、色素体遺伝子のRNAエディッティング部位の検索を行なった。RT-PCRにより増幅されたcDNA断片をダイレクトシークエンスすることにより、*petB*においてタバコで１ケ所、クロマツで３ケ所、また*rps14*においてタバコ、クロマツに１ケ所ずつCからUへのRNAエディッティングが起きている部位を見い出した。*petB*においては、タバコのRNAエディッティング部位は、クロマツでも保存されており、共通のアミノ酸置換を引き起こすことが明かになった。クロマツにおける残りの２ケ所は、クロマツでのみ見い出された。一方、*rps14*のRNAエディッティング部位は、タバコ及びクロマツ間で保存されていたが、双方で異なったアミノ酸置換を引き起こすことが明かになった。このことは、高等植物色素体におけるRNAエディッティングが、各部位ごとに進化的に異なった段階で獲得され、ある程度のバリエーションをもって保存されてきたことを示している。RNAエディッティングの組織特異性、RNAスプライシングとの関連性についても併せて報告する。

## 2aE11

緑化過程におけるオオムギプラスチドリボソームタンパク質のコピー数の変動

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）

これまでの研究で、オオムギの細胞質(80S)リボソームのタンパク質構成が、緑化過程において変化することを明らかにした。また前年度の本大会では、その葉緑体(70S)リボソームのタンパク質構成について報告した。今回は、葉緑体リボソームの構成タンパク質について、リボソーム当たりの存在量（コピー数）を測定し、緑化過程における変化を調べたので報告する。

リボソームタンパク質は数が多く、それぞれの電荷が大きく異なるため、ゲル上の染色されたスポットの濃さは、タンパク質の量を反映しない。またラベルを用いても、植物のリボソームタンパク質に均等に取り込ませることは困難である。そこで、$^{14}C$でラベルした大腸菌のリボソームタンパク質を泳動し、アミドブラックで染色して、各スポットの濃さと、スポット中のラベルの値から、タンパク質の量当たりの染色の度合いを調べたところ、塩基性のものほど強く染まる傾向が見られた。この電荷と染色度との相関から求めた検量線を用いて、プラスチドリボソームの構成蛋白質のコピー数を算出し、緑化過程における変動を調べた結果、光照射にともなって増加するものがあることがわかった。

## 2aE12

イネ種子貯蔵タンパク質の集積に対するシグナル配列の役割

増村威宏，高橋一恵，中氏恵美，田中國介
（京府大・農・農化）

貯蔵タンパク質は，植物の貯蔵組織細胞中で特定のプロテインボディへ集積する。この特定部位への方向付けの機構には不明な点が多い。イネ種子においては，デンプン性胚乳中に二種のプロテインボディ（ＰＢ）が存在し，ＰＢ－Ｉにはプロラミンが，ＰＢ－Ⅱにはグルテリンが集積している。本研究では，細胞内での部位特異的輸送に対するシグナル配列の役割を明らかにすることを目的とした。

これまでにクローン化した各種cDNAを用い，シグナル配列にレポータータンパク質（β-glucuronidase）を融合するように，対応する DNA配列を大腸菌プラスミドに組み込んだ人工遺伝子を構築した。これらのDNAを用いて，in vitro 転写／翻訳系（ウサギ網状赤血球ライセート）でタンパク質合成を行った。合成反応の際に，イネおよびトウモロコシより調製した胚乳成分を加え，新生ポリペプチドの輸送を行い，シヨ糖密度勾配遠心法で分画後，SDS-PAGE，ウエスタンブロット分析を行った。その結果，シグナル配列を持たないレポータータンパク質は膜系には輸送されなかったが，プロラミン，グルテリン等のシグナル配列を持つものは細胞内の特定の膜系を認識し輸送された。タンパク質の集積の初期の段階にシグナル配列が細胞内での特定部位への集積に重要な働きをすることが示唆された。現在，イネ培養細胞を用いた一時的発現系においても同様の解析を進めており，それらの結果についても報告する。

## 2aF01

**種子休眠を失ったコムギ突然変異系統の種子胚で失われたタンパク質とmRNA**

川上直人、野田和彦（横浜市大・木原生研）

休眠を持つコムギの系統、北系-1354の種子をEMSで処理し、休眠を失った突然変異系統を選抜した。この突然変異系統では、種子胚のアブシジン酸(ABA)に対する反応性が低下していた。種子胚のタンパク質および$poly(A)^+$RNAの翻訳産物を二次元電気泳動法で解析したところ、正常系統である北系-1354には存在するが、突然変異系統および休眠を持たない品種、チホクコムギの種子胚からは検出されないタンパク質（ポリペプチドe）とそのmRNAを見いだした。このポリペプチドeは、種子の休眠やABAの情報伝達に関わっている可能性がある。北系-1354の種子胚の可溶性タンパク質から、二次元電気泳動によりポリペプチドeを精製した。リジルエンドペプチダーゼにより切断した２つの断片のアミノ酸配列をそれぞれ25および21残基決定した。このアミノ酸配列をもとに縮重プライマーを作成し、RT-PCR法によるcDNA断片の増幅を試みている。

## 2aF02

コムギの１回結実性老化を制御する内生因子について

幸田泰則・木下浩司・高橋肇[1]・喜久田嘉郎　（北大・農・植物、[1]作物）

ほとんどの作物は１年生あるいは２年生であり開花結実後、各個体は老化し枯死する。対照的に多くの多年生植物は毎年開花結実を繰り返すが、個体は老化しない。このように１回結実性植物の老化は遺伝的に決定されたものであり、茎葉に残存する栄養物質を効率的に子実へ取り込ませるために役立っている。この老化の主な原因としては；A、子実と茎葉の栄養競合説；　B、子実による老化促進物質の生成説、の二説つが考えられている。通常、老化開始直前まで茎葉には十分な栄養物質が残存しており、A説が成り立つ可能性は低い。一方、B説に関しても直接的な証明はなされていない。そこで春蒔コムギ（品種ハルユタカ）を用いて、１回結実性植物の老化を決定する内生要因の究明を試みることにした。

茎葉の老化は、老化促進物質とそれを阻害するサイトカイニンのバランスによって調節されていると考えられる。茎葉が穂とのサイトカイニンの競合に負けて老化を起こす可能性もあるため、まず葉及び穂のサイトカイニン含量の経時的変動を調べた。穂に含まれるサイトカイニンは乳熟期に急増したが、葉に含まれる量も同時に増加を示したため、この可能性は否定された。次に老化促進物質の有無について検討した結果、穂の酢酸エチル可溶性分画に強い老化促進活性が検出された。この活性は乳熟期後半に最大となった。現在これらの老化促進物質の単離を試みている。

## 2aF03

ダイズ下胚軸切片におけるオーキシン誘導性遺伝子の単離

橋本博文、山本興太朗[1]（北大・理・植物、[1]北大・地球環境科学・環境分子生物）

オーキシン作用機構の分子生物学的解明のため、ダイズ黄化下胚軸切片よりオーキシン誘導性遺伝子のｃＤＮＡクローニングを行なった。下胚軸の１㎝切片に３０μＭ　ＩＡＡを加え、１時間後に誘導されてくる遺伝子のｃＤＮＡをサブトラクション法によりクローニングした（Aguan et al., PCP 32:1285, 1991）。オーキシン処理を行なったサンプルから調製したｃＤＮＡにベクターへのライゲーション用アダプターを結合させてから、コントロールから調製したｃＤＮＡとハイブリダイズさせ、サブトラクトされて残ったｃＤＮＡを用いてライブラリーを作成した。ｃＤＮＡプローブを用いてこのライブラリーのディファレシャルスクリーニングを行ない、４個のｃＤＮＡ断片を得た。部分的な塩基配列を調べたところ、その中の１つはＳＡＭ２２（Crowell & Amasino, Plant Physiol. 95:711, 1991）と同一であった。ＳＡＭ２２はダイズ培養細胞からホルモンを除いたときに誘導される遺伝子群の１つであり、ホルモン量の変化に伴ってその発現が変動する。その他の３つは、既知の遺伝子とホモロジーがなかった。またノーザンハイブリダイゼーションを行なったところ、これらの遺伝子はオーキシン添加１０分後に既に誘導の見られるクローン２個と、２０分後に見られるクローン２個とに分けられた。

## 2aF04

先端成長細胞におけるＲＧＤペプチドの効果

野末一成, 和田正三（都立大・理・生物）

原形質膜と細胞外マトリックス（ECM）との接着は動物細胞の様々な現象において重要な働きをしている。多くの場合この結合はRGD配列によって介されている。植物細胞においても同様な細胞壁（もしくはECM）と原形質膜との結合があるかどうかを調べるため、先端成長細胞に対するRGDペプチドの効果を調べた。

RGDSは投与量依存的(0-1mg/ml)に*Adiantum capillus-veneris*の原糸体および*Nicotiana tabacum* SR-1の花粉管の、また1mg/mlでは成長中の仮根細胞の先端で細胞破裂を引き起こした。不活性対照であるＲＧＥＳは細胞破裂を引き起こさない。GRGDSPにもまた同様の結果が見られた。先端成長を行わない原糸体ではこれらのペプチドの細胞破裂効果はなかった。

RGD処理をした原糸体では細胞破裂に先立ち、subapical junction（先端成長をする原糸体先端にのみ見られるリング状の原形質膜と細胞壁の強固な接着構造）が失われていた。これらの結果はRGD配列が先端成長において何らかの働きをしていることを示唆している。RGD配列の役割について議論する。

## 2aF05

酸生長下の水輸送

加藤　潔，水野暁子[1]（名大・情報文化・自然情報，[1]日本福祉大）

軸性器官の伸長生長には細胞容積の増大に見合った細胞の水吸収が不可欠である．細胞吸水の駆動力は細胞内外の静水圧差および浸透ポテンシャルの差である．オーキシンによる伸長促進時にはアポプラストカナルの活性化による浸透駆動力の増大が吸水促進の原動力となる．よく知られている酸によって誘導されるいわゆる酸生長時には，細胞壁の不可逆的伸展が原因となって起こる細胞内圧の低下が吸水増大の駆動力であると予想される．

ミトリササゲ胚軸切片を導管灌流しながら酸生長を誘導し，伸長生長，細胞内圧および木部起電活性を同時測定し解析したところ，細胞内圧の低下だけでなくカナルシステムも浸透駆動力を供給して伸長促進に寄与していることがわっかった．

## 2aF06

圧力ジャンプ法によるトウモロコシ中胚軸、成長パラメーターの解析

小川　幹弘、岡本　尚　（横浜市大・文理・生物）

トウモロコシの中胚軸は幼葉鞘を切除後、およそ1時間後、内在性IAAの増加がみられるという報告がなされている（Iino and Carr, 1982)。道管灌流法により、継続的に成長速度を測定したところ切除後およそ100分あたりから成長速度の増加が見られた。これは内在性IAAの増加によるものと考えられる。この状態では外来性IAAに対する効果をみることが不可能であったため、IAAの合成阻害剤であるDimedonを灌流させたところ途中からの成長速度の増加がなくなり外来性IAAに対して４.５倍程度の成長速度の増加をみることができた。外来性IAAに対する成長パラメーターの挙動であるが、IAAを加えることにより、細胞壁の可塑的展性（φ）が、およそ４倍増加した。一方、ロックハートの方程式より算出される実効膨圧（P-Y）はIAAを加えても変化がなかった。これは双子葉植物であるササゲやキュウリにおいてP-YはIAAを加えることにより、増加している報告とあきらかに異なる結果となった。このことから単子葉であるトウモロコシではIAAは専らφの増加を促し、その結果、伸長成長が促進されると考えられる。

## 2aF07

しだれ性のサクラおよびモモにおける、枝の屈曲と細胞壁成分におよぼすＧＡ$_3$、ＧＡ$_4$の影響

中村輝子、早乙女真紀、足立香織、荻原恵美子、尾見知子、武輝美、横山敏孝[1]（日本女子大・理、[1]森林総研・多摩）

昨年の本大会において、しだれ性のサクラ、ヤエベニシダレ（*Prunus spachiana*）の当年枝が、ＧＡ$_3$によりその伸長方向を変えて、上方へ向って伸長するようになること、および枝の最先端の２－３節間の伸長が促進されることを報じた。

今回は、昨年と同様の実験を、しだれ性のモモ、ザンセツシダレ（*Prunus persica*）およびＧＡ$_4$をも用いることにより行った。その結果、ＧＡ$_3$による屈曲阻止現象はザンセツシダレにおいても認められ、この現象がヤエベニシダレにおける特殊な現象ではなく、サクラ属の他の植物においても認められる現象であることが明らかとなった。さらに両植物において、ＧＡ$_3$は枝の基部の細胞壁成分のセルロースをいちじるしく増加させ、リグニンを幾分か増加させることも認められた。一方、ＧＡ$_4$は両植物においてＧＡ$_3$と同様に伸長を促進したがＧＡ$_3$のようなしだれ現象阻止効果は示さなかった。今回の結果により、しだれ性の枝におけるＧＡ$_3$による屈曲阻止現象に、肥大成長部位の細胞壁セルロース含量の増加が関係していることが示唆された。

## 2aF08

ヤマザクラの低温湿層処理および発芽過程におけるＩＡＡとＩＡＭの存在と作用

早乙女真紀、中村輝子（日本女子大・理）

すでに、様々な品種のサクラの成木の頂芽およびヤマザクラ（*Prunus jamasakura*）の黄化幼植物において、ＩＡＡおよびＩＡＭの存在を確認している。サクラの成長過程におけるＩＡＡの作用を明らかにするための一段階として、ヤマザクラを用いて、低温湿層処理過程および発芽過程における内生ＩＡＡ，ＩＡＭ量を調べ、幼植物におけるＩＡＡおよびＩＡＭの作用について検討した。ＩＡＡおよびＩＡＭ量はHPLC, GC-MSを用いて調べた。

ヤマザクラの種子の低温湿層処理期間（３℃、約50日間）に、ＩＡＡおよびＩＡＭの存在を認めたが、それらの含量の大きな変動はなかった。低温湿層処理に続く発芽過程においても、ＩＡＡおよびＩＡＭの存在が確認され、ＩＡＡ量は根や下胚軸の成長にともない増加することが認められた。さらに幼植物におけるＩＡＡおよびＩＡＭ量の分布を調べたところ、両者共に下胚軸の鉤状部に最も多く認められ、伸長停止帯である下胚軸下部では最も少なかった。また、黄化幼植物および連続光下で育てられた幼植物の下胚軸の伸長成長を、ＩＡＡ，ＩＡＭが促進することが明らかとなった。

## 2aF09

トウモロコシ細胞壁蛋白質の代謝・成長調節機能

井上雅裕，[1]ネビンス・ドナルド（愛媛大・理・生物，[1]カリフォルニア大学デイビス校ベジタブルクロプス）

植物細胞壁には細胞壁代謝および細胞成長を調節する多くの蛋白質が存在する。単子葉植物幼葉鞘の細胞壁には細胞壁マトリックス多糖類であるグルカンの自己分解を触媒する数種のグルカナーゼが存在する。トウモロコシの幼葉鞘細胞壁から分離精製したエキソグルカナーゼ、エンドグルカナーゼはそれぞれ異なった分子量（７万５千と３万１～３千ダルトン）を持ち、後者は顕著な糖修飾をうけていた。この両酵素を用いて調製したウサギ抗体は、細胞壁のグルカン自己分解と細胞の成長をともに阻害した。これらグルカナーゼは幼葉鞘の器官に特に多く含まれ、その活性は幼葉鞘の発育にともない早い時期に増加した。これらの結果はトウモロコシ幼葉鞘の成長にグルカナーゼが重要な機能を持つことを示唆している。グルカナーゼ以外の細胞壁蛋白質に関しても研究を行なっている。

## 2aF10

インゲン（*Phaseolus vulgaris* L.）の茎の空洞化現象におよぼす接触刺激とジベレリンの影響

高野　守，高橋　秀幸，菅　洋（東北大・遺伝生態研究センター）

インゲン（*Phaseolus vulgaris* L.）の茎における髄の崩壊による空洞化は，わい化をもたらす接触刺激によって抑制され，それには，接触刺激によって生成が誘導されるエチレンが関与すると考えられている．しかし，接触刺激によるわい化はジベレリン（GA）含量の著しい減少を伴うことから，本研究では，GAと髄細胞崩壊の関係を調べた．つる性インゲン（品種，黒種衣笠）では，生育初期において第一節間に空洞化が見られるが，接触刺激は，節間伸長を抑制して節間の肥大生長を促進し，空洞化を著しく抑制した．また，接触刺激を与えずにGA生合成阻害剤(S-327D)を処理したインゲンでは，茎の肥大生長の促進は見られなかったが，節間伸長および空洞化が抑制された．一方，わい性インゲン（品種，さつきみどり）では，第一節間の空洞化は見られないが，$GA_3$を0.01-100mg/Lの濃度で処理して節間を伸長させた場合，節間伸長の促進に伴って空洞化が促進されることがわかった．この場合，GAによる内生エチレン生成量の増加は認められなかった．これらの結果から，インゲンの節間における髄の崩壊による空洞化には，ジベレリンによる伸長現象が関与しており，接触刺激は，ジベレリンの生合成を減少させることによって空洞化を抑制するものと考えられる．

## 2aF11

無傷トウモロコシ幼葉鞘における成長制御：オーキシン濃度によるオーキシン輸送フィードバック制御の関与

飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

Coleoptiles of maize seedlings raised under red light were used to study effects of indole-3-acetic acid (IAA). IAA were applied as a mixture with lanolin, and elongation growth at a zone, 10-15 mm from the apex, was measured. Application of a IAA-lanolin ring (≃ 1 mm wide) to the tip, 5 mm above the measurement zone, resulted in growth enhancement; the enhanced growth rate, however, decreased around 3 h after the application to reach a steady rate corresponding to the pre-stimulation rate. In contrast, the direct application of IAA-lanolin paste to the measurement zone resulted in enhanced rates that were steady over 8h at any concentration. It was further shown that the transient nature of growth enhancement was not due to a shortage of IAA and to a decrease of tissue sensitivity to auxin, because, while the reduced growth rate could not be enhanced further by applying a second IAA-lanolin ring, it was effectively enhanced by IAA applied to the measurement zone. The results indicate an operation of a negative feedback mechanism by which basipetal auxin transport is internally regulated by auxin concentration along the transporting tissue so that a non-saturating auxin level is maintained at the site of action.

## 2aF12

栄養成長期に節間伸長をおこなうイネの突然変異体に特異的なタンパク質の検出

青木俊夫、亀谷七七子、中村郁郎(岩手生物工学研究センター)

通常に栽培されているイネでは、生殖器官が形成される特定の時期に限られた節間のみが急速に伸長し、それ以外の節間は 2 ～ 3 mm 程度伸びるに過ぎない。種子の γ線処理により得られた変異体 *Accelerated internode overgrowth* -1 (*ao* -1) は、正常型に比べて細長い葉鞘・葉身を持ち、また、栄養成長期に節間伸長を行なうことから、イネの節間伸長および植物細胞の伸長成長を解析するための有効な材料であると考えられる。演者らの一人は、*ao* -1 がジベレリンおよびジベレリン合成阻害剤に対して正常な反応を示さないことを一昨年の本年会で報告した。今回は二次元電気泳動 (2D-PAGE) による *ao* -1 特異的タンパク質の分離・同定について報告する。

可溶性タンパク質および細胞壁結合タンパク質を抽出し、抽出液を限外ろ過膜で濃縮後、10% TCA-アセトン、アセトン (いずれも 0.07% 2-ME を含む) で順次処理し沈殿を回収、乾燥させた。乾燥タンパク質試料は UKS 溶液 (Damerval et al. 1986) に溶解し O'Farrell の方法による 2D-PAGE に供した。

ヘテロ接合体 (*ao* -1 / +) の後代を 25℃、16 時間照明下 で 3 週間栽培し、変異体および正常型の稈の基部 (*ao* -1 変異体の節間は伸長している) のタンパク質を比較したところ、変異体に特異的ないくつかのスポットを検出した。検出された特異的なタンパク質の詳細については現在解析中である。

## 2aG01

ヒメフラスモの細胞質水和による細胞内$Ca^{2+}$ 動員

田沢仁、菊山宗弘[1]、島田希代[1]（福井工大・応用理化、[1]放送大）

ヒメフラスモ(Nitella flexilis)の細胞を10 mM KClで処理すると膜興奮性は失われる。この様な細胞を細胞横断浸透に曝すと、内浸透側で細胞質流動は停止し、同時に予め細胞質に注射されたエコーリンの発光がみられる。われわれは内浸透側で起こる細胞質の水和が細胞内貯蔵器官からの$Ca^{2+}$ 放出を誘発すると仮定した(Tazawa et al. 1994, Plant Cell Physiol. in press). この仮定を試すため、われわれは液胞を低張の人工細胞液で灌流したときの細胞質からのエコーリン(fch-aequorin, 下村脩博士の贈与）を測定した。大きな発光は低張液を灌流したときにのみ見られ等張液ではほとんど見られなかった。

細胞質の水和は細胞を浸透的に吸水膨張させることによっても引き起こされる。まず節間細胞を250 mM ソルビトールを含む10 mM KCl液に浸してあらかじめ脱水させた。次に外液を10 mM KCl液に替えると、細胞質流動は停止し、同時に顕著なエコーリンの発光が見られた。

N. flexilisと異なりN. axilliformisでは細胞横断浸透のとき、あるいは浸透的膨張のとき流動の阻害は見られない。後者の細胞では低張液を液胞灌流してもエコーリンの発光はほとんど見られなかった。このように細胞質の水和によって引き起こされる$Ca^{2+}$の動員はN. flexilisに特異的のように思われる。

## 2aG02

黄化アサガオ胚軸膜タンパク質のリン酸化とカルモデュリンについて

坂本　光、柴田幸子（北里大・薬）

カルモデュリンは$Ca^{2+}$調節タンパク質として細胞内情報伝達に関与している。我々は、アサガオ胚軸膜中にカルモデュリンによって活性化されない$Ca^{2+}$依存性プロテインキナーゼが存在することと、カルモデュリン添加によりむしろリン酸化が抑制される膜タンパク質があることを以前に報告した。

このリン酸化が抑制されるタンパク質の分子量を精査すると112kDaであった。次に、このタンパク質について検討する目的で、胚軸膜中のカルモデュリン結合タンパク質の検索を行った。膜タンパク質をSDS-PAGEによって分離し、SDSを洗浄除去後、ゲルを$Ca^{2+}$存在下、酵素法によって標識した$^{125}$I-カルモデュリン中で振とうしたところ、66k, 82k, 93k, 109～121k, 154kDaタンパク質バンドにカルモデュリンが結合し、特に109～121kDaでの結合が顕著だった。一方、$Ca^{2+}$非存在下では、結合タンパク質は検出されなかった。従って、このタンパク質はカルモデュリン結合タンパク質の一種であることが示唆され、カルモデュリンが結合することによりそのリン酸化が抑制されるものと考えられる。

## 2aG03

大腸菌K-12株由来L型菌NC-7の増殖における$Ca^{2+}$とカルモデュリン阻害剤の効果について

賀屋秀隆、小野田哲夫、大島朗伸（島根大・理・生物）

大腸菌K-12株より誘導されたNC-7は、細胞壁を持たない球菌であり、その最適な増殖には培地中への1mMの$Ca^{2+}$の添加を要求する。増殖中の培養液中に1mMのEGTAを添加すると、直ちに菌の増殖が抑制されるが、1mMの$Ca^{2+}$を添加することにより、菌は再び増殖を開始する。また、強いカルモデュリン阻害剤として知られているW-7, W-13の添加は菌の増殖に著しい阻害効果を示すが、弱いカルモデュリン阻害剤であるW-5, W-12の添加は増殖への阻害効果をあまり示さなかった。そこで、EGTAで$Ca^{2+}$をキレートしておいた細胞への[$^3$H]-thymidineの取込みは、$Ca^{2+}$を同時に添加した場合に多く観察された。[$^3$H]-thymidineの取込みは、$Ca^{2+}$を添加する直前にW-13を添加することにより抑制を受けた。

これらの結果から、NC-7の増殖にはカルモデュリン様蛋白質が関与していることが示唆された。

## 2aG04

ニンジン培養細胞におけるcAMPの代謝とcAMP感受性カチオンチャンネルの制御

蕪城博、黒崎文也、西荒介（富山医科薬科大 薬）

ニンジン培養細胞において、cAMP濃度の上昇によりcAMP感受性$Ca^{2+}$チャンネルが活性化されることは既に報告したが、今回、cAMPの合成と分解を行うアデニリルサイクラーゼとホスホジエステラーゼが原形質内$Ca^{2+}$濃度により調節されていることを確認した。サイクラーゼ活性は通常の細胞には検出されず、フォルスコリン刺激により誘導された。ただし、その活性は細胞の静止状態の$Ca^{2+}$レベルでのみ認められ、高レベルの$Ca^{2+}$ではほぼ完全に抑制された。これに対して、ホスホジエステラーゼはフォルスコリンの刺激がなくても定常的な活性を保持しており、また刺激後にカルモデュリン依存性のイソ酵素が誘導されることが確認できた。また、原形質膜を反転して構築したベシクルからのcAMP刺激による$Ca^{2+}$放出は1 μMのベシクル外$Ca^{2+}$で抑制されたが、この放出抑制はカルモデュリン阻害剤やカルモデュリン抗体の存在下では観察されなかった。これらの結果から、cAMP感受性カチオンチャンネルの閉鎖には原形質膜上に存在するカルモデュリンが重要な役割を担っていると考えられる。

## 2aG05

藍藻 *Anabaena cylindrica* のアデニル酸シクラーゼ遺伝子の単離

片山光徳、和田洋、大森正之（東大.教養.生物）

cAMPは、動物およびバクテリアにおいて、細胞内の代謝活性調節物質として機能していることが知られている。これまでに *Anabaena cylindrica* において、外界の環境の変化（光およびpHの変化など）による細胞内のcAMP量の変動が観察されている。しかしながら藍藻の細胞内のcAMP量の調節機構および藍藻におけるcAMPによる代謝制御機構は不明である。

本研究では、*A. cylindrica* よりアデニル酸シクラーゼ遺伝子を単離し、その構造を解析した。*A. cylindrica* のゲノムDNAライブラリーをプラスミドpBR322を用いて作成した。これを大腸菌のアデニル酸シクラーゼ欠損株（それによってマルトース発酵能を失っている）に導入し、マルトース発酵能の回復を指標にしてスクリーニングを行った。約10000個のコロニーより *A. cylindrica* 由来のDNA断片（11.5kb）をインサートとして持つ陽性クローンが1つ得られた。この陽性クローンは大腸菌欠損株のマルトース発酵能を回復させるとともに、細胞内のcAMP量を野性株と同程度まで回復させた。マルトース発酵能を回復させる1.8kbの領域について塩基配列の決定をを行った。この1.8kbの領域には502アミノ酸残基からなるオープンリーディングフレームが存在しており、推定アミノ酸配列のC末端側の約170アミノ酸残基からなる領域は、これまでに報告されている動物のアデニル酸シクラーゼにおいて保存されている触媒領域と相同性を示した。

## 2aG06

高速液体クロマトグラフィーを用いたホスホリパーゼCにより分解されたイノシトールリン酸の分析

Gerhard A. De RUITER, 田中敬一（農水省，果樹試）

ホスホリパーゼCはシグナルトランスダクションにおけるフォスファチジルイノシトールサイクルにおいて重要な役割を果たしている(Berridge, 1987)。フォスファチジルイノシトール特異的ホスホリパーゼC (PI-PLC; EC 3.1.4.10)はフォスファチジルイノシトールのグリセロールとリン酸のエステル結合を分解してイノシトールリン酸とジアシルグリセロールとに分ける。ブドウの培養細胞から遊離型と膜結合型のＰＩ－ＰＬＣを分画した。粗抽出酵素を異なったカルシウム緩衝液中でインキュベートし、遊離したイノシトールリン酸を伝導度検出器及びOmniPac PAX 100カラム付き高速液体クロマトグラフィーで分析定量した。この分析方法によりイノシトールリン酸を正確に定量出来ることが分ったので、本方法はホスホリパーゼCの活性測定に通常用いられている放射性物質による分析方法よりも安全かつ簡便であると考えられた。

## 2aG07

アカパンカビにおいて青色光によりリン酸化されるタンパク質ps15の解析---二次元電気泳動による解析と部分精製

小田和司、市村和也、府川幹典、蓮沼仰嗣（横浜市大、木原生研）

我々は*in vitro*において青色光照射によりリン酸化が促進される約15kDaタンパク質（群）を既に見出している。このタンパク質は、青色光に対する活性や等電点がほとんど同じでわずかに分子量が異なる2種のタンパク質に区別できる。アカパンカビでは青色光に全く応答しない突然変異株*wc-1*及び*wc-2*が知られている。*wc-1*及び*wc-2*から抽出した膜分画を用いて*in vitro*においてps15のリン酸化が相補できることを既に見出している。野生株,*wc-1*,*wc-2*から膜分画を抽出して二次元電気泳動等を行い各株のps15の特性を検討した。さらにミクロソーム分画を1％ルブロールで処理し、遠心操作で上清にくる分画を得た。この可溶化された分画をTSKゲルHW60で分画した。分子量800~1000 kDaに50μM $Ca^{2+}$存在下に特異的にリン酸化される蛋白質、また83 kDaの[α-$^{32}$P]ATP, [α-$^{32}$P]GTPを結合する蛋白質が分画された。さらに分子量500~600 kDaに$Ca^{2+}$存在下にリン酸化される約80 kDaの蛋白質と58 kDaおよび77 kDaの[α-$^{32}$P]ATP, [α-$^{32}$P]GTPを結合する活性を見出した。この分画にps15が分画された。

## 2aG08

イネ培養細胞における糖質性エリシターシグナルの伝達とタンパク質リン酸化反応

朽津和幸, 小松節子, 平野久, 渋谷直人（農水省・生物研）

植物細胞は、病原菌細胞壁由来の特定のオリゴ糖を認識して、生体防御反応を活性化する。我々は低濃度の*N*-アセチルキトオリゴ糖に対するイネ培養細胞の応答反応を1つのモデル系として、レセプターによる認識から、遺伝子発現やファイトアレキシン合成に至る、情報伝達の初期過程を解析している。シグナルの認識直後の反応として、膜電位変化やイオンフラックスの誘導と並んで、活性酸素を一過的に発生することが明らかとなった(日本植物生理学会1993年度年会)。この反応はK-252a等のプロテインキナーゼの阻害剤によって阻害されたことなどから、情報伝達の初期過程にタンパク質リン酸化反応が関与している可能性が考えられる。そこで、オリゴ糖処理した細胞から抽出したタンパク質を、[γ-$^{32}$P]ATPを含む反応液中でリン酸化反応を行い、二次元ゲル電気泳動法を用いて分析した。その結果、細胞を*N*-アセチルキトオリゴ糖で処理した場合に特異的にリン酸化される数種のタンパク質が、可溶性画分に見出された。こうしたリン酸化は、オリゴ糖処理後数分後をピークとする一過的なもので、K-252aなどの阻害剤によって完全に阻害された。脱アセチル化したキトオリゴ糖ではリン酸化が誘導されないなどの性質は、エリシター活性や他の初期反応、膜上の結合部位の結合特性などに見られたオリゴ糖に対する厳密な構造特異性と共通していることから、オリゴ糖シグナルの伝達の初期過程に、こうしたタンパク質のリン酸化反応が関与している可能性が示唆される。

## 2aG09

タバコ培養細胞におけるプロテインキナーゼによるエリシターシグナル伝達機構の解析

鈴木　肇、進士　秀明（工技院・生命研・植物分子生物）

動物細胞や酵母では、細胞外シグナルによる遺伝子発現誘導過程において細胞内情報がタンパク質リン酸化を介して伝達されていることが示されており、植物細胞でもプロテインキナーゼが細胞内シグナル伝達機構の重要な媒体であると考えられている。

我々は防御遺伝子の発現制御機構解明のために、タバコ培養細胞においてエリシターによる防御遺伝子発現誘導過程の細胞内情報伝達機構の解析を進めている。これまで、エリシター処理によって防御遺伝子が活性化される過程でタンパク質リン酸化が必要であることを示唆する結果を報告してきた。今回は、エリシターシグナルの伝達に関与すると考えられるプロテインキナーゼ活性についての解析結果について報告する。ＭＢＰ（myelin basic protein）を基質とするＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル内リン酸化法による解析の結果、エリシター添加後３０分以内にエリシター処理に特異的なプロテインキナーゼ活性が検出された。さらに、抗ＥＲＫ２（extracellular signal-regulated kinase 2）抗体を用いたウエスタンブロット法による解析では、エリシター処理をした細胞に特異的なタンパク質の増加が検出された。しかし、その分子量はこれまでに報告されているＥＲＫあるいはＭＡＰ（mitogen-activated protein）キナーゼ及び今回ゲル内リン酸化法で検出されたエリシター処理によって活性化されるプロテインキナーゼとは異なっていた。

## 2aG10

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(CDPK):精製酵素の自己リン酸化およびcDNAのクローニング

湯浅　高志[1,2]、高橋　宏二[1,2]、武藤　尚志[2,3]（東京大・理学系研究科[1]、名大・農学研究科[2]、名大・生物分子応答研究センター[3]）

耐塩性緑藻ドナリエラから約20,000倍に精製したCDPKの諸性質を既に報告した。本報では、自己リン酸化について報告する。精製CDPK標品はSDS-PAGEにおいて60kDaの主成分とartifictと考えられる52kDaの成分を含む。$Ca^{2+}$存在下でいずれの成分も自己リン酸化された。これらの他に顕著にリン酸の取り込まれた新たなバンドが80 kDaの位置に出現した。この80-kDaペプチドは抗ドナリエラ抗体と交叉反応し、またCDPK活性を示し、60-kDaCDPKの自己リン酸化によって生じたと推定された。

抗ドナリエラCDPK抗体を用いてドナリエラのcDNAライブラリーをスクリーニングし、2つの異るプロテインキナーゼをコードしたcDNAクローンを単離した。両cDNAの大腸菌における発現産物は$Ca^{2+}$依存的タンパク質リン酸化活性と$^{45}Ca^{2+}$結合活性を示したことから、少なくとも2つのCDPK分子種がドナリエラで発現していることが明かとなった。

## 2aG11

傷により活性化されるタバコ46-kDaキナーゼの解析

宇佐美昭二、坂野弘美、町田泰則（名大・理・生物）

動物細胞や酵母における研究から、リン酸化カスケイドによる細胞内シグナル伝達系は、細胞増殖に関連した種々の生物に保存されていると考えられている。我々はタバコ植物における細胞増殖に関連したシグナル伝達系の解析の目的から、Cキナーゼや MAPキナーゼ等の基質として用いられるミエリン塩基性タンパク質(MBP)をリン酸化するキナーゼの有無をインゲルアッセイ法を用いて検討した。その結果、(1)何も刺激を与えない成熟葉ではMBPをリン酸化するキナーゼはほとんど見られないこと、(2)成熟葉を傷つけることにより46-kDaの大きさのキナーゼが一過的に活性化されること（1分以内に活性化が誘導され、5分で最高値に達した後、30分後には元の活性レベルに低下する）、(3)傷ついた後、1-3時間は新たな傷に対して活性化されなくなること、(4)傷以外にキトサン、サリチル酸等により活性化されるが、エチレン、過酸化水素水等では活性化されないこと、(5)器官特異的な活性（根、成長点付近で活性が高い）が見られること、(6)細胞質画分に存在すること、(7)種々の双子葉及び単子葉植物に保存されており、いずれも傷により活性化されることを明らかにした。以上のことから、この46-kDaキナーゼは傷シグナルに関わる細胞内シグナル伝達系に関与している可能性がある。MBPはMAPキナーゼやCキナーゼ以外にも種々のキナーゼによりリン酸化されることが知られている。現在、この46-kDaキナーゼがどのクラスのものに属するかを阻害剤、抗体等を用いて検討を行うとともに、部分精製によりこの46-kDaキナーゼが単一分子種なのか、複数種存在するのか否かの検討を行っている。

## 2aG12

サイトカイニンに応答するプロテインキナーゼ

佐野浩、Youssefian Shohab、工藤まり子（秋田県立農短大・生工研）

私達はDNAﾒﾁﾙ化阻害剤によって誘導された矮性ｲﾈより、低分子量GTP結合蛋白質をｺｰﾄﾞするrgp1という特異遺伝子を単離した。rgp1 をﾀﾊﾞｺに導入したところ、矮化、頂芽優勢の欠如、花の異常構造などの形態変化を起こした。これらは植物ﾎﾙﾓﾝ、特にｻｲﾄｶｲﾆﾝの代謝異常による情報伝達系の狂いによるものではないか、と推定し、ｻｲﾄｶｲﾆﾝによって変動するﾌﾟﾛﾃｲﾝｷﾅｰｾﾞ遺伝子を探索した。その結果、ｺﾑｷﾞよりwpk4を単離した。

wpk4cDNAは1.9kbで、1584bpのORFをもつ。ｺｰﾄﾞされる蛋白質は分子量58Kで、ｷﾅｰｾﾞ領域は酵母より得られたSNF1ｷﾅｰｾﾞｸﾞﾙｰﾌﾟと40%前後の相同性を示した。環境ｼｸﾞﾅﾙに対するwpk4の応答をﾉｰｻﾞﾝ分析で調べた。ｺﾑｷﾞ芽生えを植物ﾎﾙﾓﾝで処理したところ、ｻｲﾄｶｲﾆﾝ(BA)投与によって対照の10倍以上のmRNAが蓄積した。NAA、GA、ABAには反応しない。黄化芽生えでは発現しないが、光照射１時間以内にmRNAが現れた。貧栄養条件下でも多量のmRNAが蓄積した。mRNAの光、貧栄養誘導はｻｲﾄｶｲﾆﾝｱﾝﾀｺﾞﾆｽﾄによって殆ど完全に阻害された。これらの結果から、次の結論が導かれた。①wpk4ｷﾅｰｾﾞは光、貧栄養という環境ｼｸﾞﾅﾙに応答して活性化される；②これらのｼｸﾞﾅﾙはｻｲﾄｶｲﾆﾝによって仲介される；③こうしたｼｸﾞﾅﾙがﾀﾝﾊﾟｸ質のﾘﾝ酸化を経て最終標的に伝えられ、生理応答になる。現在wpk4導入の組換えﾀﾊﾞｺを作り、生理特性を検定中である。

## 2aH01

ＦＴ－ＩＲによる酸素発生系の構造の解析：Ｍｎ－カルボキシル基－Ｃａ架橋構造の存在

野口　巧、小野高明、井上頼直（理研・太陽光科学）

光合成系IIにおける酸素発生系の構造については、ＭｎとＣａが関与する金属クラスターであるということ以外、ほとんど明らかとなっていない。本研究では、この構造とＣａの役割を調べるため、通常の系II膜標品とＣａ除去した系II膜標品について、酸素発生系の$S_1$，$S_2$状態間の光誘起フーリエ変換赤外（ＦＴ－ＩＲ）差スペクトルを測定した。その結果、通常の系II膜標品の$S_2/S_1$差スペクトルに見られる多くのバンドの内、Asp或いはGluの側鎖のカルボキシル基($COO^-$)に帰属できる（対称C=O伸縮振動）1404$cm^{-1}$の負のバンドと1363$cm^{-1}$の正のバンドが、Ｃａ除去した膜標品の$S_2/S_1$スペクトルにおいて消失するのが観測された。また、それと同時に、タンパク質の主鎖に由来する(ペプチド結合のC=O伸縮振動：アミドＩバンド)1600-1700$cm^{-1}$のバンド群も消失した。これらのことから、①通常の酸素発生系では、$S_1$状態において、Ｍｎ、Ｃａ間のカルボキシル基による架橋構造が存在すること、②$S_2$状態において、このカルボキシル基のＣａへの配位結合が切れること、③Ｃａの存在が、$S_2$状態の生成の際に起こるタンパク質の二次構造の変化を誘起すること、④Ｃａ除去により、上のカルボキシル基はＭｎからも遊離すること、などが明らかとなった。また、重水中における$S_2/S_1$差スペクトルから、Ｍｎに配位しているカルボキシル基のうちの一つは、Ｍｎに配位した$H_2O$（または$OH$）と強い水素結合をつくっていることが分かった。

## 2aH02

光合成酸素発生、反応中間状態のX－線吸収法による研究

小野高明、野口巧、井上頼直、楠正美[1]、山口博隆[2]、大柳宏之[2]（理研・太陽光科学、[1]明大・理工、[2]電総研）

無処理、及びCa除去処理した光化学系IIで生成する、酸素発生過程の反応中間状態（S－状態）のMn－クラスターの性質をX線吸収端近傍構造（XANES）により調べた。蛍光X線の補足効率を上げる等の測定システムの改良により、閃光で生成した各中間状態のスペクトルをかなり精度良く測定する事が可能となった。この測定では、ベースラインの変動も小さく、1s→3d遷移に対応する前吸収端構造もある程度分離して測定する事が可能であった。無処理系IIではK－吸収端は$S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3$遷移に伴い高エネルギー側へ移動し、$S_3 \rightarrow S_0$で大きく低エネルギー側へ移る、閃光回数に依存した4周期振動を示した。一方、Caを除去した系IIでは、$S_1$状態のK－吸収端が無処理のものに比べて大きく低エネルギー側へ移動しており、Mn－クラスターとその配位子との間の結合が切れる等の構造変化が起こっている可能性を示した。K－吸収端は$S_2$状態、g＝2 ESR状態の生成に伴い、各々、約1eV高エネルギー側へ移動し、これらの状態の生成にMn－クラスターが直接関与している事が明かとなった。

## 2aH03

酸素発生標品の表在性蛋白の固定化によるMnやCaの安定化

榎並　勲、加藤　栄[1]
（東理大・理・生物、[1]東邦大・理・生物）

酸素発生活性をほぼ保持した状態で、3種の表在性蛋白を固定化することができたので、この固定化標品を用いてMnやCaの安定性に及ぼす表在性蛋白の寄与について調べた。①酸素発生標品をurea/NaCl処理すると2個のMnが徐々に遊離してくるが、33 kDa 蛋白を固定化するとその内1個のMnが安定化され、3種の表在性蛋白を固定化するとほとんどのMnは遊離されなくなった。また、酸素発生標品をNaCl処理すると僅かだがMnは明らかに遊離されるので、23、17 kDa 蛋白もMnの安定化に寄与しているものと考えられる。②urea/NaCl処理した標品の酸素発生はTMPDやHQなどの還元剤によりほぼ完全に阻害されるが、33 kDa 蛋白の固定化によりその阻害は50％以上抑えられた。③23、17 kDa 蛋白の固定化により、酸素発生活性はNaCl処理や酸処理に対して著しく耐性となった。従って、これらの蛋白は塩処理のみならず酸処理に対してもCaを安定化していると考えられる。

## 2aH04

熱処理による酸素発生の失活と系II 膜標品の会合に及ぼす表在性蛋白の固定化、膜標品の濃度、$CaCl_2$ およびジギトニンの影響

榎並　勲、太田尚孝、加藤　栄[1]
（東理大・理・生物、[1]東邦大・理・生物）

33 kDa 蛋白を固定化すると、酸素発生活性は熱処理に対して極めて安定化される。この事は、33 kDa 蛋白の遊離が熱失活の原因であることを示唆するが、熱失活と33 kDa蛋白の遊離との間には相関関係はみられなかった。しかし、50 mM $CaCl_2$を添加すると失活と33 kDa 蛋白の遊離が著しく促進され、両者の間にきれいな相関関係が得られた。一方、$CaCl_2$の存在に関係なく、失活とMnの遊離には相関関係は見いだせなかった。また、膜標品濃度を減少させると、熱失活は抑えられ、膜標品の会合も減少した。この膜標品の会合は $CaCl_2$の添加により大きく促進された。ジギトニンにより膜標品の会合を抑えると、熱失活も抑えられ、33 kDa 蛋白の遊離も減少した。これらの結果は、熱失活の主要な原因はMnの溶出ではなく33 kDa 蛋白の遊離にあることを示す。また、 $CaCl_2$は膜の会合を促進し33 kDa 蛋白の再結合を妨げると考えられる。

## 2aH05

新しいパルスEPR法による光化学系IIの常磁性種間の距離決定

河盛阿佐子，小寺義男，原英之，Sergei A. Dzuba*
関西学院大学理学部，*ロシア科学アカデミー

EPR信号中の非常に狭い周波数範囲の磁気モーメントだけを選択的に飽和させた部分をselective burning holeと呼ぶ．このholeの広がり(スペクトル拡散)の時間変化は近傍電子スピンのランダムな反転による局所磁場変動に対応し，電子スピン間双極子相互作用を反映している．我々は，選択的飽和パルスと検出パルスからなる新たなパルス法によって，今まで不可能であった近接電子スピン間双極子相互作用の直接検出と，それによるスピン間距離の決定を可能にした．

この方法を水分解系除去した光化学系IIのチロシン$D^+$ EPR信号に適用し，そのスペクトル拡散よりチロシンDと電子受容体$Fe^{2+}$イオン間距離を52 Aと決定した．さらに未処理光化学系IIで観測したチロシン$D^+$について水分解系マンガンとの距離及びスピン状態の影響について議論する．

## 2aH06

シアノバクテリア *Synechococcus* PCC7002の酸素発生の熱安定性におけるシトクロム*c* 550の役割

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）

酸素発生は一連の光合成活性のなかで最も熱に弱いプロセスである。この酸素発生の熱安定性を支える分子機構をシアノバクテリア *Synechococcus* PCC7002を用いて解析した。我々は先に、チラコイド膜における酸素発生の熱安定性に、膜からTriton X-100で遊離するタンパク質成分が関与していることを見い出しており（1993年度本大会）、今回、そのタンパク質成分の同定を試みた。チラコイド膜からTriton X-100で遊離する成分をイオン交換クロマトグラフィーおよびクロマトフォーカシングに供し、Triton処理により低下したチラコイド膜の熱安定性を回復させる成分を精製した。その結果、16kDaのタンパク質が単離され、分光学的性質からシトクロム*c*-550と推定された。N末端アミノ酸配列をもとに、*Synechococcus* PCC7002からこのシトクロムをコードする遺伝子をクローニングした。推定されるアミノ酸配列から、その遺伝子産物は35残基のtransit peptideと136残基のmature proteinからなることが判明し、mature proteinは他のシアノバクテリアで見られるシトクロム*c*-550と類似していた。これらの結果から、シトクロム*c*-550が酸素発生の熱安定性に必要な成分であることが示唆された。

## 2aH07

トリス処理光化学系II粒子・酸素発生系の光再活性化に伴うチトクロム $b_{559}$ の光酸化還元特性の変化

水澤直樹，長友武彦，山下巍　（筑波大・生物）

私達は、トリス処理でMnを除いた系II粒子に$Mn^{2+}$・$Ca^{2+}$・DCPIP・1M NaClを加え、酸素発生系を光再活性化した際に起こる高電位型チトクロム $b_{559}$ の酸化還元特性の変化を調べたところ、$Mn^{2+}$を電子供与体とする弱光下における光化学反応で高電位型チトクロム $b_{559}$ が電子受容体として働く時にのみ、酸素発生能が回復する事を示唆する結果が得られたので報告する。

前学会では、トリス処理によりMn及び三種の表在性ペプチドを系II粒子から除いても約半分のチトクロム $b_{559}$ は高電位型で存在し、光再活性化後もこの高電位型チトクロム $b_{559}$ は保たれることを報告した。　最近、トリス処理・系II粒子の高電位型チトクロム $b_{559}$ は、20 mM NaCl存在下では大部分還元型で赤色光により光酸化されるが、NaCl濃度を1Mに上げると酸化型に変わり光酸化できなくなる事が分かった。　この系II粒子を$Mn^{2+}$・$Ca^{2+}$・DCPIP・1M NaClとともに弱光下に置くと酸化されていた高電位型チトクロム $b_{559}$ が還元されるとともに赤色光による光酸化活性及び酸素発生能の回復が観察された。DCPIPを除くと赤色光によるチトクローム $b_{559}$ の光酸化活性は大幅に低下するとともに 酸素発生能の回復も半減した。　弱光下におけるチトクロム $b_{559}$ の光還元には、$Mn^{2+}$が電子供与体として必須でありその還元型の安定化には$Ca^{2+}$と1M NaClが有効であった。　チトクロム $b_{559}$ の光還元はDCPIPの光還元が完了するまで阻害された。

## 2aH08

水分解複合体の光活性化に対する化学修飾剤の効果

田村典明、野見山　香、小河亜紀子（福岡女子大・生物）

植物では、光によって水を分解し酸素を発生させる場として、光化学系II膜内在性タンパク質（47kDa／43kDa／D1／D2／チトクロムb559）・マンガン（Mn）クラスター・膜表在性タンパク質(33kDa／23kDa／17kDa）から構成される水分解系が存在する。ここで触媒として機能するMn原子は、光化学系II反応中心であるD1・D2タンパク質のカルボキシル基あるいはヒスチジン残基に配位していると推定されてきている。本研究では、この2つのアミノ酸残基以外にもMnの配位に関与しているアミノ酸が存在するか否かを調べた。

ホウレンソウ葉緑体を界面活性剤TritonX－100で可溶化することによって酸素発生活性をもつ光化系II標品を単離した。さらにヒドロキシルアミン（$NH_2OH$）処理してMnクラスターを欠いた標品（$NH_2OH$-TMF2）を得た。この標品をタンパク質化学修飾剤（N－エチルマレイミド〔NEM〕・メチルアセトイミデート〔MAI〕）で処理した後、水分解系の再構築（光活性化）能が失われるかを検討した。中性及び弱酸性領域でメルカプト基との反応に高い特異性を示すNEMによる化学修飾では、光活性化能は全く影響を受けなかった。一方、アルカリ性pH領域でアミノ基と反応するMAIによる化学修飾においては、光活性化能が顕著に失われた。この時、水分解系を介さない光化学系II近傍の電子伝達活性は全く影響を受けていなかった。

## 2aH09

暗所で生育されたトウヒにおける光化学系II酸化側の光阻害

蒲池浩之、奥達雄、田村典明[1]（九大・農・林、[1]福岡女子大・生物）

常緑針葉樹の芽ばえは、暗所で発芽・生育させたものでも緑化しており、光合成の初期過程に関与する反応中心タンパク質複合体（光化学系I・II複合体）もすでに合成されていることが知られている。しかしながら、このような芽ばえは、酸素発生を行なうことができず、その酸素発生系の活性化には光を必要とする。以前、我々はこのような暗所生育トウヒ生葉の酸素発生系の光活性化において、その子葉をあらかじめヒドロキシルアミンで処理すると、未処理のものに比べて光活性化中の光阻害に対する感受性が大きくなり、その回復には、葉緑体由来のタンパク質合成が必要であることを見出した（1992年度植物学会）。そこで、本研究では、この現象を詳細に検討するため、光活性化中のタンパク質合成の様子を[$^{35}$S]メチオニンの取込みによって調べた。

結果は、以下のようになった。（1）ヒドロキシルアミン処理葉では未処理葉に比べ、D1タンパク質が特異的に合成されていた。（2）ヒドロキシルアミン処理葉では、D1タンパク質の合成および分解速度が、未処理葉のものに比べて大きくなっていた。

以上の結果から、光化学系II酸化側の光阻害からの回復には、D1タンパク質のみの新たな合成が必要であることが示唆された

## 2aH10

遺伝子組換型Ｍｎ安定化蛋白質の産生とその性質

平野昌彦、元木章裕、岡本　元一、小方久美子、金井正三、加藤　栄[1]
（東レリサーチセンター、[1]東邦大・理・生物）

高等植物や藻類、シアノバクテリアは光化学系Ⅱ蛋白質複合体（ＰＳⅡ）を有し、酸素発生型の光合成を行う。Ｍｎ安定化蛋白質（ＭＳＰ）はＰＳⅡの内膜側に存在し、水分解反応に必須なＭｎイオンの安定化に重要な役割を果たすと考えられるが、構造に関する知見は少ない。すでに我々は好熱性シアノバクテリア*Synechococcus elongatus* のＭＳＰ遺伝子(*psbO*)を取得し、その遺伝子構造ならびに蛋白質としての特徴を解析した（BBA, 1172, 357(1993)）。一方で、シアノバクテリア菌体からの本蛋白質の精製は収率および量の点で問題が多かった。そこで*psbO*遺伝子を大腸菌に組み込み効率の良い発現系を開発するとともに、生成された蛋白質の性質について調べたので報告する。

*psbO*遺伝子はシグナル部分を切断し、成熟蛋白質に対応する遺伝子のみをＴ７プロモーター系 pET8cに導入して大腸菌に組み込んだ。産生された組換型ＭＳＰは大腸菌蛋白質の約２０％占め、熱処理、イオン交換クロマトグラフィーにより容易に精製でき、抗体との反応性、Ｎ末端アミノ酸配列解析、アミノ酸組成分析およびＣＤスペクトルの結果は天然型蛋白質のそれとよく一致した。*S. elongatus*およびホウレンソウより調製したＰＳⅡを用いてＭＳＰの再構成実験を行ったところ、組換型は天然型と同程度の酸素発生活性の回復能が確認され、両者は構造、機能ともに同一であることが証明された。なお本研究は通産省産業科学技術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。

## 2aH11

系Ⅱ膜標品での系Ⅱタンパク質の分解

池内昌彦（東京大・教養・生物）

光化学系Ⅱは強光照射による傷害を受けると反応中心のＤ１タンパク質の分解が誘起され，その回復にはＤ１の再合成が必須であることはよく知られている．本研究では純度が高く比較的nativeな状態を保持しているホウレンソウ由来の系Ⅱ膜断片を用いて系Ⅱタンパク質の分解を調べ，in vivoでのＤ１の特異分解のモデルになり得るかどうかを検討した．ウェスタンブロッティング法によってＤ１の分解を調べたところ，系Ⅱ膜断片中のＤ１は従来の報告通り強光照射により断片化されたが，暗所ではほとんど分解されず光前照射の効果も見られなかった．界面活性剤によって可溶化すると暗所でのＤ１の特徴的な分解産物が生じ，光の前照射によって若干の分解プロフィールの変化が認められた．これらは光照射によってＤ１のプロテアーゼ感受性に変化が起こったことを示唆するが，in vivoから期待される変化よりはるかに小さく系Ⅱ膜断片では光傷害を受けたＤ１の検知除去システムがほぼ失われたためではないかと考えられる．一方，タンパク質の染色プロフィールから，オクチルグルコシドで可溶化し暗所におくと表在性18kDaタンパク質や10kDa-Rタンパク質が顕著な分解を受けることが明らかになった．18kDaタンパク質の場合はすでに桑原ら(1986)によって報告されているプロリルエンドペプチダーゼによるものと同じ部位での切断断片(16.5kDa)が生成していた．この18kDaタンパク質の特異分解は系Ⅱ複合体に結合している場合に起こり，また可溶化しない膜断片でもゆっくり進行した．したがって，プロリルエンドペプチダーゼも系Ⅱの酸素発生系の近傍に結合していて，生理的条件でも18kDaタンパク質の分解を引き起こしている可能性が考えられる．また，オクチルグルコシド可溶化標品ではＣＰ４３やＤ２タンパク質の脱リン酸化が促進され，系Ⅱのダイナミックな変化のモデル系になり得ることが示唆された．

## 2aH12

光化学系II還元側の光障害に対する電子伝達系阻害剤の効果

中島芳浩[1]、小野高明[2]、吉田茂男[3]、井上頼直[1,2]
（[1]埼玉大学大学院・理工学研究科、理化学研究所・[2]太陽光エネルギー科学研究グループ・[3]植物機能研究室）

光化学系 (PS) IIの還元側は強光照射により特異的に阻害を受け、これを引き金として反応中心D1タンパク質の分解が起こる。光障害は、PSII還元側で$Q_A$→$Q_B$間の電子移動を阻害する薬剤により影響を受ける。阻害剤の種類によりその効果も異なると言われているが詳細については不明な点が多い。本研究では、電子伝達系阻害剤による光障害抑制の作用機作を明かにするために、代表的な電子伝達系阻害剤(DCMU, Atrazine, Ioxynil, Dinoseb）の他、新規に合成したウレア、フェノール型阻害剤がPSII還元側に与える影響について検討した。PSII膜断片を光照射すると酸素発生の著しい低下が見られたが、DCMUやAtrazine存在下では光障害に対する抑制効果が見られた。他の阻害剤の多くでは逆に促進する傾向が認められた。トリプシン処理したPSII膜断片ではDCMUによる抑制効果が見られなかったことから、光障害抑制にはDCMUが$Q_B$サイトに結合する必要があることが示唆された。一方、光障害には活性酸素種が関与しているという報告がある。しかし、既知のラジカルスカベンジャーおよびSODは光障害抑制効果を全く示さないこと、嫌気条件下においてもDCMUの抑制効果が認められることから、DCMU、 Atrazineの作用点は活性酸素種の消去ではなく、光障害の初期過程にあることが示唆された。現在、D1タンパク質の分解に及ぼす影響についても検討中である。

## 2aH13

Ｌタンパク質による$PS\,II$第一キノン電子受容体$Q_A$の活性化機構　－Ｌタンパク質の作用部位と光リン酸化－

小澤真一郎, 北村晃司, 豊島喜則（京大大学院、人間・環境学）

$PS\,II$複合体には、電子移動の調節機能を担っていると思われる多くの低分子量タンパク質が結合している。これら低分子量タンパク質の中でpsbＬにコードされたＬタンパク質は、$PS\,II$還元側$Q_A$の機能発現の必須成分であることを再構成法により明らかにし、既に報告した。本研究では、$Q_A$の活性化に対するＬタンパク質の役割と作用部位を調べる第一歩として、酵素処理により部分的に特定の配列を欠除したＬタンパク質を調製し、再構成法によりその$Q_A$活性回復能を調べた。次いで、Ｌタンパク質が光リン酸化を受けるかどうかを調べた。

単離精製したＬタンパク質を、ｶﾙﾎﾞｷｼﾍﾟﾌﾟﾁﾀｰｾﾞでＣ末端から５残基を欠失させたＬタンパク質は、もとのＬとほぼ同じ$Q_A$活性回復能を持つことから、$Q_A$の機能発現にはＬタンパク質のＣ末端付近は関係していないことが判った。一次構造からＬタンパク質のＣ末端側はチラコイド膜中に埋もれて、Ｎ末端側はストロマに突き出た状態になっていると推定される。この事は、ストロマ側に存在しているＬのＮ端部分が$Q_A$部位と相互作用して$Q_A$の活性化に関与している可能性を示すものである。つぎに、[$\gamma-{}^{32}$P]ATP存在下で、光照射したチラコイド膜から可溶化剤処理により精製した$PS\,II$複合体のSDS-PAGEおよびautoradiographyから、Ｌタンパク質もリン酸化を受けることが判った。Ｌタンパク質の光リン酸化の役割を、$Q_A$活性化との関連において考察する。

## 2aI01

REGULATION OF THE EXPRESSION OF THE CYANOBACTERIAL DESATURASE GENE BY MEMBRANE FLUIDITY

Dmitry A. LOS, Laszlo VIGH, Norio MURATA
National Institute for Basic Biology, Okazaki

An organism alters the fluidity of membranes by desaturating the membrane lipids in response to temperature fluctuations. We show that the manipulation of membrane fluidity by lowering ambient temperature (from 36°C to 22°C), or by catalytic hydrogenation of plasma membrane at constant temperature (36°C) are additive in activation of the expression of the desaturase gene *desA* which, in its turn, is responsible for the desaturation of membrane lipids, and thus, for the maintenance of the membrane fluidity. The conclusions drawn from the results are: (1) the membrane fluidity affects the expression of the desA gene, and (2) the temperature-dependent regulation of membrane lipid metabolism is controlled by a negative feedback mechanism.

## 2aI02

タバコの脂質転移タンパク質遺伝子をセンス方向で組み込んだ形質転換タバコの解析

山田晃弘、榊 剛、江原友子[1]、長船哲斉[1]、増田 税[2]、小岩井 晃[2]（北海道東海大・工・生物工、[1]東京医大・微生物、[2]日本たばこ・生命研）

タバコの脂質転移タンパク質遺伝子をセンス方向で発現するように pBI-121 に組み込み、タバコ（BY-4）を形質転換した。

形質転換したタバコのカルス形成およびシュート形成は、対照と比べて少なく、シューティングしたものでも黄化して生育しないものが大半であった。生きのびた８個体のうち、１個体に軽いモザイクが、また別の個体に生育途中からきびしい黄化が観察され、緑葉はまだら状になって植物体は著しく萎縮した。形質転換した「まだら葉」は、対照と比べて、海綿状組織はほとんど変わらなかったが、柵状組織のグラナ構造が減少していた。

免疫電顕の結果、「まだら葉」の細胞膜は、対照と比べ、疎水性層の肥厚が見られたが、細胞壁に局在する脂質転移タンパク質の量は減少していた。

形質転換した「まだら葉」は脂質分析の結果、対照に比べ、葉に含まれる脂質量が減少していることが分かった。

## 2aI03

トランスジェニックアラビドプシスを用いた植物メタロチオネイン様タンパク質遺伝子の発現解析

堀口達矢、 高橋啓史郎、 藤原徹、 森敏、 茅野充男（東大・農学部・農化）

メタロチオネイン（以下MT）は、動物や酵母にみられるシステインに富んだ重金属結合タンパク質で、重金属ストレスで誘導される代表的なタンパク質であり、重金属の代謝、解毒に関与している。植物では重金属結合性ペプチドとしてPhytochelatinの存在が知られていたが、近年、我々を含めていくつかの研究室から数種の植物でMTのシステインに富んだ重金属結合領域とホモロジーをもつ遺伝子のクローニングが報告された。それらの発現の組織特異性、重金属における誘導性などはそれぞれ異なっている。

ここでは、*Arabidopsis thaliana* のMT様タンパク質の発現解析について報告する。この遺伝子のプロモーター領域には*Saccharomyces Cerevisiae*のMT遺伝子であるCUP1のアクティベーター結合領域とホモロジーをもつ領域がみられた。また、この遺伝子のプロモーターとGUSとのキメラ遺伝子を形質転換して得られた*Arabidopsis thaliana*を用いた実験では、銅過剰処理２４時間後には、根端で発現の誘導がみられた。また、鉄欠乏、亜鉛欠乏処理でもそれぞれ３日後には発現の誘導が観察された。現在さらに詳しい解析を行っているところである。

## 2aI04

酵母変異株、及び形質転換シロイヌナズナを利用した植物メタロチオネイン様遺伝子の解析

赤星英一、 高橋啓史郎、 森敏、 藤原徹、 茅野充男（東大農学部農芸化学科・植物栄養肥料）

メタロチオネインは、システインに富む低分子量タンパク質であり、哺乳動物、酵母などにおいては、重金属とキレート結合を形成し解毒作用を示すことが知られている。植物においても、我々は、シロイヌナズナ、ダイズ、大麦からメタロチオネイン様タンパク質をコードする可能性のある遺伝子を単離しているが、その機能はまだ不明のままである。そこで演者らは、メタロチオネイン遺伝子（ＣＵＰ１）を欠き銅感受性となっている酵母変異株を用いて植物メタロチオネイン様遺伝子の機能解析を試みた。ＣＵＰ１を欠く変異株は、２５$\mu$MのＣｕＳＯ$_4$に対して感受性であった。植物由来のメタロチオネイン様遺伝子を、酵母のＣＵＰ１プロモーターに連結、２$\mu$ｍプラスミドの複製開始点をもつベクターを用いて、変異株に導入したところ、２５$\mu$MのＣｕＳＯ$_4$に耐性になった。

また、メタロチオネイン様タンパク質の植物体での機能を解析するために、アンチセンス導入形質転換シロイヌナズナを作成した。現在、アンチセンス導入が各種重金属耐性に及ぼす影響を検討中である。

## 2aI05

ｺﾑｷﾞO-ｱｾﾁﾙｾﾘﾝ(ﾁｵｰﾙ)ﾘｱｰｾﾞ遺伝子を導入したﾀﾊﾞｺの硫化水素抵抗性

ユーセフィアン ショハブ、中村道美、佐野浩(秋田県立農業短期大学・生物工学研究所)

O－アセチルセリン(チオール)リアーゼ(EC.4.2.99.8)は植物や原核生物のシステイン合成経路において中心的役割を担う。私達はｺﾑｷﾞよりこの酵素をコードするcys1を単離した。アミノ酸配列の比較はE. coliやS. typhimuriumのcyskと５３%の相同性を示した。システイン合成能を欠くE. coliにcys1を導入したところ、相補性を示したのでcys1は正しく本酵素をコードする事が知られた。サザン分析でcys1はシングルコピーがあること、ノーザン分析では植物体全体でよく発現している事が分った。

cys1をセンス、アンチセンス両方向に導入した組換えタバコを作製し、その生理特性を調べた。センス組換え体はコントロールの３～５倍のO－アセチルセリン（チオール）リアーゼ活性を示した。種々のイオウ化合物のうち硫化水素（$H_2S$）ガスに対して強い抵抗性を示した。これらの結果に基づいて植物におけるイオウ代謝の機構について検討した。

## 2aI06

シロイヌナズナrd22遺伝子の乾燥による誘導に必要な制御領域の解析

岩崎俊介[1]、篠崎和子[1、2]、篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子生物、[2]農水省・国際農研）

植物は様々な環境条件の変化に応じて遺伝子発現を変化させる機構をそなえている。乾燥ストレスによる遺伝子発現誘導経路のひとつは、乾燥ストレスによって増加する植物ホルモンアブシジン酸（ABA）を介して誘導が起こるものであることが知られている。イネのrabやコムギのEmといった遺伝子はABAによる遺伝子発現誘導には他の蛋白質の合成を必要とせず、直接遺伝子発現が誘導される。これらの遺伝子の制御領域にはABAによる遺伝子発現誘導に必要な、G-box様の配列を持つシスエレメント（ABRE）が存在することが報告されている。それに対して、私達の研究室で単離されたシロイヌナズナ乾燥誘導性遺伝子rd22はABAを介して発現が誘導されるが、ABREの配列を持たず、ABAによる発現誘導には他の蛋白質の合成を必要とする。rd22のプロモーターとβ－グルクロニダーゼ（GUS）のコード領域との融合遺伝子を導入したトランスジェニック植物（タバコ、シロイヌナズナ）を用いた解析の結果、転写開始点より-216から-118bpの領域に乾燥による誘導に必要なシスエレメントが存在すること、さらにこの領域のみをつないだ最小プロモーターで乾燥による発現誘導が見られることが明らかになった。またこの領域には転写制御因子mycおよびmybの認識配列が含まれており、これらの配列が乾燥ストレスによる誘導に関与するかどうかについて解析を進めている。

## 2aI07

乾燥応答に関与する転写因子ATMYB2のリン酸化・脱リン酸化によるDNA結合活性の制御

浦尾剛[1、2]、溝口剛[1、3]、篠崎和子[4]、篠崎一雄[1]
（１理研・植物分子生物、２大同ほくさん・中研、３筑波大・生物、４農水省・国際農研）

外界からの刺激を受けた細胞内では、刺激情報が核内に到達する過程でタンパク質リン酸化カスケードが活性化されることが知られている。この最終ターゲットである転写因子のリン酸化・脱リン酸化は、転写因子自身の転写レベルでの調節と同様に、転写因子の活性制御に重要な役割を果していると考えられている。そこで私達は、乾燥応答に関与するシロイヌナズナの転写因子ATMYB2のタンパク質修飾による調節機構を知るために、核抽出液中にATMYB2をリン酸化する活性があるか否かを調べた。無処理および塩処理したシロイヌナズナの核抽出液中とも、ATMYB2をリン酸化する活性が存在したが、無処理の核抽出液中にDNA結合阻害活性が認められ、塩処理した核抽出液はDNA結合能に影響を与えなかった。また、このDNA結合阻害は、脱リン酸化酵素処理によって解除された。これらの結果は、ATMYB2のDNA結合能がリン酸化によって抑制される事を示唆している。さらに、ATMYB2のリン酸化によるDNA結合抑制の生理的意義について考察する。

## 2aI08

アラビドプシスにおける桂皮酸4水酸化活性をもつP450とNADPH-CytP450還元酵素の発現制御

水谷 正治1、Eric Ward2、太田 大策1、佐藤 了1
1日本チバガイギー国際科学研究所、2Agricultural Biotechnology Research Unit, Ciba-Geigy Corp. USA

植物組織中には様々なチトクロムP450が存在しリグニン、フラボノイド、ステロール、ジベレリン、ファイトアレキシン等の生合成に関与している。P450はプロトヘムを含む膜結合蛋白質でモノオキシゲナーゼであり、P450の活性にはNADPH-CytP450還元酵素が必須である。我々はP450とNADPH-CytP450還元酵素の発現制御機構を解明するために、アラビドプシスからフェニルプロパノイド代謝経路において重要な役割を果たす桂皮酸4水酸化活性をもつP450(P450C4H)とNADPH-CytP450還元酵素のcDNAを単離し、その発現様式を解析した。傷害及び病原菌処理によりP450C4Hの発現は10倍以上に増加した。この結果はP450C4Hの前後の反応を触媒するPAL、CHSに関する結果とよく一致した。一方、同一条件下において還元酵素の発現は3,4倍にしか増加しなかった。また各器官(根、葉、花)におけるP450C4Hと還元酵素の発現様式にも違いが見られた。これらの結果からP450C4Hと還元酵素の発現には異なる制御機構が存在することが示唆された。

またP450C4HとNADPH-CytP450還元酵素の細胞内分布に関しても議論する。

## 2aI09

*Ipomoea leucancha*花弁で発現するヘリックス-ループ-ヘリックス(bHLH)型転写因子cDNAのクローニング

服部束穂、保浦徳昇、森上　敦[1]（三重大・遺伝子、[1]名大・農・生化）

植物は種やその遺伝的背景によって様々な部位、組織、あるいは器官特異的アントシアニン蓄積パターンを示す。トウモロコシおよびキンギョソウでは、bHLH型の転写制御因子をコードする*R*遺伝子群や*Del*遺伝子が、アントシアニン着色パターンの制御に関わっていることが知られている。我々は、Ipomoea属植物花弁tube領域のinner epidermisで特に強い着色を示す点に着目し、本植物の花弁よりRやDELと相同性をもつbHLH型タンパク質cDNAのクローニングを試みた。まず、DELとR間でのN末端保存領域に対応するdegenerated primerを用いて部分cDNAをPCRにより増幅し、これをプローブに用いて花弁より調製したcDNAライブラリーをスクリーニングした。得られた全長cDNA、ID-1は629アミノ酸からなるタンパク質をコードし、DELおよびRと比較して全体でそれぞれ50%および31%、bHLH領域でそれぞれ72%および55%のアミノ酸が保存されていた。ID-1をプローブに用いてノーザン解析を行ったところ、その発現は花弁のtube領域よりも rim領域の方で発現が強いという色素蓄積と逆のパターンを示した。現在、ID-1のアントシアニン発現制御における役割を明らかにするために、CaMV35SプロモーターとID-1の融合遺伝子を導入したトランスジェニックタバコ作成中である。

## 2aI10

ハツカダイコン懸濁培養系における細胞質局在型グルタミン合成酵素遺伝子の発現制御機構の解析

渡辺明夫、高木規子、渡辺昭[1,2]（名大、農、生化学制御専攻、[1]生物分子応答研究センター、[2]現、東大、理、植物）

細胞質局在型グルタミン合成酵素（GS1）は、緑葉の老化過程における窒素の転流に際して中心的な役割を果たしており、演者らはハツカダイコン子葉の老化過程で発現しているGS1α遺伝子のcDNAおよびgenomicクローンをすでに単離している。Northern解析の結果、*gs1α*は種子の発芽時にも発現が増加し、根、胚軸でも転写産物が認められたことから、その発現は、生育時期ならびに組織特異的に細かく制御されていることが示唆された。そこで、このような遺伝子発現制御機構を解明するために、演者らは、まずハツカダイコンの懸濁培養系を確立し、*gs1α*の発現がどのような条件で誘導されるのかを検討した。その結果、培養細胞においては、培地中の窒素成分を変化させることにより*gs1α*の発現を誘導できること、並びに培養時期により*gs1α*の発現量が変化することが明らかになった。また、*gs1α*のpromoter領域には、酵母のアミノ酸合成遺伝子の転写制御因子GCN4の結合部位と相同な配列が見いだされた。こうしたGCN4 boxなどが*gs1α*の発現調節にどのように関与しているのか、さらには緑葉の老化過程で*gs1α*の発現を誘導している因子が何であるかを解析するため、*gs1α*のpromoterにGUSをつないだキメラ遺伝子を作製し、ハツカダイコンの培養細胞を用いたトランジェントアッセイを行う予定である。

## 2aI11

セネッセンス時に発現するハツカダイコン細胞質局在型グルタミン合成酵素遺伝子のタバコへの導入

上口（田中）美弥子、　渡辺昭[1]（名大・農・生化学制御、[1]現：東大・理・植物）

高等植物のグルタミン合成酵素(GS)には、細胞質に局在するGS1と葉緑体に局在するGS2が知られている。この内、GS1は光呼吸の際に生ずるアンモニアの回収に主要な役割を果たしていると考えられるが、GS1の働きについては直接証明したものはない。我々は、ハツカダイコンの子葉を用い、GS1が少なくとも3つの独立した遺伝子からなる多重遺伝子族を構成しており、各々が異なる遺伝子発現の制御を受けていること、その中でもGS1αは、セネッセンスに特異的に発現することを明らかにしてきた。今回我々は、GS1の植物内での働きを解析するため、GS1α遺伝子をタバコに導入し、その発現と機能の解析を試みた。

GS1αのプロモーター部分を含むDNA断片をTiプラスミドに挿入したもの、および35Sプロモーターの下流にcDNAをセンス、アンチセンスの2方向でいれたものを構築し、タバコに導入した。導入体はサザンハイブリダイゼーションで確認した。現在T1世代でのGS1及び関連酵素の発現とセネッセンスとの関係について解析を進めている。

## 2aI12

ハツカダイコンの老化特異遺伝子 *din1* の暗処理誘導に必要なシス配列の解析

° 安積良隆、三浦正明、鈴木秀穂（神奈川大・理・応用生物）

植物の緑葉は発生の段階や環境の変化等に応じて特定の葉から順番に黄色化し枯れてゆく。この老化（セネッセンス）という現象も遺伝的にプログラムされた現象で、ある秩序のもと規則正しく起こることが知られている。その個体や種の保存に非常に重要で、多くの遺伝子がこれに関わっている。ハツカダイコンの遺伝子 *din1* も暗所に置くなどして老化を促進した場合に子葉などで発現の誘導が見られる遺伝子で、老化特異遺伝子のひとつであると考えられている。光合成の阻害剤を与えた場合には光照射下でも発現が誘導されることなどから *din1* の暗処理による発現誘導は光合成産物である糖が減少したために起こると考えられる。この糖による発現調節の分子機構を明らかにするため、*din1* 上流域に存在すると考えられるシス配列の決定を目指している。そのため様々の長さの *din1* 上流域を pBI101 上の GUS 遺伝子上流につなぎ込み融合遺伝子を作成し、アグロバクテリウムを介してタバコに形質導入した。タバコ形質転換体の本葉を暗処理しても、転写開始点から上流 417bp までしか持たない融合遺伝子の発現は認められなかったが、609bp 以上含むものでは暗処理誘導によって強い発現が認められた。417～609bp の領域をいくつかの断片に分け、それをプローブにしてゲルシフトアッセイを行ったところシフトするバンドを複数確認することができた。これらについて解析した結果を報告する。

一般講演

第2日　3月29日（火）　午後の部

A会場　呼吸・電子伝達
B会場　光合成（6）
C会場　遺伝子操作
D会場　環境応答（4）
E会場　オルガネラ（3）
F会場　成長制御（2）
G会場　情報伝達（2）
H会場　光合成（7）
I会場　遺伝子発現（4）

## 2pA01

プラストシアニンの acidic patch の site directed mutagenesis

Lee Byung Hyun[1]，日比野隆，高倍昭洋（名城大・理工・化学，[1]名古屋大・生物分子応答センター）

プラストシアニンは2ヶ所で電子の授受を行うことが示唆されているユニークな蛋白質である。推定されている電子移動経路の1つは，酸性アミノ酸残基が集中した部位に結合した分子が Tyr 83，Cys 84（配位子）を経て Cu と電子の授受を行う。もう1つは比較的疎水的なアミノ酸が存在する部位に結合した分子が His 87（配位子）を介して Cu と電子の授受を行うことが考えられている。これらの点をより詳細に検討するために，今回プラストシアニンの acidic patch を構成するアミノ酸を置換した mutant を6種類作成しその性質について検討した。mutant は acidic patch の負電荷が1個ずつ正電荷に変化するようデザインした。大腸菌で発現させ精製した野生型および mutant は全て銅原子をもっており吸収スペクトル，ＥＳＲスペクトル，酸化還元電位はほとんど同じであった。等電点は酸性アミノ酸残基が減少した mutant ほど大きな値になった。プラストシアニンとチトクロム *f* および P700 の反応速度定数は，酸性アミノ酸残基が減少した mutant ほど減少した。これらのことからプラストシアニンの電子移動経路について検討した結果について報告する。

## 2pA02

プラストシアニンの銅配位子メチオニン残基の site directed mutagenesis

日比野隆，Lee Byung Hyun[1]，高倍昭洋（名城大・理工・化学，[1]名古屋大・生物分子応答センター）

タイプＩ銅蛋白質であるプラストシアニンがチトクロム *f* および P700 を特異的に認識し，効率よく電子移動反応を行なう分子的メカニズムを明らかにするためには，プラストシアニンの site directed mutagenesis の研究が望まれるところである。これまで，プラストシアニンを大腸菌およびトランスジェニック植物で発現させた例が報告されているが，発現量が少ない点，植物自身がもつプラストシアニンを精製過程で取り除かなければならないという問題があり必ずしも有用であるとは言えない。我々はプラストシアニンのシグナルシーケンス部分にペリプラズマ空間へ輸送するシグナルが存在すると仮定して，プレカーサーの一部分が削除された中間 size のプラストシアニン遺伝子を作成し大腸菌で発現させた。その結果，mature size のプラストシアニンがペリプラズマに大量に蓄積することが明らかになった。そこでこのシステムを利用して配位子の1つである Met92→Glu92 の mutant を作成し，酸化還元電位，ESR，吸収スペクトル，P700 およびチトクロム *f* との電子移動活性を測定した。Met92 は Cu との距離が長くその役割には不明な点が多い。これらの結果について報告する。

## 2pA03

トウモロコシ・フェレドキシンイソ蛋白質のcDNAクローニングと構造及び機能解析

松村智裕，長谷俊治，村田博，高尾敏文，下西康嗣（阪大・蛋白研）

葉緑体光化学系Ｉで励起された電子は、フェレドキシン(Ｆｄ)を介して様々な物質代謝系に分配される。現在までに、一つの植物に異なる2分子種以上のＦｄが見出され、生理的に分業している可能性が示唆されている。$C_4$植物であるトウモロコシには、4種類のＦｄイソ蛋白質(FdI, FdII, FdIII, FdIV)が存在し、組織や器官における発現パターンがそれぞれ異なっている。これまでの研究の結果、これらは光合成型Ｆｄ(FdI,FdII)と非光合成型Ｆｄ(FdIII, FdIV)とに大別され、さらに光合成型Ｆｄは、葉肉細胞(MC)と維管束鞘細胞(BSC)の両細胞に存在するFdIと、BSCにのみ存在するFdIIに分類された。本研究では、BSCに特異的に存在するFdII蛋白質の構造や機能に着目した。すでにクローニングされているFdIの遺伝子をプローブとして、FdIとは構造の異なるＦｄをコードするcDNAの単離と塩基配列を決定したところ、その推定アミノ酸配列は質量分析法によって決定されたFdIIやそのプロテアーゼ消化ペプチド断片の分子量とよい一致を示した。FdIとFdIIのアミノ酸配列を比較すると、葉緑体移行シグナルを除いた成熟体領域に限れば90％、全体で74％と高い類似性を示した。蛋白質の機能という観点から、精製したFdI, FdIIを用いてNADP$^+$光還元活性及びCyt.c還元活性を測定したところ、両者に有為な差がみられた。さらに他の電子伝達活性の測定も試みており、これら光合成型Ｆｄの機能特性と構造について比較・検討を行う。

## 2pA04

塩ストレスによる光化学系Ｉの循環的電子伝達系の活性化

日比野隆，加藤彰[1]，高倍鉄子[1]，高倍昭洋（名城大・理工・化，[1]名古屋大・生物分子応答センター）

光化学系Ｉの循環的電子伝達反応は光エネルギーにより獲得された酸化還元力の分配調節に重要な役割を果たすと考えられるが，最近の研究では循環的電子伝達反応にNADH デヒドロゲナーゼが関与することが示唆されている。我々は塩ストレスと循環的電子伝達反応の関係を明らかにすべく研究を進めているが，今回，1）ラン藻に塩ストレスを与えたときの循環的電子伝達反応活性の変化，2）好塩性ラン藻 *Aphanothece halophytica* の NADH デヒドロゲナーゼ遺伝子（ndh）のクローニングを試みたのでその結果について報告する。好塩性ラン藻 *Aphanothece halophytica* を 0.25 - 2.0 M の塩濃度で生育させたときの，酸素発生，光化学系I，II の活性は酸素電極で，循環的電子伝達活性は PAM で測定した。また，0.5 M に適応した細胞に高塩濃度のストレスを与えた場合，および逆の 2.0 M から低塩濃度のストレスを与えた場合についても検討した。同様の測定を *Synechocystis* sp. PCC6803 についても行った。

*Synechocystis* sp. PCC6803 から ndh の一部の遺伝子が単離されているので，*Aphanothece* のライブラリーを作成し PCR 法で ndh I，ndh J，ndh K 遺伝子を増幅した。その結果について発表する。

## 2pA05

C3およびC4植物でのフェレドキシン依存循環的電子伝達

三宅親弘、Henning Hormann[1]、Ulrich Schreiber[1]、浅田浩二
（京都大 食研、Würzburg Univ.[1]）

植物は強光にさらされると、光化学系IIの量子収率を低下させ過剰な光エネルギーを熱として散逸する。この光化学系IIの量子収率低下はチラコイド膜内外で生じるpH勾配（Δ pH）により引き起こされる。我々は、定常光の下でフェレドキシン(Fd)を介する循環的電子伝達がこのΔ pH形成に寄与することを見いだしたので報告する。

ホウレンソウ(C3)、トウモロコシ(C4)、アマランサス(C4)チラコイド膜を嫌気条件下赤外光を光照射すると、チラコイド膜のΔ pH形成を示す9-Aminoacridine (9-AA)蛍光の消光がFd添加により生じた。Fd依存9-AA蛍光消光は脱共役剤(nigericin)、電子伝達阻害剤DCMU,DBMIB,stigmatellinにより、またAntimycin A (Anti A), MOA-stilbeneにより阻害されることから、光化学系Iで光還元されたFdが*Cytbf*複合体Qi部位へ電子を与えることにより、Δ pHが形成されていると考えられる。Fd依存Δ pH形成は$O_2$により嫌気条件下の約35%へと抑制され、またホウレンソウ葉緑体でmethyl viologenを添加しPS Iでの光還元力をすべて$O_2$に与えると、Δ pH形成はAnti Aで阻害されないことから、Fd循環的電子伝達と$O_2$への電子伝達がPS Iで拮抗することが明らかとなった。

光照射下$CO_2$依存の酸素発生を行っている葉緑体ではAntiAで阻害されるFd依存循環的電子伝達がΔ pH形成の23%を占め、$CO_2$固定を行っている条件下でもFd依存循環的電子伝達が機能していることが示された。さらに、$CO_2$が存在しない条件下では、Fd依存Δ pH形成は60%に達した。すなはち、これは電子受容体がないときほど循環的電子伝達が機能していることを示しており、強光、$CO_2$ストレスに対する防御機構としてFd依存循環的電子伝達がΔ pH形成による光化学系IIの量子収率低下に寄与していると考えられる。

## 2pA06

*Synechocystis* 6803のチラコイド膜でのNDHに依存する電子伝達系

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大・[2]理研・太陽光科学）

*Synechocystis* 6803ではNADPHデヒドロゲナーゼ(NDH)に依存するPS I循環的電子伝達が機能していることを spheroplastsで証明した（Mi et al 1994, Plant Cell Physiol in press）。NDHに触媒される光化学系間鎖への電子伝達をチラコイド膜を用い更に詳細に解析したので報告する。

野生株のチラコイドではDCMUの存在下 Methyl viologen によるMehler反応はNADPHの添加によって促進され、さらにこのとき、NADPH添加によって$P700^+$が還元された。これらの反応はロテノンに阻害された。しかし、NDH-遺伝子の欠損した変異株のM55ではこれらの反応は観察されなかった。これらの結果はNADPHから光化学系間鎖への電子伝達がNDHに触媒され、NDHがチラコイド膜に結合していることを示している。

赤色光の照射下で、野生株のチラコイドに酸化型のフェレドキシンを添加すると、蛍光収率は一時的に低下してから、上昇した。これはフェレドキシンが光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ためと考えられる。その場合、励起光を消した後、蛍光は一時的に増大した。この蛍光の上昇はロテノンに阻害され、M55で見いだされなかった。以上の結果から、*Synechocystis* 6803では呼吸電子伝達、NADPH経由の循環的電子伝達だけではなく、フェレドキシンに依存する循環的電子伝達系もチラコイド膜に結合しているNDHによって触媒されることが明らかになった。

## 2pA07

緑藻、ラン藻でのクロロレスピレイションの環境応答

遠藤 剛、米華玲、U. Schreiber[1]、浅田浩二
（京都大・食研、[1]Universität Würzburg）

葉緑体チラコイド膜に存在し光合成電子伝達とキノンプールを共有する呼吸電子伝達系（クロロレスピレイション）の構成分子とその活性制御の知見は少ない。クロロフィル蛍光、P700（光化学系I反応中心）の酸化・還元を指標として呼吸基質からキノンプールへの電子流入を解析した。

*Chlamydomonas reinhardtii* の対数増殖期の細胞では飽和白色閃光(10 ms)照射後の$P700^+$の再還元はDCMUに阻害されるが、定常期細胞では阻害されない。これは定常期細胞では呼吸基質からの電子流入によりキノンプールが還元されているため光化学系IIからの電子供与がない場合にも$P700^+$が還元されるためと考えられる。一方、対数期細胞では呼吸基質からの電子流入が僅かで、光化学系IIからの電子供与がなければ$P700^+$の再還元は極めて遅くなると思われる。またこうしたキノン還元活性の違いを反映して定常期細胞では暗所でチラコイド膜にpH勾配ができ蛍光のEnergy quenchingが観察されるが対数期細胞では観察されなかった。ラン藻*Synechocystis* PCC 6803でも生長段階に依存した呼吸基質によるNADPH dehydrogenaseに触媒されるキノン還元活性の変動がみられた。クロロレスピレイション活性を高める環境因子として、高浸透圧、$CO_2$欠乏、無機栄養欠乏、強光等について現在検討している。またクロロレスピレイションと循環的電子伝達の関連についても検討中である。

## 2pA08

植物チラコイド膜プラストキノンへのNADPHからの電子供与

三宅親弘、小川健一[1]、Ulrich Schreiber[2]、浅田浩二（京都大 食研、[1]京都大 理，植物、[2]Wurzburg Univ.）

らん藻及び緑藻チラコイドでは、NADPHを電子供与体とするNAD(P)Hデヒドロゲナーゼがプラストキノン(PQ)へ電子供与に関与している。我々は、高等植物チラコイドでのPQへの電子供与系をC3及びC4植物を用いて調べた。

ホウレンソウ(C3)、トウモロコシ及びアマランサス(C4)チラコイドにフェレドキシン(Fd)存在下NADPHを添加するとNADPH濃度に依存してクロロフィル蛍光の増大が見られた。また、このときの蛍光増大はKCN添加により促進され、チラコイドにオキシダーゼが存在することが示唆された。さらに、チラコイド膜を光照射したときの蛍光の立ち上がりから酸化型PQプールサイズを求めると、暗中でのFd/NADPH添加によりPQが還元されていることが示された。

DCMU/メチルビオローゲン存在下、ホウレンソウ及びトウモロコシチラコイド膜を光照射すると$P700^+$が酸化され、光照射後$P700^+$は還元されないが、Fd/NADPH添加により$t_{1/2}$ 200 msで還元され、NADPHがFdを介してチラコイドのPQへ電子を与えていることが示された。以上の結果は、高等植物チラコイド膜にもNADPHからPQへの電子供与系が存在していることを示唆する。

## 2pB01

*Synechococcus* PCC7942 株におけるカーボニックアンヒドラーゼ活性の調節

鈴木英治（茨城大・理・生物）

微細藻類やシアノバクテリアのカーボニックアンヒドラーゼ（ＣＡ）活性は、培養時の $CO_2$ 濃度を１～５％（高 $CO_2$ 細胞）から通常の空気レベル（低 $CO_2$ 細胞）に低下させると増大する。 *Synechococcus* PCC7942 株では、ＣＡ遺伝子を破壊すると高 $CO_2$ 濃度要求性を示すことが明らかになっている。同株では、ＣＡの mRNA、活性レベルとも極めて低いが、その生理的意義を解析する目的で、バクテリアの *tac* プロモーターの挿入によるＣＡ発現量の増大を試みた。

ＣＡ遺伝子開始コドンの上流 147 bp を欠失させ、ここに *tac* プロモーターとカナマイシン耐性遺伝子を連結したカセット、あるいはカナマイシン耐性遺伝子のみを挿入した形質転換株を構築し、それぞれ ΔSP::KT1、ΔSP::K2 と命名した。細胞破砕液のＣＡ活性は、$^{13}C^{18}O_2$ を基質としたときの同位体交換反応の速度から算定した。

野生株のＣＡ活性は、高 $CO_2$ 細胞（66 U/mg Chl）に比べ低 $CO_2$ 細胞（110）で高く、生育時の $CO_2$ 濃度による活性の変化が確認された。ΔSP::K2 株では、$CO_2$ 条件にかかわらず活性は極めて低く（7 - 8 U/mg Chl）、ＣＡ遺伝子上流領域は発現に必須であることがわかった。ΔSP::KT1 株における活性は、高 $CO_2$ 細胞で 43、低 $CO_2$ 細胞で 114 U/mg Chl であった。すなわち、ＣＡは *tac* プロモーターに依存して発現したが、野生株と比較して発現量を顕著に増大させる効果は認められなかった。しかし、遺伝子の上流領域を除去したにもかかわらず、生育時の $CO_2$ 濃度による活性の変化が認められたことから、ＣＡ活性調節機構については以下の可能性が考えられる。１）転写制御を担う配列が、遺伝子のコード領域内あるいは下流域に存在する。２）活性調節は、酵素生合成の転写後の段階においておこる。３）*tac* プロモーターを含む DNA 断片に $CO_2$ 濃度変化に応答する配列が存在する。

## 2pB02

単細胞性紅藻*Porphyridium purpureum*の
カーボニックアンヒドラーゼのcDNA cloning

三橋敏、宮地重遠（海洋バイオテクノロジー研究所）

微細藻類のカーボニックアンヒドラーゼ（CA）は葉緑体内に存在するものと細胞表層に存在するものがある。細胞表層CAについては*Chlamydomonas*を用いて色々な角度からの研究が行われている。一方、葉緑体内に存在するCAに関する遺伝子レベルでの研究は行われていない。我々は、葉緑体内にCAをもつ*P.purpureum*を用い、その構造解析、発現解析を行うため、cDNAをクローニングした。

まず、CAの阻害剤をリガンドとしたアフィニティークロマトグラフィーにより精製を行った。これをプロテアーゼにより断片化し部分的なアミノ酸配列を決定した。これをもとにPCR法により800bpのcDNA断片を増幅し、これをプローブとしてcDNA libraryより2kbpのクローンを得た。この塩基配列を解析した結果、数種の高等植物の葉緑体内CA, *Synechococcus*のcarboxysomeに存在するCA, E.coliのCAにおいて保存されているアミノ酸配列をもつことが明かとなったが、*P.purpureum*のみにユニークな残基も十数個存在した。一方、*Chlamydomonas*細胞表層CAや、動物由来CAとの相同性は全くなかった。あわせてCAの誘導についてのnorthern解析についてもふれる予定である。

## 2pB03

ラン藻*Synechococcus* PCC7942炭酸脱水酵素遺伝子上流域の機能解析

福澤秀哉、植村康一、大山莞爾（京大・農化）

多くの水生光合成生物は細胞内に無機炭素を濃縮し有効に利用する機構 (無機炭素濃縮機構) を持つ。中でもラン藻は、高濃度の無機炭素を濃縮する事、形質転換が容易なことから、濃縮機構を研究するために好適な材料である。濃縮された無機炭素の利用に関しては炭酸脱水酵素(CA)が必須であり、*Synechococcus* PCC7942においては、CA遺伝子がRuBPカルボキシラーゼ遺伝子の20 kbp下流に位置する。今回、我々はこのCA遺伝子の上流約8.4 kbpについて塩基配列を決定し、遺伝子破壊による機能解析を行った。

約8.4 kbpの中には、少なくとも7つのオープンリーディングフレーム(ORF)をとることが可能であった。コンピューターによる解析の結果、このうち4つのORFについては既知の遺伝子とホモロジーがみられ、特にそのうち２つのORFはそれぞれ、無機炭素濃縮及び固定に関与する遺伝子であると推測された。

## 2pB04

ダイズ植物個体に於ける光合成source-sink機構に関する研究

沢田信一、戸津高明、榎本聡堤、葛西身延（弘前大・理・生）

我々は高等植物（特に、$C_3$植物）に於ける光合成のsource-sink機構について研究を進めてきた。高等植物は光合成のsource器官として、ageの異なる多数の葉と、sink器官として茎、根、花器等の多種多様な器官からなる複雑なシステムである。そこで、ダイズの初生葉の基部に発根させ、source器官が一枚の葉のみであり、sink器官が根系だけの単純な光合成のsource-sinkモデル植物を開発した（Sawada et al.,1986-1992）

このモデル植物に環境ストレスを与え、sink limitにした場合の光合成低下の原因は、①葉にsucroseが蓄積し、②sucrose合成能が低下し、③炭素固定からsucrose合成経路に懸けての中間代謝産物のリン酸エステルが蓄積し、④クロロプラスト内のPi量が低下し、⑤このPi量の低下によるRuBPcase活性の制御によることが明かとなった。

このモデル植物で明かとなったsource-sink機構の調節がダイズ個体植物に於ても同様に機能しているかについて検討した。その結果、バイオトロン内の一定生育条件下で生育したダイズ個体の花芽を除去することによって、sink limitにした場合にも、光合成能は低下した。この場合も、モデル植物に於て認められたと同様にPi量の低下によるRuBPcase活性の制御によって光合成能が低下することが認められた。

## 2pB05

イネ葉の高$CO_2$分圧条件下における光合成速度の律速因子について

日出間純[1]，牧野周，佐藤一志，小島邦彦，前忠彦（[1]東北大・遺生研，東北大・農・農化）

光飽和，高$CO_2$分圧条件下での光合成速度と，電子伝達活性のkey-components の1つであるCyt f 量，及びsucrose 合成のkey emzyme であるSPS 活性とcytosolic FBPase 活性との関係について解析を行った．材料として，イネ一般栽培種と黄色変異種を用いた．黄色変異種は，Chl 含量のみでなく，Cyt f 含量も少なく，一般栽培種に比べRubisco に対するCyt f 量の比が低い品種である．そこで，これら2品種を用いて以下に示す点について比較解析を行った．①Cyt f 含量と気相酸素電極法による5% $CO_2$条件下での最大酸素発生速度との関係について．②ガス交換同化箱法による，光飽和，Ci ≧ 50 Pa での最大光合成速度の測定．ただし最大酸素発生速度及び最大光合成速度は，それぞれのP:I カーブより計算上算出した値とした．③SPS，cytosolic FBPase の酵素活性の測定．その結果，❶Cyt f 含量が酸素発生速度の律速因子になり得ることを確認した．❷Cyt f 含量に対するCi ≧ 50 Pa での光合成速度は，異なる2本の直線上に回帰された．

これらの結果は、Cyt f 含量が光飽和，高$CO_2$分圧条件下における光合成速度の律速因子にならない場合のある可能性を示唆した．また高$CO_2$分圧条件下におけるガス交換の$CO_2$同化速度と，酸素電極法による$O_2$発生速度は必ずしも一致しないことを意味した．

## 2pB06

In vitro 培養された完全寄生植物ネナシカズラの光合成能

古橋勝久、三宅博[1]、柴田優[2]、山田恭司[2]（新潟大・理・生物、[1]名古屋大・農・生物資源、[2]富山大・理・生物）

ネナシカズラ（Cuscuta japonica)は、他の植物に寄生することなしに生きることができないことから、完全寄生植物に分類されている。　このことは、ネナシカズラが光合成能を失っている植物という印象を一般に与えてきた。　しかし、我々は、これまでの研究で、この植物には色素体中の光合成関連遺伝子が完全に保存されていることや、この植物の in vitro 培養系では、植物が濃い緑色を帯びることを見出し、ネナシカズラにおける光合成能の欠損には疑問が生じた。　本研究では、その疑問に答えるため、培養されたネナシカズラがどの程度の光合成能を有するかを調べた。

ネナシカズラは、in vitro で培養された時、160−250 μg/g fresh wt. の クロロフィル を含んでいる。この値は、光独立栄養的に成長するタバコ緑色カルスよりはるかに高い値である。　$^{14}CO_2$を用いて炭酸固定能を測定したところ、2時間以上にわたってほぼ直線的に$^{14}C$が取り込まれ、メタノール不溶性分画での放射能も直線的に増加した。　また、この放射能の量は、ハマヒルガオを用いた実験に比べて新鮮重あたりで約 1/6，クロロフィルあたりで約1/2であった。　このことは、培養されたネナシカズラが相当高い光合成能を有することを示している。

## 2pB07

葉の濡れによる光合成の不可逆的な阻害およびその解析

石橋百枝、寺島一郎（東大・理・植物）

これまで雨が植物に及ぼす影響とその機構は、根への水分供給という観点でのみ論じられ、降雨が同時に引き起こす「濡れ」については軽視されてきた。二酸化炭素の水の中での拡散速度は空気中の拡散速度よりも1万倍遅く、したがって水滴による機構の物理的な閉塞は光合成に必要な二酸化炭素の獲得を妨げることが予想される。本研究では、濡れが植物の光合成や気孔反応に及ぼす影響について調べた。人工降雨装置を作成し、霧状の散水処理を材料のインゲンマメ（Phaseolus vulgaris L.）に施したところ以下のことが明らかになった。　①降雨処理を始めて約2分で気孔は完全に閉じ、その後ゆっくりと開度を増し、約1時間でもとの約半分の開度で平衡状態に達した。濡れたままの葉の光合成速度は気孔開度と共に変化し、処理前の約60％で平衡に達した。　②24時間の降雨処理後、水滴を拭き取って測定した最大光合成速度は、処理前の約60−70％に低下し、処理を中止して3日経過しても回復しなかった。　③光合成の律速部位を知るために光合成速度の二酸化炭素濃度依存性を調べると、降雨処理を開始してから6時間で高二酸化炭素濃度での光合成速度が著しく減少し、また、24時間降雨処理では低濃度、高濃度ともに著しい減少が見られた。　これらの結果から、葉の濡れによる光合成阻害が葉緑体内の二つ以上の要因によることや不可逆的な阻害であることが明らかになった。

## 2pC01

酵母 *Saccharomyces exiguus* に対して高い形質転換能を有する DNA 断片の機能解析

久冨泰資，和田裕，壺井基夫（福山大・工・生物工学）

私達は、*Saccharomyces* 属酵母における種の隔離・分化機構を明らかにする目的から、*S. exiguus* と *S. cerevisiae* のゲノム構成及び各種遺伝子の構造・機能について種間での比較解析を行っている。その基礎として、*S. exiguus* の宿主ーベクター系の開発にあたり、*S. exiguus* のゲノムより、ARS 機能を有すると思われる6種の高形質転換能 DNA 断片を単離した。

これらの DNA 断片の機能について、使用した*S. cerevisiae* のマーカー遺伝子の置き換えや *S. cerevisiae* の ARS 及び 2μm-origin との形質転換効率の比較を通して、以下のような結果を得た。① *S. cerevisiae* の *LEU2* 遺伝子を含む DNA 断片は *S. exiguus* 細胞に対して高い形質転換能を持つ。② *S. cerevisiae* の ARS 及び 2μm-origin は *S. exiguus* 細胞に対して高い形質転換能を持つ。③単離した *S. exiguus* の高形質転換能 DNA 断片を *S.cerevisiae* の *LEU2* 遺伝子，ARS，2μm-origin などと組み合わせると、*S. exiguus* 細胞に対する形質転換効率が低下する。この現象の原因として、環状プラスミド上に2個の複製起点（diARS）があるために、その複製機能が低下した可能性が考えられる。

## 2pC02

パーティクルガン法により得られた形質転換体の染色体ＤＮＡにおける外来遺伝子組込み部位の塩基配列の決定と解析　（１）

清水克哉，川上茂樹，山田隆[1]，五島直樹[2]，田中俊憲，入船浩平，森川弘道（広島大，理，遺伝子科学・[1]広島大，工・[2]京都薬大，生命研）

我々は、パーティクルガン法により得られた形質転換体を用いて、外来遺伝子組込み部位の塩基配列の解析を進めている。

実験材料として、pCaMVNEO (CaMV 35S pro－*nptII*－NOS ter)をパーティクルガン法により導入して得られたタバコ形質転換培養細胞(BY-2)[1]の一系統(2-1)を用いた。パルスフィールドゲル電気泳動による解析から、2-1株では、*nptII*を含む3つ(約10 kb, 15 kb, 25 kb)の*Stu* I (pCaMVNEOに認識部位を持たない)断片がみられた。そこで、2-1株の全DNAをStuIで分解し、ショ糖密度勾配遠心により分画した後、λ-FIXIIを用いてクローニングを行った。スクリーニングの結果、13.5 kbのＤＮＡ断片を含むポジティブクローンを得、ジャンクション領域の塩基配列の決定を行った。その結果、組込まれたplasmid DNAの５’および３’両ジャンクション領域には、逆平行な1.3 kbのゲノムDNAの配列が認められた。

1)Iida, A., Morikawa, H., Yamada, Y. (1990) Appl. Microbiol. Biotechnol. 33:560－563.

## 2pC03

パーティクルガン法により得られた形質転換体の染色体ＤＮＡにおける外来遺伝子組込み部位の塩基配列の決定と解析（２）

川上茂樹、清水克哉、田中俊憲、入船浩平、森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

我々は、パーティクルガン法により導入された外来遺伝子の組込み部位の解析を進めている。今回、ジャンクション領域のＤＮＡ配列解析及びジャンクション領域に存在するゲノムＤＮＡをプローブに用いたサザン解析をおこなった結果について報告する。

実験材料としてタバコ培養細胞（BY-2）にpCaMVNEO(CaMV35S pro-*nptII*-NOS ter)を導入して得られた形質転換株１０系統を用いた。このうちの一系統（2-1）についてジャンクション領域を含むＤＮＡ断片(13.5kb)のクローニングを行い、塩基配列を決定した（清水ら　本学会発表）。クローニングした断片には導入したplasmid がタンデムに２コピー連なっており、5’および3’両ジャンクション領域には相同な１.９５ｋｂ（１.３ｋｂのゲノムＤＮＡ配列および0.65ｋｂのベクター配列）の配列が逆向きに向かい合う形で存在していた。次に、この配列が他の形質転換体株のジャンクション領域にも存在するのか調べるため、このジャンクション領域に存在するゲノムＤＮＡをプローブに用いて他の9系統の形質転換体株とのサザン解析を行った。その結果10系統中、2-1を含めて3系統においてその存在が示唆された。

## 2pC04

苗条原基形成を利用したユーカリの形質転換

河津哲，伊藤一弥，土肥敬悟，辻真理子，園田哲也，柴田勝（新王子製紙・林木育種研究所）

ユーカリ属は木本性植物としては生長性に優れ，また材質資源としても優れた特性を有する世界の主要造林木である。しかしながら，ユーカリ属を材料とする応用的研究は立ち遅れているのが現状である。この一因としてユーカリ属の組織からの再分化技術の未熟さが考えられる。

我々は木本性植物の様々な器官を回転培養することによって得られる苗条原基が高い再分化能を有することを既に報告している。今回ユーカリ(*Eucalyptus camaldulensis*)の子葉，胚軸苗条原基等の各組織に対してアグロバクテリウム菌 LBA4404及びEHA101を感染させ，ハイグロマイシン抵抗性遺伝子及びβ－グルクロニダーゼ遺伝子を導入した。さらに，形質転換頻度の向上を目的にアグロバクテリウム菌株，感染組織及び共存培養の添加物質等について検討し，得られた形質転換カルスから苗条原基誘導を行うことによって効率的に形質転換植物の再生が行えることを明らかにした。ここではアグロバクテリウム菌による形質転換頻度の向上に関与するいくつかの要因を明らかにするとともに，カルスから直接器官分化が困難な植物種において，苗条原基形成が形質転換植物の作出に有効な手段になりうることを報告する。また木本性モデル植物としてのユーカリの可能性についても言及する。

## 2pC05

酵母から植物細胞への直接的なDNA導入法の確立

初山慶道，寿永七月男，土生芳樹，石川雅之，川本伸一，内藤哲，大野哮司（北大・農・応用生命科学）

植物の染色体の研究、および植物の遺伝子クローニングへの応用を目的として、大きさが100 kb以上ある酵母の人工染色体(YAC)を植物細胞に容易に導入できる方法の開発を行っている。導入方法として、ポリエチレングリコール(PEG)を用いた酵母スフェロプラストと植物プロトプラストの融合を応用することを考えた。植物由来のイントロンを持ったβ-グルクロニダーゼ（イントロン-GUS）遺伝子は酵母では発現が抑制され、植物細胞では高発現する。このイントロン-GUS遺伝子を酵母の多コピープラスミドベクターに挿入したモデルプラスミドを構築し、酵母から植物プロトプラスト(*Arabidopsis thaliana*)に導入されたことをGUS活性によって判定した。その結果、PEGと高pH-高$Ca^{2+}$溶液の処理によって、高いGUS活性を与える条件を確立することができた。確立した条件にDNA分解酵素を加えて処理を行った場合でもGUS活性に影響がなかったことより、DNA導入のプロセスは、細胞外に放出されたDNAが植物細胞に取り込まれたのではなく、酵母から植物に直接的に受け渡されていること示している。現在、この方法によってYACを導入するために、Tobacco BY-2プロトプラストを使用してDNA導入の処理を行い、プロトプラストからの増殖の実験を行っている。

## 2pC06

ヘアピン型リボザイムを用いた遺伝子発現抑制法の開発の試み

久松　伸[1、2]、其木茂則[1]、菊池　洋[2]（[1]麻布大学・環境保健、[2]三菱化成・生命研）

タバコリングスポットウイルスのマイナス鎖サテライトRNA　[(-)sTRSV RNA]は自己切断をするRNAである。この(-)sTRSV RNAは、$Mg^{2+}$存在下において特異的な塩基配列のところで自己切断をおこし、2',3'サイクリックリン酸末端及び5'水酸基末端を生ずる。また、(-)sTRSV RNAの塩基配列中には、50塩基の触媒ドメインと14塩基の基質ドメインを含むことが同定されている。このRNAはヘアピンループ構造をとっているため、ヘアピン型リボザイムと呼ばれている。最近、このリボザイムが持つ切断能力を利用して、天然のRNAを標的とするリボザイムを設計し切断する試みがなされているが、このタイプのリボザイムを設計するための一般則は充分確立されていない。しかし、これまでに報告されているリボザイムの中でも、このヘアピン型リボザイムは*in vitro*において高い切断活性を持っているとされているため、遺伝子の発現抑制の道具として用いることが期待されている。

我々は、植物細胞中でヘアピン型リボザイムを発現させるために、発現システムが確立しているβ-glucuronidase(GUS) mRNAを標的とするヘアピン型リボザイムをいくつか設計したところ、*in vitro*においてGUS RNAを切断することができた。また基質結合ドメインを長くしたリボザイムは切断活性が強く、植物細胞の一般的な培養温度である26℃においても効率よく切断した。現在、このリボザイムが植物細胞の中で機能するか検討中であり、あわせて報告したい。

## 2pC07

シロイヌナズナ及び小麦イミダゾールグリセロールリン酸デヒドラターゼ　cDNAの単離と構造解析

多田幸代, Sandra Volrath[1], David Guyer[1], Alfred Scheidegger, John Ryals[1],太田大策, Eric Ward[1](日本チバガイギー（株）国際科学研究所, [1]Ciba-Geigy Corp., U.S.A.)

イミダゾールグリセロールリン酸デヒドラターゼ (IGPD)は、微生物のヒスチジン生合成経路に関与する酵素でその遺伝学的、生化学的研究が詳細になされている。一方高等植物においても大麦及びオート麦、エンドウ葉の粗抽出液中に本酵素活性が確認されており、小麦胚芽からは均一な本酵素標品が得られている。今回、我々は、高等植物におけるヒスチジン生合成経路を解明することを目的としてシロイヌナズナ、及び小麦からIGPD cDNAを単離したので報告する。まず、大腸菌のIGPD欠損変異株 (hisB, $F^+$)のHis要求性をシロイヌナズナcDNAライブラリーを用いて遺伝的に相補することでIGPD cDNAを得た。得られたIGPD cDNAはN末端に葉緑体輸送シグナル様配列を含む２７０個のアミノ酸から成るタンパクをコードしていた。予測される成熟タンパクは微生物由来の本酵素と約５０％の相同性を示した。またサザンブロットとPCR解析によりゲノム上に２つのIGPD遺伝子が存在することが示唆された。さらにシロイヌナズナ IGPD cDNA をプローブにして小麦のcDNAライブラリーをスクリーニングしN末端部分を欠く IGPD cDNA 断片を得た。この小麦 IGPD cDNAから予測されるタンパク一次構造は精製タンパクから得た部分アミノ酸配列を含みシロイヌナズナIGPDと８７％の相同性を持っていた。

## 2pC08

植物のイミダゾールグリセロールリン酸デヒドラターゼのバキュロウイルス発現系による大量発現

多田幸代, 波多野美香, Sandra Volrath[1], Eric Ward,[1]
太田大策(日本チバガイギー（株）国際科学研究所,
[1]Ciba-Geigy Corp., U.S.A.)

我々はバキュロウイルス発現系及び宿主細胞としてTrichoplusia ni (Tn) 細胞を用い先に単離したシロイヌナズナのイミダゾールグリセロールリン酸デヒドラターゼ (IGPD) を発現した。IGPDの発現は組み換えウイルス感染後５日目に最大となりその９０％以上がTn細胞培地中に分泌されていた。この細胞培地中より透析、イオン交換クロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィーの順で組み換えIGPDを精製した。この標品はSDS-PAGE上で分子量約２４KDaの主要バンドを与えた。このことは、シロイヌナズナの全長cDNAがTn細胞中で発現された後非特異的にN末端の葉緑体輸送シグナルが切断され成熟タンパクとなったことを示唆している。一方、先に単離されたN末端部分を欠く小麦IGPD cDNA断片はシロイヌナズナ IGPD cDNAのN末端部分とのキメラcDNAを構築することにより発現した。発現したこれらの組み換えタンパクと小麦胚芽由来の精製タンパクの酵素化学的性質を比較検討した。

## 2pD01

*N. sylvestris*オスモチン様タンパク質遺伝子の発現制御領域の解析

佐藤文彦、北島サキト、小岩尚志、山田康之　（京都大・農・農化）

タバコオスモチン様タンパク質（OLP）は、根および培養細胞で恒常的に発現し、また葉でエチレンにより発現誘導を受けるPR（Pathogenesis-related protein）-5ファミリーに属する中性タンパク質である。我々は、OLPの発現制御機構の解明を目的としてゲノム遺伝子の単離と構造決定および発現制御領域の解析をおこなった。

*Nicotiana sylvestris*のゲノムライブラリーより、タバコOLPcDNAをプローブとしてOLP遺伝子を単離し、その塩基配列を決定した。予想される転写開始点付近から-0.5kbにわたって、PR-5の塩基性タンパク質であるオスモチン遺伝子と高い相同性が認められた。しかし、オスモチン遺伝子のこの領域に存在するABA応答性領域は、OLP遺伝子には認められず、塩ストレスに対する両遺伝子の発現応答様式の相違を反映しているものと考らえれた。

OLP遺伝子の発現制御機構を解析するため、5'上流領域約2kbをGUS遺伝子に連結し、タバコに導入したところ、このキメラ遺伝子は葉でのエチレン誘導性および根での恒常的発現性を保持していた。現在、パーティクルガンをもちいたトランジェントアッセイにより、これらの発現制御領域の同定を試みている。

## 2pD02

トマトLipid transfer protein遺伝子の発生段階および環境に制御された発現

今井亮三[1,2], Meena S. Moses[1], 高木正道[2], Elizabeth A. Bray[1].
([1]Botany Dept., U.C.Riverside, [2]東大・農・農化)

我々はトマトより乾燥ストレス下ABAで誘導される*le16*遺伝子を単離した。*le16*は非特異的lipid transfer protein (nsLTP)をコードしている。nsLTPの機能と発現調節を探るため、形質転換タバコを用いて、*le16*の発現パターンを解析した。2 kb上流或をGUS リポーター遺伝子と融合させ、タバコに導入した。キメラ遺伝子の発現は組織化学的あるいは蛍光定量的に検出した。葉において、GUS活性は表皮のtrichomeとguard cellでのみ検出された。trichomeにおける発現は乾燥およびABAで誘導された。GUSの発現は非ストレス下の花組織においても発生段階特異的に検出された。GUS活性は柱頭、花柱および子房壁において蕾の長さが22mmに達するまで検出され、それ以降は花粉でのみ検出された。受粉後、GUS活性は再び子房壁において数日間検出された。種子における発現は開花後15日にピークをむかえ、ABAの蓄積のパターンと相関した。これらの結果はnsLTPの機能として、既に示されている抗菌作用以外に、cuticle層の生成を通して乾燥からの保護作用の可能性を示唆する。更に、*le16*の上流域に欠失を導入し、ABA応答性や発生段階特異的な発現に関与する領域の決定についても述べる予定である。

## 2pD03

短時間の乾燥ストレスにより誘導されるシロイヌナズナ遺伝子群cDNA（ERD10、11、13、14）の解析

清末知宏、篠崎和子[1]、篠崎一雄（理研・植物分子生物、[1]農水省・国際農研）

我々はシロイヌナズナに於て短時間の乾燥ストレスによって誘導される遺伝子のcDNAクローン（ERD）をこれまでに１６種類単離し、その解析を進めており、これまでにERD2、8、16が各々hsp70-1、hsp81-2、ubiquitin extension proteinの cDNAと同一であり、ERD1が大腸菌のATP-dependent protease regulatory subunit （ClpA）と類似性を有していることを報告している（９３年度植物生理学会）。今回、塩基配列の解析の結果から、ERD11とERD13がタバコのオーキシン誘導性遺伝子*parB*、トウモロコシのglutathione S-transferase IIIと、ERD10とERD14がイネのアブシジン酸（ABA）誘導性遺伝子*rab16*や他のGroup II late embryogenesis abundant（LEA）proteinと類似性を有していることが明かとなった。しかし、ERD11、13ではオーキシンによる遺伝子発現の誘導は認められなかった。一方、ERD10、14ではABAによる遺伝子発現の誘導は見られたが、種子形成後期での発現は認められなかった。発現解析の結果からERD10、14の遺伝子発現には少なくとも２つのシグナル伝達経路の関与が示唆された。

## 2pD04

好熱性ランソウの熱ショック蛋白について

檜山哲夫，藤　正則，椙谷康一，市川久詞，仲本　準（埼玉大・理・生化）

好熱性ランソウ（*Synechococcus vulcanus*）は通常の生育温度（55°C）から60°C以上の温度にすると、多少生育速度が低くなるが、菌体内のいくつかの蛋白質の量が異常に増加する。最も顕著なものは、SDS-PAGEで60kDa付近のバンドで、アミノ酸部分配列の分析から、熱ショック蛋白GroEL型のシャペロニンであることが分った。さらにGroESやDnaKを含むいくつかの熱ショック蛋白のバンドが同定された。これらの蛋白の熱による誘導は、時間経過や温度感受性に関してそれぞれ異なっていて、耐熱機構における関与の仕方が異なっていることを示唆する。またそれらの蛋白について単離精製して性質を調べた結果と、他の好熱性ランソウに関して同様な解析を行った結果も合わせ報告する予定である。

## 2pD05

好熱性ランソウSynechococcus vulcanusの熱ショックタンパク質遺伝子

仲本準、田中直樹、檜山哲夫（埼玉大・理・生化）

我々は昨年度本大会で、好熱性ランソウSynechococcus vulcanusのＨＳＰ様遺伝子の構造と、この遺伝子産物とは異なる６３ｋＤａのポリペプチドが熱ショックにより顕著に蓄積することを発表した。本研究では、このＨＳＰ様遺伝子（１６６２ｂｐ）の転写産物（１．８ｋｂ）がモノシストロニックmRNAであること、及び、これが熱ショックにより増加することを明らかにした。一方、６３ｋＤａポリペプチドのN末端及びリジルエンドペプチダーゼ処理後に得られたペプチド断片アミノ酸配列に従ってオリゴヌクレオチドを合成し、これらをプライマーにし、Synechococcus vulcanus染色体ＤＮＡを鋳型にして、ＰＣＲ法により約５４０ｂｐの産物を得た。その塩基配列から推定したアミノ酸配列はペプチド断片のアミノ酸配列と一致した。従って、このＰＣＲ産物は６３ｋＤａポリペプチドの遺伝子の一部であると断定した。これをプローブにしてその転写産物を調べたところ、その大きさは約２．３ｋｂであり、この遺伝子は、オペロン構造をとることが予想された。また、その転写産物は、熱ショックにより顕著に増加した。現在この遺伝子の全構造を解析中である。

## 2pD06

ラン藻の熱ショックタンパク質遺伝子の解析およびその形質転換体の作成

林　秀則、村田紀夫（基生研）

ラン藻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、形質転換型ラン藻から熱ショックタンパク質の遺伝子をクローニングし、塩基配列、発現レベルを解析し、さらにこれを破壊した形質転換体を作成した。

*Synechococcus* PCC7002 において大腸菌の *groEL* 遺伝子に類似した遺伝子が2種類同定された。両者とも、そのmRNAの量が 46℃、1ｈの熱処理によって著しく増加したことから、熱ショックタンパク質の遺伝子と判断された。しかし両*groEL*遺伝子には明らかに差異があった。一方はその上流に大腸菌の *groES* 遺伝子に類似した遺伝子が存在し、mRNA のサイズおよび転写開始点から判断して*groESL* オペロンとして存在していることが分かった。他方の *groEL* 遺伝子には *groES* 遺伝子に類似した遺伝子は付随していないが、カルボキシル末端付近のアミノ酸配列に大腸菌の GroEL と同様な Gly-Gly-Met の繰り返し配列が見られた。

熱ショックタンパク質の遺伝子を破壊するために、カナマイシン耐性遺伝子カートリッジを*groEL* 遺伝子に挿入した。相同組換えによって*groEL* 遺伝子が破壊された形質転換体を、カナマイシンを含む培地によって選別した。現在この形質転換体の高温耐性について解析を進めている。

## 2pE01

サツマイモβ-アミラーゼの細胞内局在部位

松岡　健[1]、佐藤　豊[1]、高木規子[1]、武内由佳[2]、西村いく子[2]、西村幹夫[2]、中村研三[1]（1名大・農・生化、2基生研、細胞機構）

多くの植物の澱粉を大量に蓄積する器官にはβ-アミラーゼが存在している。生体内でのβ-アミラーゼの役割を知るためには、その細胞内局在部位を明らかにすることが必須である。これまでに、ホウレンソウの葉緑体、穀物やサツマイモ塊根の澱粉粒の表面、*Arabidopsis* の葉の液胞等にβ-アミラーゼが見出されるとの報告がなされている。しかしながら、植物β-アミラーゼの前駆体のN-末端に葉緑体や小胞体への移行のための延長ペプチドは存在せず、もしβ-アミラーゼがプラスチドや液胞に存在するとすれば、これらオルガネラへのβ-アミラーゼの輸送機構は現在までに知られている機構と異なると考えられる。そこで、今回は、サツマイモのβ-アミラーゼの細胞内局在部位を数種の方法で再検討した。

ショ糖溶液処理によりβ-アミラーゼを発現しているサツマイモ葉由来の磨砕液を遠心により分画すると、β-アミラーゼは可溶性画分に回収された。また、この磨砕液をPercollの連続密度勾配遠心により分離すると、葉緑体は沈殿したが、β-アミラーゼは沈殿しなかった。さらに、このサツマイモ葉由来のプロトプラストより調製した液胞画分にβ-アミラーゼは殆ど回収されなかった。これらの実験結果はβ-アミラーゼが細胞質に局在していることを強く示唆している。次に、CaMV35S プロモーターの制御下にβ-アミラーゼを発現させた形質転換タバコ培養細胞やサツマイモ培養細胞での局在部位を細胞分画法により検討した。この結果も、β-アミラーゼが細胞質に局在することを示していた。さらに、β-アミラーゼを発現しているサツマイモ葉細胞でのβ-アミラーゼの局在を抗β-アミラーゼ抗体を用いた免疫電子顕微鏡法によって検討した結果も細胞質局在を示しており、サツマイモβ-アミラーゼは細胞質に局在している酵素であると考えられた。

## 2pE02

サツマイモ培養細胞における液胞内蛋白質（ＶＰ２４）の発現とアントシアニン集積における役割

野末雅之，久保浩義，山田健志，近藤真紀[1]，林　誠[1]，西村幹夫[1]，安田 齊（信州大・理・生，[1]基生研・細胞生物）

我々は先に，アントシアニン高生産性サツマイモ培養細胞の液胞内に，アントシアニン生成と同調して発現する約２４ＫＤの蛋白質（ＶＰ２４）が存在すること，またアントシアニンを集積しているアントシアノプラストと呼ばれる液胞内構造物が存在することを報告した．今回，ＶＰ２４の発現様式およびアントシアノプラスト形成における役割について以下の検討を行った．

光誘導アントシアニン生成株（ＡＬＮＤ）では，ＶＰ２４の発現は光照射で誘導され，２，４－Ｄ添加で抑制される．一方，暗所下アントシアニン生成株（ＡＬＤ）では，光照射に関係なくＶＰ２４が発現される．また，アントシアニンを含むサツマイモ塊根周皮，芽，葉においても同様にＶＰ２４の発現が確認される．多量のアントシアニンを集積しているサツマイモ培養細胞の免疫電子顕微鏡観察により，ＶＰ２４がトノプラストではなく，液胞内構造物（アントシアノプラスト）に局在することが明らかにされた．以上の結果，ＶＰ２４の役割の一つとして，液胞内でのアントシアノプラストの形成に機能することにより，アントシアニンの液胞内集積に関与していることが示唆された．

## 2pE03

カボチャ種子プロテインボディの膜貫通型タンパク質

井上香織[1,2]、武内由佳[1]、西村いくこ[1]、西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物、[2]総研大・生命科学）

カボチャ種子プロテインボディには28kDaと23kDaの2種類の膜貫通型タンパク質が存在し、両者は免疫化学的に類似する。この2つのタンパク質の量は種子の発芽後に減少し、やがてプロテインボディの液胞化に伴って消失していく。

演者らはこれまでに23kDa膜タンパク質のcDNAクローンを単離して解析し、23kDa膜タンパク質は29kDa前駆体として合成されること、29kDa前駆体の一番目と二番目の膜貫通領域の間のループが切断されて23kDa膜タンパク質が生じることを示した[1)]。今回、23kDa膜タンパク質のcDNAをプローブとして登熟カボチャ子葉cDNAライブラリーをスクリーニングし、新たに分子量28,560のタンパク質をコードするcDNAクローンを得た。この予想アミノ酸配列が、プロテアーゼ処理によって生じた28kDa膜タンパク質由来のペプチド断片のアミノ酸配列を含んでいたことから、得られたクローンが28kDa膜タンパク質のcDNAクローンであることが判明した。この28kDa膜タンパク質は23kDa膜タンパク質と88％の相同性を示し、両タンパク質とも種子の液胞膜貫通型タンパク質（αTIP）ホモログであった。

次に種子登熟期における28kDa、23kDa膜タンパク質の発現パターンを調べるために、Northern hybridization による解析を行った。この結果、28kDa、23kDa膜タンパク質の転写産物は登熟初期に出現し、その発現パターンは種子貯蔵タンパク質のそれとは異なることが明らかとなった。Western blotting 及び免疫電顕による解析も併せて報告する。

1)　井上香織ほか(1992)　日本植物学会講要　p.137

## 2pE04

発芽カボチャ子葉で発現されるアコニターゼの機能
林　誠、西村幹夫（基生研、細胞生物）

［目的］アコニターゼは、クエン酸とイソクエン酸の可逆的な相互変換を触媒する酵素である。カボチャなど脂肪性種子植物の発芽子葉では、アコニターゼがTCA回路の一員としてミトコンドリアに存在する他に、グリオキシル酸回路の一員としてグリオキシソームにも存在すると考えられていた。ところが、カボチャ黄化子葉を細胞分画したところ、アコニターゼ活性は、ミトコンドリアと細胞礎質にのみ検出され、グリオキシソームには検出されなかった。そこで、発芽カボチャ子葉におけるアコニターゼアイソザイムの機能分担について解析を行った。

［結果］ホモロジー検索の結果、黄化カボチャ子葉から単離したアコニターゼcDNAは細胞礎質に局在するアイソザイムをコードすることが示唆された。そこでこのアコニターゼの168-330アミノ酸領域に特異的な抗体を作製し、ウェスタンブロット法および蛍光抗体法によって解析を行ない、以下のような結果を得た。（1）発芽過程におけるアコニターゼの変動は、グリオキシル酸回路の酵素群の変動とよく一致する。（2）この抗体は、細胞礎質とミトコンドリアのアコニターゼの両方に反応するが、グリオキシソームには反応性のあるタンパク質がない。以上の結果から、グリオキシル酸回路に働くアコニターゼはグリオキシソームではなく細胞礎質に存在することが示唆された。

## 2pE05

ヒマ種子の液胞プロセシング酵素の構造と活性化機構
西村いくこ、西村幹夫（基生研・細胞生物）

液胞プロセシング酵素は登熟種子液胞内で種子タンパク質のプロ型前駆体を成熟型に変換するシステンプロテイナーゼである[1,2,3]。本酵素のcDNAを単離し、その前駆体の一次構造が明らかになったので報告する[4]。

ヒマ胚乳の液胞プロセシング酵素のN末端はブロックされていたので、ブロムシアン切断で生じた内部のペプチドのアミノ酸配列を決定し、これに相当するオリゴDNAを用いて登熟ヒマ種子胚乳のライブラリーから本酵素のcDNAを単離した。推定される一次構造は既知のシステインプロテイナーゼとのホモロジーはなく、唯一ヒトの寄生虫である住血吸虫*Schistosoma mansoni*のシステインプロテイナーゼと33%の相同性が認められた。本酵素の前駆体はシグナルペプチドを持つ55kDタンパク質であるが、活性型酵素は37kDであることからプロペプチドの存在が示された。一方、免疫電顕によって、本酵素が種子タンパク質前駆体の輸送ベシクルに局在していることが明らかになったが、単離したベシクル中では種子タンパク質前駆体のプロセシングは起こらないことから、ベシクル中の酵素は不活性型であると考えられた。以上の結果より、本酵素の55kD前駆体はシグナルペプチド、活性型酵素領域そしてC末端側のプロペプチド領域からなっていること、そして活性型への変換にはプロペプチドの除去が必要であることが判明した。


1. Hara-Nishimura, I. *et al.*, **FEBS Lett.**, 294: 89-93 (1991)
2. Hara-Nishimura, I. *et al.*, **Plant Journal**, 4: 793-800 (1993)
3. Hiraiwa, N. *et al.*, **Plant & Cell Physiol.**, in press (1993)
4. Hara-Nishimura, I. *et al.*, **Plant Cell**, in press (1993)


## 2pE06

ヒマ種子にみられる酵母プロテイナーゼA様のカルボキシルプロテアーゼ
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・生命科学）

プロテイナーゼAは酵母液胞のプロカルボキシペプチダーゼYのプロセシングに関与していると考えられている。これと同じファミリーに属するカルボキシルプロテアーゼ（アスパラギン酸プロテアーゼ）をヒマ及びカボチャ種子より精製したので、この構造と性質について報告する。

両種子より単離したプロテインボディの可溶性画分を出発材料とし、ペプスタチン-アガロースを用いて本酵素を精製した。精製酵素のヘモグロビン分解活性はペプスタチンにより阻害された。精製ヒマ酵素は酵母や動物のカルボキシルプロテアーゼとは異なりジスルフィド結合した32kDと16kDのサブユニットからなっていた。一方、登熟カボチャ子葉のライブラリーより単離した本酵素のcDNAは54kDの前駆体をコードしていたが、この配列を他のカルボキシルプロテアーゼ前駆体と比較すると、112アミノ酸残基よりなる挿入領域が存在していた。植物カルボキシルプロテアーゼの翻訳後の切断機構を解析するため、各サブユニットのN末端アミノ酸配列を決定したところ、翻訳後の切断はこの挿入領域内で起こっていることが判った。

本酵素は登熟種子の液胞に局在しているが、種子タンパク質のプロ型前駆体の成熟型へのプロセシング活性は認められず、既に報告している液胞プロセシング酵素とは異なる酵素であることが判明した。高等植物液胞内のプロセシング機構における本酵素の役割を酵母液胞内プロセシングの機構に照らして考察する。

## 2pE07

酵母の液胞膜融合過程に関与するVam3pの機能
和田　洋，大隅良典　（東大・教養・生物）

酵母の液胞形成に関与する遺伝子，*VAM3*は，遺伝子解析の結果，283アミノ酸よりなるタンパク質，Vam3pをコードする．アミノ酸配列上，Vam3pはC-末に膜貫通領域を形成すると考えられる疎水性領域を持ち，また，leucine-zipper，およびheptad repeatといったタンパク質－タンパク質相互作用に機能すると推測される特徴的な配列を持つ．また，Vam3pは一次配列上Pep12, Sed5p, Sso1p, Sso2pや動物細胞のsyntaxinと相同性が認められ，これらのタンパク質と同様，膜融合において小胞とターゲットされるべき膜との認識，融合に機能すると予想される．Vam3pの機能を明らかにするため，*VAM3*遺伝子のコーディング領域を栄養要求性マーカー*HIS3*遺伝子に置換した遺伝子断片を作成し，相同組み換えによる遺伝子破壊株を作成しその表現型を解析した．Δ*vam3*変異株は，大きな液胞を形成できず，多数の小胞状構造を細胞内に蓄積した．この小胞構造は液胞に蓄積する*ade*蛍光色素を蓄積した．Δ*vam3*変異株の液胞内タンパク質，carboxypeptidase Yは，ゴルジ型前駆体の蓄積が観察され，パルスラベルーチェイスの結果，液胞タンパク質の成熟の速度が遅くなっていることが示された．これらの結果は，Vam3pが液胞形成過程に機能するsyntaxin familyの新しい一員であることを強く支持する．

## 2pE08

リン酸代謝における液胞の生理機能の解析

白浜佳苗[1]、矢崎芳明[2]、朽津和幸[2]、坂野勝啓[2]、大隅良典[1]
([1]東大・教養・生物、[2]農水省・生物研)

酵母の液胞は全細胞体積の約20%を占め、代謝産物やイオンの貯蔵機能とリソソーム様の分解機能を通して細胞質の恒常性維持に寄与している。そのため液胞機能の欠損は様々なストレスに対する感受性に影響する。液胞には乾重量の10%ものポリリン酸が特殊な条件下に蓄積し、広い基質特異性を持つアルカリ性ホスファターゼが存在することから、リン酸代謝において液胞は重要な役割を担っていると考えられる。しかし、その機構は未解明のままである。液胞コンパートメントの生理機能を理解するために、リン酸代謝に注目することは有効な手段となると思われる。さらに近年、酵母では様々な栄養源飢餓下に液胞内でのタンパク質分解-自食作用が誘導されることが見出された。そこで、ポリリン酸の蓄積と分解及びリン酸飢餓の液胞機能に及ぼす影響に着目して以下の解析を行なった。

ポリリン酸は、形態的に明らかな液胞を欠失した株や液胞膜$H^+$-ATPaseの変異株では殆ど存在せず、いくつかの変異株の間で際立ってその含量が異なった。リン酸飢餓下で野生型酵母は2-3世代増殖し続ける。この間の各種細胞内リン酸の動態を$^{31}$P-NMRを用いて測定すると、ポリリン酸量に大きな変化が見られた。そこで、ポリリン酸量の異なる変異株を用いてリン酸飢餓下での生育を検討した結果、最終細胞収量はポリリン酸含量によって規定されることが明らかになった。さらに、液胞内プロテイナーゼ欠損株はリン酸飢餓下に球状の構造物を液胞内に蓄積した。生化学的解析及び電子顕微鏡を用いて検討した結果、これらは窒素源または炭素源飢餓時に観察される自食体(Autophagic body)と同一であることが示された。自食作用はリン酸飢餓によっても誘導され、細胞の生存に必須であることが明らかになった。

## 2pF01

水中並びに気中培養イネ幼葉鞘の成長とアブシジン酸含量

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

イネ幼葉鞘の伸長成長は水中で著しく促進される。この水中での速い伸長成長は、低酸素濃度、二酸化炭素の蓄積、浮力による自重の軽減などにより部分的に説明できる。これらの環境要因の変化は、様々な植物ホルモンの代謝や作用の修飾を介して成長に影響すると考えられ、従来とくにエチレンやオーキシンの関与が指摘されてきた。しかし、成長抑制ホルモンであるアブシジン酸（ＡＢＡ）の働きについてはほとんど解明されていない。そこで、ＧＣ－ＭＳを用いてＡＢＡ内生レベルの定量を試みた。

両培養条件下で生育させたイネ幼葉鞘に$^2H_6$－ＡＢＡを内部標準として加え、常法によりＡＢＡ画分を抽出した後、ＧＣ－ＭＳを用いて定量した。幼葉鞘１本当たりのＡＢＡ量は成長に伴って増加したが、生重量あるいは乾重量当たりでは低下した。ＡＢＡレベルは、どのベースで見ても、成長の遅い気中培養幼葉鞘の方が高く、両者間の差は特に成長の初期に大きかった。また、ＡＢＡレベルは、気中培養幼葉鞘では幼葉鞘の先端で高く、基部に向かうにしたがって低下したが、そのような勾配は、水中培養幼葉鞘では明瞭でなかった。以上の結果より、水中におけるイネ幼葉鞘の成長促進には、ＡＢＡ代謝の変化によるその内生量の低下が関与していると考えられる。

## 2pF02

アカパンカビの原形質流動速度におよぼすオーキシン、ジベレリンおよびサイトカイニンの作用

富田香織、鈴木美香[1]、高城陽子[1]、中村卓造、中村輝子[1]
(昭和薬大、生物，[1]日女大、理、物生)

これまでに、アカパンカビの分生子発芽過程および発芽に続く若い菌糸の伸長に、オーキシン、ジベレリンおよびサイトカイニンが、発芽をはやめ、菌糸の伸長を促進することを報告した。アカパンカビは、インドール酢酸(IAA)、ジベレリン$A_3$ ($GA_3$)およびアブシジン酸(ABA)を生産することが、ガスクロマトグラフィー-マススペクトロメトリー(GC-MS)により確認されている。また、サイトカイニン様物質の存在も高速液体クロマトグラフィー(HPLC)および生物検定により確認されている。今回は、菌糸伸長に伴う原形質流動に注目し、原形質流動速度におよぼすオーキシン（IAA,2,4-DおよびNAA)、ジベレリン ($GA_3$) およびサイトカイニン (KIN,*t*-Z およびBAP) の作用について調べた。寒天上におよそ１０個の分生子を接種し、２６℃暗黒中で、２２時間培養を行った後、それぞれの成長調節物質を加え、２時間後に原形質流動の速度をビデオシステムを接続した顕微鏡を用いて、菌糸の先端からおよそ２５０$\mu$mおよび７５０$\mu$mの原形質流動を素早く観察し測定を行った。IAA,2,4-DおよびNAA (1-10 $\mu$M)、$GA_3$(10$\mu$M)、KIN,*t*-ZおよびBAP(10-100$\mu$M) は原形質流動速度をはやめた。抗オーキシン2,4,6-T(100$\mu$M)は、原形質流動速度を著しく抑え、この抑制効果はIAA(100$\mu$M)により回復された。原形質流動速度におよぼすIAA(10$\mu$M)と*t*-Z(100$\mu$M)の相互作用は、相加的であった。

## 2pF03

エンドウ芽生えの茎伸長部域におけるジベレリンによる糖蓄積促進とインベルターゼ活性の上昇 －インベルターゼの精製－

宮本健助、居原　秀、上田純一、神阪盛一郎[1]
（大阪府立大・総科・生命、[1]大阪市大・理・生物）

演者らは、エンドウ芽生えにおいてジベレリンが茎伸長部域における糖の蓄積を促進し、蓄積された糖は浸透物質や細胞壁多糖の合成基質として機能することを明らかにしてきた。さらに、GAによる糖蓄積促進と師管からの糖のunloadingに関係すると考えられている可溶性インベルターゼ活性との間に高い相関関係があることを見いだした。そこで、ジベレリンによる糖蓄積制御機構におけるインベルターゼの役割を明らかにする目的で、インベルターゼの精製を行った。

エンドウ上胚軸から可溶性インベルターゼを抽出し、硫安塩析の後、Butyl-Toyopearl, Concanavalin (Con) A Sepharose, Hydroxyapatite, および Superdex 200 カラムクロマトグラフィーを行い、比活性で約150倍までに精製した。インベルターゼ活性がCon Aカラムに吸着すること、およびゲル濾過クロマトグラフィーの結果から、エンドウの可溶性インベルターゼは、分子量がおよそ70,000の糖タンパク質であると推定された。活性画分をさらに、HPLC用 Hydroxyapatite および Mono Q カラムを用いて精製した後、等電点電気泳動を行った結果、等電点が約 6.8 と 7.1 の２種類のインベルターゼが存在することがわかった。SDS-PAGEの結果、いずれもサブユニット構造をとるものと推定された。現在、インベルターゼのさらなる精製を試みており、その結果を併せて報告する。

## 2pF04

トウモロコシ芽生え葉のインベルターゼ活性の発現とジベレリンとの関係

三橋　渉、神谷勇治　（理研・フロンティア・ホルモン機能）

植物ホルモンのジベレリンは、種々の植物の茎の生長に重要な役割を果たしていることが知られている。しかしながら、同じ生長現象でも葉の伸長・展開生長におけるジベレリンの役割は、よく解かっていない。茎の生長ではシュークロース代謝に関連する酵素群の活性と生長に相関関係があることが報告されており、これらの酵素が葉の成長にも関与していることが予想された。今回は、葉の伸長・展開生長時のシュークロース分解酵素、インベルターゼ、について、この酵素の活性発現とジベレリンとの関係について報告する。材料は、トウモロコシ（cv. W64A）芽生えの葉を用い、ジベレリン生合成の阻害剤ウニコナゾール（$10^{-5}$M）は、種子吸水時に９時間与えられた。種子発芽後、第２葉の長さとインベルターゼ活性を測定した。その結果、発芽５日目では、コントロール区と比較し、葉の長さに大きな差は認められなかった。その後、コントロール区では、８日目まで葉の伸長と生重量の増加が続くが、これらは、ウニコナゾール処理によって阻害された。たとえば、発芽後７日目には、伸長の４０%、生重量の３０%阻害が見られた。一方、酸性インベルターゼ活性は５日目に高活性が見られ、その後、徐々に減少した。この活性もまたウニコナゾール処理によって阻害された。この阻害率は、生重量における阻害と一致していた。

## 2pF05

イネ由来インベルターゼのモノクローナル抗体の作製

石沢　公明　（東北大・理・生物）

エチレンは、イネ（*Oryza sativa* L.）芽生えの胚盤から幼葉鞘へのスクロースの転流量を増加させる。幼葉鞘でスクロースは、インベルターゼ(INV)により加水分解される。この糖含量の増加は、幼葉鞘の成長促進と密接に関連している。イネ幼葉鞘での糖転流の調節を解明する上で、INVの性質を理解することが重要となった。

幼葉鞘は、ゲル濾過法により分けられる２種の可溶性の酸性INVと、細胞壁に強く結合したものを持つ。その中で、成長に伴い異る活性変動をする２種の可溶性INVの精製試料は、SDS-PAGEにより複数のポリペプチドに分離する。この可溶性INVのポリペプチド構成を決定するために、INVのモノクローナル抗体の作製を試みた。

部分精製した可溶性INVのSDS-PAGEで分離される主要ポリペプチドを溶出し、マウス（BALV/c）を免疫した。その脾臓B細胞をミエローマ細胞（Sp2/0-Ag14, JCRB 細胞バンクより入手）と融合、ELISA法でスクリーニングすることにより、７種類の抗体産生ハイブリドーマをクローニングした。その内５つの抗体は、多数のポリペプチドと交差反応することから、糖鎖を認識している可能性が高い。これら抗体を用いた、イネのインベルターゼ分子についての検討結果を報告する予定である。

## 2pF06

ダイコン胚軸における重力屈性の感知機構

三田高志、三好泰博１（静岡県立大・食品栄養・１国際関係）

植物の根は、正の重力屈性を示すが、この場合には根冠部のデンプン粒を含むアミロプラストが重力方向に移動することにより重力刺激を感知しているとされ、その機構について多くの仮説が提出されている。　一方、植物の茎は、負の重力屈性を示すが、その場合には維管束組織に隣接する細胞中のデンプン粒を含む葉緑体が重力を感じているとされている。　しかしながら、植物の茎における重力感知の機構についての研究は、根における研究に比べると、ほとんどなされていない。　本研究では、顕微鏡観察により重力変化に伴う植物の茎の細胞内構造の変化を捕らえることを通して、重力の感知機構を解明しようと試みた。

材料はダイコン芽生えを使用した。　明条件、暗条件のどちらで成育した芽生えでも、維管束組織のすぐ外側に位置する、皮層の最内部の特定の細胞にのみ、重力刺激により移動する特別な色素体が含まれることが明らかになった。　この色素体の移動は、重力の方向の変化によって茎が屈曲し始めるよりも以前に起こった。　これらのことは、この色素体の移動が胚軸の重力感知機構の一部として働いていることを示唆している。しかしながら、この色素体には、従来いわれているようなデンプン粒は含まれていなかった。　このことから、重力刺激の感知にデンプン粒は必要なく、重力刺激は、色素体と他の細胞内オルガネラとの位置関係や相互作用を通して感知されると考えられる。　このような観点から、従来の重力感知の仮説を検証した結果について述べる。

## 2pF07

シロイヌナズナの茎の重力屈性反応の解析

深城英弘、田坂昌生、藤澤久雄　（京大・理・植物）

植物の茎は重力刺激に対して負の屈性を示す。この反応は（1）重力刺激の感受、（2）刺激の伝達、（3）茎の伸長成長反応という３つの段階から成り立つが、それぞれの過程における分子機構についてほとんどわかっていない。そこで私たちは茎の重力屈性を制御する分子機構を理解するために、シロイヌナズナを用いて遺伝学的解析を進めている。本研究はその第一段階として、この植物の茎の重力屈性反応について、その基本的な生理学的性質を解析した。ロゼット形成後に伸長する花茎を23℃暗条件下で水平方向に倒して重力刺激を与えると、90分間で重力とは反対方向（上方）に約90度の屈曲反応が起こる。この花茎の屈曲は先端下部の最も伸長が盛んな部位でまず観察され、刺激を与え続けると屈曲部分は花茎の基部へ移動した。根・葉・花・花芽・茎頂を取り除いた伸長部位を含む花茎の切片も同様に屈曲した。これらは花茎が重力刺激を感受することを示唆している。またこの反応に必要な最小刺激時間は短く（10分以内）、しかも最初の反応が現れるまで与え続ける必要はなかった。さらにこの反応は4℃で阻害されたが、4℃で重力刺激を感受した茎を23℃へ移すと刺激がなくても反応した。これは刺激の感受は4℃でもできるがその後の段階に低温（4℃）で阻害される過程があることを示している。またこの茎切片の反応は外からオーキシンを与えると促進されるが、オーキシン移動阻害剤で抑制された。このことは茎の内生オーキシンの量と移動が刺激の伝達か茎の伸長成長に関与することを示唆する。なお屈曲反応中の茎の伸長を調べたところ、屈曲は伸長部位における成長の差によって生ずることもわかった。

## 2pF08

シロイヌナズナの茎の重力屈性異常突然変異株の単離

深城英弘、田坂昌生、藤澤久雄　（京大・理・植物）

植物の茎が重力刺激に対して負の屈性を示すことはよく知られているが、その分子機構についてほとんどわかっていない。そこで私たちは茎の重力屈性を制御する分子機構を理解するために、シロイヌナズナを用いてこの反応過程に異常を持つ突然変異株の単離を試みた。

野生型株では花茎と胚軸が負の重力屈性を示す。特にロゼット形成後に伸長する花茎を23℃暗条件下で水平方向に倒して重力刺激を与えると、90分後には重力とは反対方向に明瞭な屈曲反応が起こる。そこでこの花茎の反応を指標として、EMS処理をしたM1種子約4500個の次世代のM2植物約80000株から、90分間の重力刺激に対して全くあるいはわずかしか反応を示さない変異株を12系統単離した。このうちすでに遺伝学的解析を終了した5系統は3つの異なる遺伝子座の劣性変異によるものとわかり、変異株をそれぞれ *sgr1*、*sgr2-1*、*sgr2-2*、*sgr2-3*、*sgr3*　(*s*hoot *gr*avitropism)と名付け、対応する遺伝子座を *SGR1*、*SGR2*、*SGR3* とした。*sgr1* は花茎の伸長率が野生型より小さく、花茎も胚軸も重力屈性を示さない。*sgr2-1* も花茎、胚軸ともに重力屈性を示さず、花茎は屈曲しながら伸長する。それに対して *sgr3* の花茎は重力屈性をほとんど示さないが胚軸は正常な負の屈性を示す。このことは花茎と胚軸の重力に対する反応機構の一部が遺伝的に同一ではないことを示している。さらにこれら3つの変異株はすべて、根の重力屈性・花茎と胚軸の光屈性は正常であることから、*SGR* 遺伝子群は茎の重力屈性に特有な反応過程の制御に関わると考えられる。

## 2pG01

乾燥により誘導されるシロイヌナズナのカルシウム依存性プロテインキナーゼのクローニングと機能解析

片桐健[1,2]、浦尾剛[1,3]、溝口剛[1,4]、篠崎和子[1,5]、林田信明[1]、平山隆志[1]、遠藤織太郎[2]、篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子、[2]筑波大・農林、[3]大同ほくさん、[4]筑波大・生物、[5]農水省・国際農研）

乾燥ストレスの受容から遺伝子発現に至るシグナル伝達系には、ABAを介する経路と$Ca^{2+}$等の2次メッセンジャーを介する経路があると考えられている。本研究では、乾燥ストレスにおける$Ca^{2+}$の作用機序を分子レベルで解明することを目的に、$Ca^{2+}$を介する情報伝達に重要な役割を果していると考えられる$Ca^{2+}$結合タンパク質の解析を進めている。今回報告するのは、乾燥ストレスにより活性化する$Ca^{2+}$依存性プロテインキナーゼ（CDPK）である。CDPKは、植物特有のキナーゼであると考えられており、$Ca^{2+}$結合領域を持つ。既知のCDPK間でよく保存された領域に相当する合成オリゴを用いてPCRを行い、得られた断片をプローブとし、乾燥処理をしたシロイヌナズナcDNAライブラリーをスクリーニングした結果、2種のcDNA（ATCDPK1,ATCDPK2）をクローニングした。ATCDPK1、ATCDPK2共にN末端側に既知のプロテインキナーゼと高い相同性をもつ触媒領域と、C末端側に$Ca^{2+}$の結合に関与するEF-hand構造を有する調節領域をもっていた。ノーザン法による解析の結果、乾燥処理及び高塩濃度において急速に誘導されたが、ABA処理においては顕著な誘導が見られなかった。大腸菌で発現したATCDPK2タンパクは、$Ca^{2+}$依存的にカゼイン、ヒストン、MBPをリン酸化した。さらにATCDPK1、ATCDPK2に対する抗体を作成し、乾燥による誘導に関してタンパクレベルの解析を進めている。

## 2pG02

葉緑体ribonucleoprotein(RNP)-mRNA複合体の生理機能調節におけるカゼインキナーゼII(CK-II)の果たす役割

金勝一樹，道家建二郎，宗像　浩[1]，川上一茂[2]，大槻健蔵[2]（北里大・教養・生物，[1]東北大・医化二，[2]北里大・衛生・遺伝生化）

前本学会(金沢1993)で、転写調節において重要な生理的役割を演じているCK-IIが、葉緑体に存在する分子量34kDaのDNA結合性タンパク質(p34)を特異的にリン酸化することを報告した。今回、葉緑体遺伝子の発現制御における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なった。ホウレンソウの葉緑体(約1kg)より1.0 M KClを含むBuffer (pH7.4)で抽出されたタンパク質画分から、各種カラムクロマトグラフィーで部分精製したp34を、DNA-celluloseおよびMono Q(HPLC)により単一polypeptideまで精製した。精製p34は、(1)RNAおよびDNAに対して結合活性を持つこと、および(2)N末端のアミノ酸部分配列が、葉緑体mRNA3'末端のinverted repeat配列を認識し3'プロセシングを制御するRNA結合因子[28RNP(28kDa)]の配列と95%以上の相同性があることから、RNPファミリーの一つであると同定された。また *in vitro* でのCK-IIによるp34のリン酸化はdsDNA(calf thymus)存在下で約12倍、poly(rG)で約4倍促進された。CDスペクトルの解析から、この促進効果はp34とRNAまたはDNAとの結合によるp34の立体構造の変化によって誘導されることが明らかになった。さらにp34の特異抗体を用いた実験で、RNPは植物種に共通して葉緑体に存在するCK-IIのリン酸化polypeptideとして検出された。以上の実験結果から葉緑体mRNAの転写後制御の過程でRNP-mRNA複合体の生理機能の調節に、CK-IIが重要な役割を演じていることが示唆された。

## 2pG03

*Arabidopsis* MAP kinase familyの解析

溝口剛[1,2]、林田信明[1]、篠崎和子[1,3]、鎌田博[2]、篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子、[2]筑波大・生物、[3]農水省・国際農研）

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 *Arabidopsis* 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、大腸菌内で発現させた不活性型ATMPK1・ATMPK2は、*Xenopus* MAP kinase kinase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を示した（昨年度日本植物生理学会）。さらに我々はMAP kinaseと相同性をもつcDNAを新たに5種類(ATMPK3-7)*Arabidopsis* から単離し、高等植物においてMAP kinaseがgene familyを形成していることを明らかにした（昨年度日本分子生物学会）。今回我々はMAP kinaseと相同性をもつcDNAを新たに2種類(ATMPK8, 9)単離した。ATMPK1-9はアミノ酸配列レベルでは相互に45-85%の相同性を示し、動物や酵母で今までに報告されているMAP kinaseと42-52%の相同性を示した。これら9種類のMAP kinaseの転写産物量は植物の各器官において、またさまざまな外界刺激によってそれぞれ異なる制御を受けていることをNorthern法を用いた解析から明らかにした。

## 2pG04

イネ由来の低分子量GTP結合タンパク質遺伝子導入タバコで観察される傷ストレス異常応答

瀬尾茂美[1]，佐野浩[2]，S.Youssefian[2]，大島正弘[3]，仁木智哉[3]，石塚晧造[1]，大橋祐子[3]（[1]筑波大・応生化，[2]秋田県立農短大・生工研，[3]農水省・生物研）

現在，我々は壊死病斑形成ストレスに伴って誘導されるPR-1タンパク質遺伝子の発現調節に関する研究を行なっている。イネより単離されたGTP結合タンパク質遺伝子，*rgp1*を発現させたタバコではサイトカイニンの代謝異常を示唆するような形態変化が観察された。そこで，サイトカイニンによる転写活性化が報告されている多数の遺伝子の発現量をこの組換え体を用いて調べたところ，元々発現していない筈の酸性PRタンパク質遺伝子群のみが多量に発現し，通常傷で効率的に誘導される筈の塩基性PRタンパク質遺伝子群はこの組み換え体ではその発現が抑制されていた。この組換え体における傷によるPRタンパク質遺伝子発現のシグナル伝達機構を調べるために，葉に傷をつけサリチル酸(SA)とその配糖体，サリチル酸-$\beta$-グルコシド(SAG)を経時的に定量したところ，傷処理葉では両者の顕著な増加が起こり，しかも，これらの増加は処理葉の上下の無傷葉でもPR-1タンパク質の増大と共に認められた。また，傷処理した組換え体中ではその発現が抑制されている塩基性PRタンパク質の誘導剤であるエチレンについてその生合成経路が阻害されているかどうかを調べたので報告したい。

## 2pG05

シロイヌナズナ低分子量GTP結合タンパク質の生化学的特徴

穴井豊昭，エバロル・T・アスプリア[1]，松井南[2]，内宮博文[1]
（北大・理・植物，[1]東大・分生研・細胞機能，[2]日本医大・老研・分子生物）

本研究では、シロイヌナズナから単離した低分子量GTP結合タンパク質遺伝子（*ara*）がコードするARAタンパク質の生化学的性質を明らかにした。すなわち部分欠損および点突然変異を導入したミュータントタンパク質を作製し、GTPに対する結合性および加水分解活性を検定した。その結果、ARAタンパク質はGTPを特異的に結合し加水分解する活性を示すが、$Asn^{125}$をIleへ置換したものではGTPの結合活性が減少し、$Gln^{71}$をLeuへ置換したものではGTPの加水分解活性が減少することが明らかになった。

また、シロイヌナズナおよびタバコ培養細胞中にこれらのタンパク質のGTP加水分解活性を増大させる因子が存在することを見いだした。

さらに、蛍光抗体法によりARAタンパク質は、細胞内小胞に局在することが示された。

## 2pG06

原形質連絡を通じた植物細胞間の核酸、タンパク質の移動

藤原徹，[1]Donna Giesman-Cookmeyer，[1]Steven Lommel，[2]Biao Ding，[2]William J. Lucas（東大・農・農化，[1]NCSU，[2]UCD）

多細胞生物である高等植物の個体維持、機能発現には多くの細胞の協調が必須であり、個々の細胞間での情報の交換が重要である。高等植物には原形質連絡と呼ばれる細胞壁を貫く構造体があり、細胞間の糖、イオンなど低分子物質の輸送経路となっていることが示されてきた。高分子物質であるRNAをゲノムとして持つ多くの植物ウイルスは細胞間の移動に原形質連絡を用いることが知られており、movement proterin(MP)と呼ばれるRNA分子を原形質連絡を通過させる機能を持つタンパク質をコードしている。一部のウイルスではMPが原形質連絡に局在し、RNA結合能を持つことが知られている。演者らはRed Clover Necrotic Mosaic VirusのMPを利用したマイクロインジェクションによって原形質連絡を通じてタンパク質，RNAが通過出来ることを直接的に証明したので報告する。本実験はタンパク質やRNAの情報、機能を担うことの出来る物質が細胞間を往き来することが出来ることを示しており、多細胞生物ではこれまで例の知られていない機構による、細胞機能の相互制御が行われていることを示唆している。

## 2pH01

光阻害光化学系II(PSII)に対する還元側電子伝達系の再活性化

星田尚司、豊島喜則（京大大学院、人間・環境学）

PSIIを強光にさらすとその電子伝達活性が不可逆的に減少する。この光損傷の現象は光化学反応中心の酸化側と還元側いづれかの可逆的不活性化によって誘導され、いくつかの段階を経てD1ﾀﾝﾊﾟｸ質の不可逆的崩壊を引き起こすためであると考えられている。酸化側が保護されている場合、D1ﾀﾝﾊﾟｸ質崩壊は$Q_A$部位での電子伝達阻害により起こるとされるが、これまでそれを直接証明した実験例はない。本研究では、ほうれん草からDekkerらの方法により単離したPSII複合体を用いて、酸化側の電子移動が起こる条件下では、還元側の電子移動阻害がD1ﾀﾝﾊﾟｸ質の分解に先立って起こる事を$Q_A$の再構成法により実証する事を試みた。

ﾄﾞﾃﾞｼﾙﾏﾙﾄｼﾄﾞ処理で得た$Q_A$還元活性を持つPSIIｺｱ複合体を、好気的および$N_2$置換による嫌気的条件下で強光を照射(LI-PSII)、続いて混合可溶化剤系を用いて、反応中心(RC)から、低分子量ﾀﾝﾊﾟｸ質、ｷﾉﾝ、脂質(E)を遊離させた。光照射を行わないPSIIも同様に処理し、それぞれの条件において得られたRCとEを組み合わせ、$Q_A$の再構成を行った。嫌気的条件下でも強光照射によりPSII の$Q_A$を介した電子移動活性は殆ど消滅するがLI-RCにEを再構成すると、それが回復した。この結果は光化学反応中心の不活性化に先立って$Q_A$部位の損傷が生じることを示している。さらに解析を進めた結果を基に、D1ﾀﾝﾊﾟｸ質の崩壊に先立って起こる光阻害初期過程の還元側電子伝達阻害機構について考察する。

## 2pH02

クラミドモナス葉緑体遺伝子psbAの部位特異的形質転換；光化学系II反応中心タンパクD１のC末切断部位のアミノ酸置換

内海恵一郎[1]、高橋裕一郎[1,2]、佐藤公行[2]（岡山大・[1]自然科学研究科、[2]理・生物）

光化学系II反応中心タンパクD１は光照射下で速い代謝回転を行うことが知られている。このタンパクは葉緑体遺伝子psbAにコードされ、葉緑体で前駆体として合成された後、そのC末が特異的な切断を受け成熟化する。

本研究ではこのC末の切断反応とD１の光損傷と修復反応の関係をin vivoで解析する目的で、D１の前駆体の切断部位のC末側のアミノ酸残基を置換した形質転換体を緑藻クラミドモナス（Chlamydomonas reinhardtii）より作出した。形質転換ベクターは抗生物質耐性を与える選択マーカーを含み、psbAの大部分を欠損したクラミドモナス葉緑体変異株FuD7を宿主に用いた。ベクターはパーティクルガンで葉緑体へ導入し、形質転換体はスペクチノマイシン耐性を指標に選択した。我々はD１の切断部位のC末側のSerをそれぞれGly、Cys、Val、Pheへ置換した形質転換体を作出した。これらの形質転換体はすべて通常の培養条件下では野生型と同様の光合成的生育を示し、蛍光の誘導期現象の測定でも野生株と光化学系II活性の変化は認められなかった。現在、D１の代謝回転が著しく速くなる強い光照射下での形質転換体の光合成的生育速度やパルスチェイスラベル法によるD１のプロセッシングの速度の解析を行っている。

## 2pH03

架橋反応を利用した光化学系II反応中心D１・D２タンパク質の接触部位の解析

鞆 達也，佐藤公行（基生研，岡山大・理・生物）

光化学系II反応中心は、D1,D2タンパク質,αおよびβサブユニットで成るシトクロムb559ならびにpsbI遺伝子産物の５つのタンパク成分を含む複合体として単離される。本研究では、ホウレンソウより調製した光化学系II反応中心複合体を用い、架橋実験によりその構造の解析を試みた。反応には、架橋距離1.1nmの架橋剤、HMDI（Hexamethylene-diisocyanate）を用いた。光化学系II反応中心複合体にHMDIを添加すると、その濃度の増加に伴ってD１とD２タンパク質のバンドが減少し、同時に、二量体に相当する位置のバンドが増大した。一方、特異抗体を用いる解析で、新たに生ずるこのバンドは、D１とD２のヘテロダイマーであることが示された。架橋部位を調べるため、この架橋産物を抽出した後、CNBr処理により切断し、スモールボア逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィーでその分解産物のプロファイルを分析した。ついで、D１およびD２タンパク質単独では生じない架橋産物に独特なバンドを分取し、そのアミノ酸配列を決定したところ、その一つはD１およびD２タンパク質のチラコイドルーメン側に位置すると考えられるC－末端側のアミノ酸配列の一部と一致した。以上の結果にもとづき、光化学系II反応中心の構造について考察した。

## 2pH04

合成オリゴペプチドを用いるD1蛋白質C末プロセッシング酵素の作用機構の解析

田口富美子[1]、 山本由弥子[1]、 山下光治[1]、
佐藤公行[1,2] ([1]岡山大・理・生物、[2]基生研)

光化学系II反応中心の中核を担うD1蛋白質は、C末端に延長部分を持つ前駆体として合成され、合成直後チラコイド内腔に存在するプロセッシング酵素の作用で成熟化する。他方、D1蛋白質のC末に相当する合成オリゴペプチドは、in vitro でこの酵素の基質として利用され、その反応機構の解析に用いられる。本研究では、酵素の切断部位のC末側に位置するAla-345およびその近傍のアミノ酸を置換した数種のオリゴペプチドを合成し、基質の認識および切断におけるこの部位の役割を解析した。ホウレンソウ葉緑体から部分精製した酵素を用いた実験で、Ala-345のProへの置換では切断がおこらず、Valへの置換では初速度が約1/3に低下した。しかし、Ser, Cys, Pheへの置換では切断速度にはほとんどコントロールと差異が見られなかった。また、Leu-343とIle-346を共にAlaに置換した基質では切断は見られず、前述の結果と総合して、切断部位近傍の二次構造と疎水性がこの酵素による認識と切断に大きな意味を持つことが示唆された。

## 2pH05

**D1タンパク質前駆体C末端プロセッシング酵素の精製**

**[1]稲垣言要，[2]松本哲，[2]山本由弥子，[1,2]佐藤公行 ([1]基生研，[2]岡山大学・理・生物)**

**光化学系II反応中心のD1サブユニットは、C末端側に延長ペプチドを持つ前駆体タンパク質として合成され、この延長部分はチラコイド内腔に存在するプロテアーゼの作用により切断除去される。本研究では、酸素発生系の構築に不可欠と考えられるこの過程に関与するプロテアーゼの純化を試み、最終的にそのN末端アミノ酸配列を明らかにした。**

**精製は、ホウレンソウ・チラコイド膜の超音波抽出物を出発材料にし、QAE-Toyopearl を用いた陰イオン交換クロマト、ハイドロキシアパタイトクロマト、および銅イオンを結合させたキレートクロマト、ならびに、D1タンパク質前駆体のC末端配列をリガンドとするアフィニティークロマトを組み合わせることで行った。**

**精製標品は、SDS-PAGE後の銀染色の分析で、45kDa, 37kDa, 23kDa の３成分からなることが示されたが、低分子容の２成分は*Staphylococcus aureus* V8 proteaseを用いたペプチドマッピングにより、45kDaタンパクの分解産物であることが判明した。**

**そこで、45kDaタンパクをPVDF膜にブロッティングし、パルスリキッド法（ABI type 476A）でアミノ酸配列の分析を行ったところ、N末端より27残基の配列が決定された。現在、本酵素の遺伝子をホウレンソウ緑葉cDNAライブラリーからスクリーニング中である。**

## 2pH06

エンドウ単離葉緑体を用いたD1タンパク質合成の光による制御機構の解析

黒田洋詩・仲山博之[1]・佐藤公行[1,2]（岡山大・自然科学、[1]岡山大・理・生物、[2]基生研）

光化学系Ⅱ反応中心のD1サブユニットは光照射下で高速度の代謝回転を行っており、この際、その合成は翻訳の段階で光により制御されている。本研究は、この光による翻訳制御の分子機構と生理的意義の解明を目的として行われた。

エンドウ単離葉緑体に$^{35}$S-Metを添加することにより、光依存のD1タンパク質の合成が確認される。一方、単離葉緑体に外部からATPを添加しても、暗条件下では成熟サイズのD1タンパク質は認められず、代わりに、翻訳中間産物が検出される。この中間体の蓄積は、光照射下でもアトラジン等の光合成電子伝達阻害剤とATPを同時に添加した条件下では認められる。一方、単離葉緑体を白色光で前照射すると、暗条件下においてもATPを添加することにより成熟型のD1タンパク質の蓄積が認められるようになる。

以上の結果は、成熟型のD1タンパク質の蓄積を制御する因子が光合成電子伝達反応の進行により形成されることを示している。

## 2pH07

過酸化水素による光化学系ⅡＤ１蛋白質の暗所での分解

徳富光恵　（農水省・生物資源研）

光化学系Ⅱ反応中心のＤ１蛋白質は強光照射下で損傷を受け分解される。単離した系Ⅱ標品に強光を照射すると、Ｄ１蛋白質が分解を受け*in vivo*と同様な23-kDaフラグメントを生成するが、このフラグメント生成は活性酸素スカベンジャーで大きく抑制される(Miyao-Tokutomi, M., IBC1993)。活性酸素自身がＤ１蛋白質を分解するかどうかを検討するため、暗所での活性酸素処理の効果を調べた。

活性酸素のひとつ過酸化水素は光照射下で系Ⅱ還元側で生成することが知られている。単離系Ⅱ標品（LHCIIを除いたPSII標品、コア標品、反応中心標品）を10 mM 過酸化酸素で30分間処理するとＤ１蛋白質とＤ２蛋白質が特異的に損傷を受けた。ウェスタンブロット解析から、強光照射下と同様に、Ｄ１蛋白質の23-kDaフラグメントおよびＤ１蛋白質とチトクロムb559αサブユニットの架橋産物が生成することがわかった。同様のフラグメント・架橋産物生成は系Ⅱ膜標品でも観察された。過酸化酸素自身はペプチド結合を切断できないが、$Fe^{2+}$などの金属イオン存在下でより活性の高いヒドロキシルラジカル・アルコキシルラジカルを生成する。これらのラジカルを特異的に除くスカベンジャー(*n*-propyl gallate)で過酸化水素によるフラグメント・架橋産物生成が抑制された。以上の結果から、光化学系Ⅱ近傍で過酸化水素が生成するとＤ１蛋白質が特異的部位で切断される可能性が示唆された。

## 2pH08

光化学系Ⅱから種々のベンゾキノン誘導体への電子伝達反応の解析

小池裕幸、大橋美保、菓子野康浩、佐藤和彦（姫工大、理、生命科学）

我々は以前、単離した光化学系Ⅱ複合体を用いて、種々のベンゾキノン誘導体が光化学系ⅡのQB部位に結合し、QAから直接電子を受け取る事を示し、報告した。本学会ではプラストキノンプールを有し、かつ光化学系Ⅱ複合体が膜に埋め込まれた状態になっているチラコイドを材料に種々のベンゾキノン誘導体が光化学系Ⅱからどのようにして電子を受け取るのか、またQB部位への親和性は単離系Ⅱ複合体と異なっているのか否かを調べたのでその結果について報告する。

材料は好熱性ラン色細菌Synechococcus vulcanusから調製したチラコイドと粗光化学系Ⅱ標品を用いた。酸素発生速度を添加するキノンの濃度を変えて測定すると、不思議な事に多くのベンゾキノン誘導体で高濃度側で活性の阻害が観察された。この事はベンゾキノンが遊離のプラストキノン及びQBの両方から電子を受け取り、高濃度側での阻害はQB部位へベンゾキノンが結合する事によるQBから遊離のプラストキノンへの電子伝達反応が阻害されたためと考えると良く説明できた。酸素発生速度のベンゾキノン濃度依存性からベンゾキノンのプラストキノン及びQB部位への親和性及びそれ等との反応速度が計算できた。チラコイド膜と単離系Ⅱ標品での上に述べた測定の比較から、基本的には両標品で同様な反応が同様な速度で進行している事がわかった。

## 2pI01

ヒャクニチソウ管状要素分化に関連した植物ホルモン誘導遺伝子単離の試み

高橋真人、中平洋一、出村拓、福田裕穂（東北大・理・生物）

ヒャクニチソウの芽生えの第一葉から機械的に単離した葉肉細胞は、植物ホルモンを含む分化誘導培地で培養すると高頻度（30～40 %）かつ同調的（培養開始後 60～80 時間）に管状要素に分化する。培養開始後48時間目に、二次壁肥厚に先立って発現量の増加する遺伝子（TED2-4）に関してはすでに報告されているが、分化初期過程での遺伝子発現に関しては、ほとんど明らかにされていない。管状要素分化の誘導には、オーキシンとサイトカイニンの両ホルモンが必須であることが知られているので、我々は両ホルモンがそろって初めて発現してくる遺伝子を単離することにした。

オーキシン（NAA）のみを含む非分化誘導培地（CN培地）で28 時間培養した細胞と、CN 培地で 24 時間培養した後にサイトカイニンを添加し、更に 4 時間培養した細胞から、それぞれpoly(A)$^+$RNA を抽出し ds cDNA を合成した。目的とする遺伝子は後者でのみ発現しているはずであるが、両者の違いが、培養時間にしてわずか 4 時間しかないこと、及びこの時期には分化に伴う細胞の形態変化がまだ全く起こっていないことから、両者の cDNA の組成はほとんど共通していることが予想された。

そこで我々は PCRを利用した subtraction 法 (Wang and Brown, 1991) を用いて、両ホルモンにより up-regulation, down-regulation をそれぞれ受ける遺伝子を単離することを目指した。まず PCR と subtraction の条件を検討し、その後遺伝子の単離を試みた。今回はこれらの実験の概略とともに、現在とられている up-regulation 及び down-regulation を受ける clone の候補の解析結果について報告する。

* Z. Wang and D.D. Brown (1991) PNAS. 88: 11505

## 2pI02

*arcA* 遺伝子の BY-2 における発現とオーキシン応答領域の同定

石田さらみ、高橋陽介、長田敏行（東京大学大学院理学系研究科）

分子レベルでのオーキシン作用機構解明の第一歩としてタバコ培養細胞 BY-2 株よりオーキシンにより制御される遺伝子を単離し、その機能及び発現制御機構を解析している。BY-2 は極めて速く増殖し、均一な細胞集団より成立する生化学的解析に適した細胞であり、高度な同調系も確立されている。さらに、オーキシン飢餓を与えた BY-2 細胞にオーキシンを再添加した時の応答として細胞分裂が観察されるので、細胞分裂におけるオーキシンの効果を解明するための適したシステムとなると期待される。*arcA* はこの BY-2 細胞よりオーキシン応答遺伝子として単離された。構造解析の結果、WD-40 リピートを持つ G タンパク質 $\beta$ サブユニットファミリーに属する事が明らかとなった。本大会では BY-2 細胞内における、ノーザン解析による *arcA* の発現様式とトランジェントアッセイにより同定された *arcA* プロモーターのオーキシン応答領域について報告する。

## 2pI03

オーキシンによって誘導される遺伝子 *parC* の転写に関わるシス領域の解析

酒井達也、高橋陽介、長田敏行（東京大学大学院理学系研究科）

我々はオーキシンによる植物の成長制御の機構解明を目的として、オーキシン誘導遺伝子に着目し研究を進めているが、これまでにタバコ葉肉プロトプラストにおいて、オーキシンにより発現が誘導される遺伝子をいくつか単離している。今回はそのうちの一つ、 *parC* 遺伝子の転写に関わるシス領域の解析を行い、従来の他の遺伝子と併せてオーキシンによる遺伝子発現制御機構について考察した。

*parC* 遺伝子の 転写開始位置より上流約 2kb と GUS レポーター遺伝子との融合遺伝子を作成し、アグロバクテリウムを介してタバコ植物体に導入した。得られた形質転換体の葉組織をオーキシン処理すると、 GUS 活性の上昇が認められた。 5' 側欠失変異プロモーターと GUS 遺伝子の融合遺伝子を用いて解析した結果、転写開始位置より上流 227bp までをもつ融合遺伝子では、オーキシンによる GUS 活性の上昇がみられたが、上流 84bp まで縮めるとオーキシンによる GUS 活性の上昇はみられなくなった。これより、*parC* 遺伝子のタバコ植物体におけるオーキシン誘導に関わるシス領域は、転写開始位置上流 -227bp から -84bp までの 143bp 内に存在することが示唆された。

現在、さらにこの領域を細かく解析し、 *parC* 以外のオーキシン誘導遺伝子の解析結果と併せて、シス領域を絞り込むべく研究を進めている。

## 2pI04

*parB* 遺伝子のオーキシンに関するシス領域の決定とタバコ植物体での発現

高橋陽介、長田敏行（東京大学大学院理学系）

植物における最も重要な生理活性物質の一つであるオーキシンは細胞分裂、形態形成等、植物の生活環の様々な局面に決定的な役割を果たしていると考えられており、その作用機構の解明は植物科学における最重要課題の一つである。我々はタバコ葉肉細胞プロトプラストとタバコ培養細胞 BY-2 からオーキシンで発現が誘導される遺伝子 *parA, parB, parC, arcA* をクローン化して解析してきた。

このうち *parB* はその産物がグルタチオン *S*-トランスフェラーゼの活性を有することが明らかになっている。また最近シロイヌナズナの膜画分より見出されたオーキシン結合蛋白質と parB 産物とは 57.4% の相同性が存在することが示され興味を集めている。本大会では *parB* 遺伝子のオーキシンによる遺伝子活性化を司るシス領域の決定、タバコ植物体での発現分布とオーキシンに対する応答性の発生段階における変化について報告する。

## 2pI05

シカクマメ・プロテアーゼインヒビター遺伝子 5'上流領域に存在するMARの解析

南　昌宏、飯　哲夫、岩淵雅樹　　（京都大・理・植物）

核マトリックスは細胞核中に見出される骨格様構造であり、転写、複製等の様々な核の機能に関与することが示唆されている。また、核マトリックスに結合するDNA領域はMAR（Matrix associated region)と呼ばれ、非常にA-T塩基対に富むことが知られている。高等植物における遺伝子の発現調節において、核マトリックスの果たす役割を明らかにするためには、核マトリックスと遺伝子近傍に存在するMARの相互作用の解析が必要である。コムギ培養細胞から調製した核マトリックスとの結合能を指標にして、MARを検索したところ、シカクマメのキモトリプシンインヒビター遺伝子（WCI-3b）5'上流領域に広範囲にわたり核マトリックスと結合するMAR(WCI-3b-MAR)を見出した。WCI-3b-MARは既に報告されているMARと同様にA-T塩基対に富み、MARに頻出するモチーフを数多く含んでいた。また、サウスウエスタン法により、コムギ核マトリックス中に、このMARに結合する複数のタンパク質を検出した。このWCI-3b-MARのプロモーター活性に及ぼす影響をタバコ培養細胞BY-2を用いた一過性の発現系により調べたところ、転写活性を上昇させることが解った。現在、このMARの位置効果に及ぼす影響を明らかにする実験を行っている。

## 2pI06

シカクマメKunitz型キモトリプシンインヒビター遺伝子の発現制御機構の解析

福島久代[1]、坂田洋一[1]、船田　良[2]、安部　久[2]、土生芳樹[1]、内藤　哲[1]
（北大、農、応用生命科学[1]、森林科学[2]）

シカクマメの成熟種子および塊根中には多量のKunitz型キモトリプシンインヒビター（WCI）が蓄積され、また茎においても少量のWCIタンパク質の蓄積がみられる。WCIの生理的役割については、まだ明らかにされてはいないが、(1) 内在性プロテアーゼの制御、(2) 昆虫などに対する生体防御、(3) 種子貯蔵タンパク質の一つ、などが考えられている。これまでにWCIタンパク質は少なくとも7種の遺伝子からなる多重遺伝子族によってコードされていること、およびシカクマメ中での主要なWCIタンパク質であるWCI-3タンパク質は極めて相同性の高い二つの遺伝子、WCI-3aおよびWCI-3b遺伝子によってコードされていることが示されている。今回我々は、WCI遺伝子の発現制御機構の解明を目的として、シカクマメおよびトランスジェニックタバコにおけるWCI遺伝子の発現の組織特異性を解析した。

抗WCI-3抗血清と蛍光色素FITCでラベルした二次抗体を用いたシカクマメの成熟中期の種子および茎の切片の免疫染色の結果、種子においては胚軸、子葉の両方でWCIタンパク質が蓄積されていること、茎では維管束組織にWCIタンパク質が局在していることが示された。また、WCI-3b遺伝子の5'上流域とレポーター遺伝子であるβ-グルクロニダーゼ(GUS)遺伝子を融合させたものをタバコに導入し、得られたトランスジェニックタバコの種子および茎において組織染色を行なった結果、シカクマメ中でのWCIタンパク質の発現と同様なGUS活性の局在がみられた。このことから、種子および茎におけるWCI遺伝子の組織特異的な発現は転写レベルで制御されていることが示された。

## 2pI07

イネ種子発芽時におけるセリンカルボキシペプチダーゼ遺伝子の組織特異的発現

鷲尾健司、石川　纐（北大・地球環境科学・環境分子生物学）

セリンカルボキシペプチダーゼ（ＣＢＰ）はセリン残基を活性部位に持つペプチド分解酵素であるが、その存在は多くの生物に知られている。穀物植物の発芽種子においては５種類の異なるＣＢＰ（Ｉ－Ｖ型）が存在することが知られており、我々の研究室においてはイネ未熟、及び発芽種子より調整したｃＤＮＡライブラリーよりＩ型、Ⅲ型、及び新規のⅢ型様ＣＢＰをコードするクローンを同定している。これらのＣＢＰに対するｍＲＮＡの種子発芽時における変動を調べるためノーザン法、in situ hybridization 法を用いた解析を行ったところ、いずれのＣＢＰもその発現時期は発芽後期に集中していたが、発現部位においては組織特異的な傾向を示した。Ｉ型ＣＢＰは茎葉と胚盤上皮において高い発現が見られ、Ⅲ型様ＣＢＰについては発芽胚全体で弱い発現が見られた。Ⅲ型ＣＢＰはジベレリン酸誘導性遺伝子の産物として同定されたものであるがその発現は糊粉層細胞に集中しており、胚盤上皮、茎葉、根においても若干の発現が見られた。遺伝子解析の結果、Ｉ型、Ⅲ型ＣＢＰ遺伝子ともにイネ・ゲノム内において単一に存在していることが示されたが、イントロンの挿入部位、活性部位の比較などについて両者の遺伝子についての関連性は見られなかった。これらのＣＢＰの持つ類似した触媒活性を考えると、各々の遺伝子が時期特異的、組織特異的な発現を行う事により良好なペプチド分解活性を植物体に提供しているものと思われる。

## 2pI08

倍数性の異なるコムギにおけるWx遺伝子のドースと結合型デンプン合成酵素活性の関係

○藤田直子、和田野晃[1]、平知明（大阪府立大学・農学部・園農、[1]農化）

デンプン合成に関与する酵素の1つである結合型デンプン合成酵素（Wxタンパク質）の遺伝子は、胚乳デンプンのウルチ性、モチ性を支配している。しかし、コムギにはそのモチ性の突然変異遺伝子は存在していない。この研究は、倍数性の異なるコムギにおけるWx遺伝子のドースと酵素活性の関係を明らかにすることを目的した。

用いた植物は、四倍体コムギ（2n=28、AABB）、六倍体コムギ（2n=42、AABBDD）とその祖先種であるとされている二倍体コムギ（2n=14、AA、SS、DD)である。開花後13日目の未熟胚乳からデンプンを精製し、デンプンに結合した酵素によって遊離したADPを測定することによりその酵素活性を測定した。

Wx遺伝子はそれぞれのゲノムに1個存在している。二倍体ではゲノムによってこの酵素の分子量が若干異なり、比活性も異なることから、構造遺伝子が異なっているものと思われる。倍数体ではそれぞれのゲノムのWx遺伝子が共優性的に発現している。Wx遺伝子のドースが二倍体の2倍である四倍体コムギの酵素活性は二倍体コムギより高い値を示したが、六倍体ではWx遺伝子のドースが四倍体の1.5倍であるにもかかわらず四倍体より低い値を示した。この結果から、四倍体にDゲノムが加わり、六倍体が形成されてから現在までの間に酵素活性が調節されるような機構を獲得したことが推測される。

# 一般講演
## 第3日　3月30日（水）

一般講演

第３日　３月30日（水）　午前の部

Ａ会場　光合成細菌（１）
Ｂ会場　細胞壁（２）
Ｄ会場　環境応答（５）
Ｅ会場　形態形成（２）
Ｆ会場　成長調節物質（１）
Ｇ会場　蛋白質・酵素（１）
Ｈ会場　遺伝子発現（５）
Ｉ会場　遺伝子発現（６）

## 3aA01

*Rhodobacter sulfidophilus* 光捕集性色素蛋白質複合体の分光学的特徴

土井道生，岡山繁樹（九大・教養・生物）

*Rhodobacter sulfidophilus* は明-嫌気的生育条件下だけでなく暗-好気的にも機能ある光化学系を形成することができ，他の光合成細菌あるいは好気性光合成細菌とは異なった機構で色素および光合成器官の合成が酸素分圧によって調節されていると考えられる。この細菌の光化学系は反応中心と二種類の光捕集性色素蛋白質複合体（LH I，LH II）から構成され，Rhodobacter属の細菌と共通した光吸収特性を示す。我々はこれまで生育条件に依存して形成される光化学系の特徴を明らかにするため，暗-好気的および明-嫌気的条件下で生育した菌体より色素蛋白質複合体を単離し分光学的特性，色素および蛋白質組成などについて研究をすすめてきた。本細菌膜画分から両性界面活性剤 Lauryldimethylamine-*N*-oxide を用いて可溶化し単離したLH IIは，他の光合成細菌から得られるLH II標品と同様に二種類の低分子ポリペプチドα，β（52，50アミノ酸残基）からなり，バクテリオクロロフィル a (Bchl a) とカロテノイドを2：1の比で含んでいた。しかしこの LH II標品は，Bchl a ダイマーに由来すると考えられている近赤外部の長波長側吸収帯が in vivo に比べ短波長側にシフトしており（852nm→825nm），塩の添加、界面活性剤 濃度の減少，アルカリpHへのシフトにより可逆的に長波長側へシフトする（825nm→852nm）特徴を示した。本講演では単離 LH IIで見られる塩およびpHに依存した可逆的な吸収帯のシフトは，Bchl a が配位していると考えられているポリペプチドのヒスチジン残基のプロトン化のレベルにより調節されていることを報告する。

## 3aA02

緑色硫黄光合成細菌 Chlorobium tepidum 反応中心粒子の分光学的研究

楠元範明，井上和仁[1]，富岡　厚、桜井英博（早稲田大・教育・生物，[1]神奈川大・理・応用生物）

われわれは好熱性緑色硫黄光合成細菌C. tepidumより、嫌気性の維持に細心の注意をはらうことにより、光化学的に活性な光化学反応中心（ＲＣ）複合体を精製した。ＲＣ複合体は室温閃光照射によって酸化されるCyt $c_{551}$と３種のFe-Sセンターを結合している。閃光により、また連続光により酸化されるCyt cはいずれも化学的に酸化されるCyt cの約60％であった。室温における連続光照射実験より、Cyt c／P840=1.7 or 1.2、Bchl a／P840=70 or 50 と計算された。P840の60%が光化学的に活性だと仮定すると、Bchl a／P840=42 or 30となる。（仮定：Cyt c $\varepsilon_{551}$=20、P840 $\varepsilon_{830}$=90 or 64、Bchl a $\varepsilon_{810}$=100$mM^{-1}\cdot cm^{-1}$）

閃光照射後の551nmにおける吸光度の戻りは、単一成分よりなり、その速度は5mM Asc存在下では$t_{1/2}$～400msで、0.1mM DPIP+ 5mM Asc 存在下では$t_{1/2}$～16 msであった。この戻りの速度はDPIP濃度に一次反応的に依存した。また420nm～440nm近辺における吸光度の戻りは２成分により近似された。この波長域における戻りの速度は、DPIPの濃度に依存するCyt c成分と、DPIP存在下でもっとゆっくり戻る他の成分（Fe-Sセンターと思われる）から成っていた。0.1mM DPIP+ 5mM Asc存在下での605nmにおける吸光度の戻り(P840の酸化に対応)は、非常に早く($t_{1/2}$<1ms)で我々の測定装置の分解能以下であった。

## 3aA03

ＥＭＳ処理によって得られた Roseobacter denitrificans 突然変異株の性質

高宮建一郎，倉屋芳樹，島田裕士，塩井祐三（東工大生命理工）

好気性光合成細菌 Ros.denitrificans は強い好気条件下でも光合成色素を多く蓄積する。我々はこの細菌の色素合成系の制御機構を研究するために，エチルメタンスルフォン酸（ＥＭＳ）処理をして得た突然変異株の性質を調べている。今回は，これらのうち興味ある株の性質について報告する。

野性株を1.5％ EMS で 2 時間処理することによって，野性株より赤色の濃い株を全コロニーあたり約0.1％のオーダーで得た。平板培養を繰返し純粋に単離した後も，液体培地で培養後平板に多数播くと，緑色や黄色などの色調の異なるコロニー（0.1-10％）が生じた。また，一個の赤いコロニーの中に扇形の緑色や黄色のセクターを含むものもかなり存在した。緑色や黄色の株から赤色株への復帰は見られなかった。

これらのことから，この突然変異株は増殖中にさらに変異を起こしやすく，とくにその色素蓄積の表現型の変異に特徴があると思われる。この変異の機構については現在までのところ不明である。色素組成など生化学的性質についても触れる予定である。

## 3aA04

光合成細菌ロドシュードモナスビリディスのクロマトホアのカロチノイドの電場依存性バンドシフト

原正之、C.C. Moser[1]，P.L. Dutton[1]（通産省・工技院・生命工学工業技術研究所、ペンシルバニア大学・医[1]）

他の紅色光合成細菌ではクロマトホア中のカロチノイドが示す電場依存性バンドシフト(Stark shift)が光照射法や塩添加法で詳しく研究されているのに較べて、Rhodopseudomonas viridis ではこの様な報告は無い。 我々は Rps. viridis のクロマトホア膜に含まれるカロチノイドの吸収スペクトルの電場依存性バンドシフトを検出するため直接電場印加法を用いて実験を行った。

クロマトホア膜を電気泳動的にITO透明電極上に固定化し乾燥させた後、ポリエチレン層で被覆し、さらに白金を蒸着して対極としたサンドイッチ型の素子試料（電着膜）を作成した。

電着膜はクロマトホア懸濁液と類似の吸収スペクトルを有し３０－１００Ｖの直流電場を２５ミリ秒間両電極に印加すると４００－５００ｎｍのカロチノイド吸収領域において電場の強さの２乗にほぼ比例したバンドシフトを示した。このバンドシフトによる差スペクトルの形は電着膜の吸収スペクトルの一次微分成分及び２次微分成分を含むものと考えられた。

以上の結果より、Rps. viridis のクロマトホア中のカロチノイド分子は電場依存性のバンドシフトを起こす性質を有しており、今までにカロチノイドのバンドシフトの測定が報告されていないのは主としてクロマトホア膜の形状がシート状もしくは閉じていない小胞状であるためと考えられた。

## 3aA05

嫌気及び好気培養した光合成細菌 Rubrivivax gelatinosus の色素蛋白複合体（ＬＨ１とＬＨ２）の色素組成

高市真一，嶋田敬三[1]（日本医大・生物，[1]都立大・理・生物）

嫌気培養した Ru. gelatinosus に比べ好気培養したものは色調が赤紫色になることが知られている．そこで光合成膜を可溶化し，電気泳動により２種類の色素蛋白複合体（ＬＨ１とＬＨ２）を分離精製し，その色素組成を分析した．

全てのカロテノイドを同定したところ，好気培養では既に知られている diketo-spirilloxanthin ばかりでなく monoketo-spirilloxanthin の存在も確認できた．嫌気及び好気培養共に B875 (LH1) と B800-860 (LH2) が存在し，バクテリオクロロフィルの近赤外部吸収スペクトルは培養条件によらずに各々同一であった．一方カロテノイド領域の吸収スペクトルは同じ培養のＬＨ１とＬＨ２ではほぼ同一であり，カロテノイド組成もほぼ同一であった．嫌気培養では spheroidene, OH-spheroidene が 90% 近くを占め，spirilloxanthin が 10% あった．好気培養ではケト型の spheroidenone, OH-spheroidenone が 90% 近くを占め，monoketo-, diketo-spirilloxanthin が 10% 近く存在した．両方の複合体共に spheroide(no)ne より OH-spheroide(no)ne が 2 - 10 倍量存在した．嫌気培養で生育した菌体を好気条件に切り替えると，複合体に結合した状態でカロテノイドのケト化が起こり，特にＬＨ２においてＬＨ１より早く起きた．昨年の本年会で発表した Rhodopseudomonas acidophila の場合はＬＨ１とＬＨ２のカロテノイド組成が大きく異なり，今回とは違う結果であった．

## 3aA06

*Chloroflexus* 属の新種 *Chloroflexus aggregans* の性質とその特異的バクテリアルマット様クラスター形成

花田智、平石明、嶋田敬三、松浦克美
（都立大・理・生物、[1]コニシ環境バイオ研）

国内温泉より単離された好熱性糸状緑色光合成細菌MD-66株およびＹＩ９株は、形態的・生理的・遺伝的解析から *Chloroflexus(Cfx.)*属の新種であると判断されることを先に報告した。この新種の光合成器官の分光学的性質は *Cfx. aurantiacus* のそれと類似していたが、その反応中心を構成しているペプチドの遺伝子を配列決定したところ、アミノ酸で約5%、ＤＮＡレベルでは約16％の差異が見られた。HPLCによるカロチノイド分析から、この菌が*Cfx. aurantiacus* とは異なり、β caroteneでもγ caroteneでもないカロチノイドを主に含んでいるのが明かとなった。これらの結果も踏まえ、新菌株を*Cfx. aggregans* と命名した。

*Cfx. aggregans* の一番の特徴はそのバクテリアルマット様の細菌塊(クラスター）の形成である。この独特な運動は十数分という短い時間内に起きる現象であり、光合成または呼吸によって得られるエネルギーに依存していた。また、このクラスター形成速度はこの菌の成長の最適温度で最も早なった。このような速い運動性はこの菌株の採集場所が温泉の流水中のバクテリアルマットであることを反映しており、そこでの固着生活において有利な性質であると考えられる。この運動速度が cyclic nucleotide phosphodiesterase に対する阻害物質である IBMX (3-isobutyl-1-methylxanthine) の添加により速くなったことからこのクラスター形成運動の調節に環状ヌクレオチドが関与していることが示唆される。

## 3aA07

ヘキサノール処理クロロソームを用いたバクテリオクロロフィルｃ高次構造再構成の時間経過

松浦克美，広田雅光，三室守[1]，M.Miller[2]，R.Cox[2]
（都立大･理･生物，[1]基生研，[2]Odense Univ.,Biochem.Inst.）

緑色光合成細菌の光捕集色素構造体であるクロロソームは，バクテリオクロロフィルｃの高次構造形成にタンパク質が直接には関与していない特徴を持つ．この高次構造形成の過程を明らかにするために，ヘキサノール処理で高次構造を破壊したクロロソームからの高次構造再構成の時間経過を調べた．

材料は緑色イオウ細菌Chlorobium tepidumから単離したクロロソームを用い，速い測定にはストップトフロー装置を用いた．

飽和濃度のヘキサノール処理により，バクテリオクロロフィルｃの近赤外吸収帯は７４７ｎｍにピークのある集合体型から６７０ｎｍにピークのある単量体型に変化した．処理後ヘキサノールをゆっくり除くと，６７０ｎｍの吸収帯は中間型を示さずに直接７４９ｎｍの吸収帯に戻った．一方，ヘキサノール処理クロロソームを急激にヘキサノールを含まない等量の緩衝液で希釈すると，中間状態のスペクトルが観察された．中間状態は，６ミリ秒後にまず７１０ｎｍ付近の肩として検出され，その後ピークは７１０ｎｍ（７５０ミリ秒），７１８ｎｍ（１０秒），７３３ｎｍ（５分），７３８ｎｍ（７時間）と変化した．

これらの結果は，ヘキサノールの急激な除去で高次構造が再構成されるときは，まず少ない分子数のオリゴマーが形成され，それが時間経過とともに大きく成長することを示す．ゆっくりした除去では，ほとんどの色素分子が単量体型から直接大きな集合体型に再構成されることを示唆する．

## 3aA08

緑色光合成細菌のクロロソームの構造と機能におけるカロチノイドの役割

辻　公博，高市真一[1]，松浦克美，嶋田敬三　（都立大･理･生物、[1]日本医科大･生物）

緑色光合成細菌のカロチノイドについては存在および組成に関する報告はすでにあるが[1)]、その機能、存在状態についてはほとんど調べられていない。緑色細菌の光捕集構造体であるクロロソームは、バクテリオクロロフィル（BChl）c 、BChl a、カロチノイドを含み BChl c はクロロソーム内部に自己集合体として、BChl a は細胞質膜との接合部分であるベースプレートにタンパク質との複合体として存在していることがすでに示唆されているが、カロチノイドの役割については不明である。我々はこのクロロソームにおけるカロチノイドの機能、存在状態に興味を持ち、カロチノイドと BChl の定量的関係の有無およびカロチノイドの光捕集色素としての機能について調べた。

クロロソームは Chloroflexus aurantiacus から単離したが、この菌では強光条件下では BChl c の合成が抑制されカロチノイドの相対含量が増大することが知られている。光条件の異なる培養菌体全体の色素組成を調べたところ強光培養のものでは相当量の遊離状態のカロチノイドが見いだされたが、クロロソーム中のカロチノイドの相対量も弱光培養のものに対してやはり増加していることがわかった。すなわち、クロロソーム中のカロチノイドと BChl c の量比は変化していることが示された。

一方、クロロソーム内のカロチノイドの光エネルギーの捕集に対する寄与について調べるため蛍光の励起スペクトルを測定した結果、カロチノイドから BChl c への励起エネルギー転移があることが確認された。

1) Schmidt, K. (1980) Arch. Microbiol. 124. 21-31

## 3aA09

紅色光合成細菌の光化学反応中心複合体遺伝子のＰＣＲ法を用いたクローニングと一次構造に基づく系統解析

永島賢治、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）

紅色光合成細菌は、16S rRNA および可溶性チトクロム *c* に基づいた系統分類により、α、β、γの３つの亜綱に分けられている。これまで、紅色光合成細菌の光化学反応中心複合体をコードする遺伝子の一次構造は、専らαグループの細菌で調べられてきたが、我々はβグループの *Rubrivivax gelatinosus* の反応中心遺伝子の一次構造を決定し、αグループの細菌と比較することにより、過去においてαグループの細菌から *Ru. gelatinosus* の祖先種への反応中心遺伝子の種間移動があった可能性を指摘した。この可能性を更に検討するために、α、β、γの各グループに属する６種の光合成細菌の反応中心遺伝子の一次構造を決定した。反応中心複合体のＬサブユニットのＮ末端側、およびＭサブユニットのＣ末端側に保存された配列からプライマーを作成し、ＰＣＲ法によりそれぞれの遺伝子の約９０%の範囲をクローニングし塩基配列を決定した。これら２つの反応中心蛋白の一次構造に基づく系統樹を作成したところ、βおよびγグループの細菌のものは *Ru. gelatinosus* 同様に、αグループの中にまとまって位置付けられた。このことは、βおよびγグループの祖先種が、光合成器官をコードする遺伝子を、αグループの祖先種から種間遺伝子移動によって受け取ったこと可能性をさらに強く示唆している。

## 3aA10

スフェロイデンのシス-トランス異性体のＳ$_0$ラマンスペクトル

河内 直美，大橋 直人，姜 月順，九鬼 導隆[1]，小山 泰（関西学院大・理，[1]神戸高専・応用化学）

*R. sphaeroides* 2.4.1 から抽出･精製したall-*trans*スフェロイデンに光増感剤$I_2$を添加し、20分間光を照射して光異性化を行い、このシス-トランス異性体の混合物から高速液体クロマトグラフィーで各異性体を分離･精製した。このときの充填剤は水酸化カルシウム、展開溶媒は７～８％アセトン／*n*-ヘキサンであった。光異性化混合物のうち、５つの異性体の構造を$^1$H-ＮＭＲを用いて決定している。一方、*R. sphaeroides* 2.4.1 の粗製光反応中心（以下、RCと略す）から、光を完全に遮断した状態でカロテノイドを抽出し、高速液体クロマトグラフィーで精製した。

これらの異性体のうち、光異性化による７つの異性体及びRCから得た1つの異性体の *n*-ヘキサン溶液について、液体窒素温度において 488.0 nmの励起光を用いて共鳴ラマンスペクトルを測定した。シス-トランス構造の違いを最も顕著に反映しているのは 1100～1300 $cm^{-1}$の領域のスペクトルで、この領域はＣ-Ｃの伸縮振動に基づいている。これまでの研究で、(a) 1160 $cm^{-1}$のラマンバンドの強度はall-*trans*>13-*cis*となること、(b) 1140 $cm^{-1}$のラマンバンドの強度は13-*cis*>all-*trans*となることがわかっており、今回の結果と一致している。また、RCに結合したカロテノイドは15-*cis*であることがＮＭＲによって結論され（Lutz他 1987）、light harvesting complex (LH) に結合するのはall-*trans*であるとされてきた。今回RCから得た異性体はやはり15-*cis*だということが、1240 $cm^{-1}$に特有のラマンバンドが見られることから確認される。これらのラマンバンドの特徴に留意し、(1) 対称形であるβ-カロテンと非対称形であるスフェロイデンとの間にどのようなラマンスペクトル上の違いがあるのか、(2) RC、LHに結合したスフェロイデンに分子構造の歪みがあるのかを検討する。

## 3aA11

Spheroidene 単量体と会合体の蛍光スペクトル

渡辺 泰堂、輝吉 栄治、加嶋 睦之、姜 月順、小山 泰（関西学院大・理）

渡辺らは、170 K における all-*trans*-spheroidene の$CS_2$ 溶液の蛍光・蛍光励起・吸収スペクトルを測定し、４つの電子状態の存在を報告した［Y. Watanabe, T. Kameyama, Y. Miki, M. Kukiand Y. Koyama, Chem. Phys. Lett. 206 (199) 62-68］。それらは Level Ⅰ ($2^1A_g^-$)、Level Ⅱ($^1B_u^-$)、Level Ⅲ ($^1B_u^+$)、Level Ⅳ ($3^1A_g^-$) で、エネルギーは 14600, 18000, 18700, 23400 $cm^{-1}$ であった。今回、濃度依存性の実験を行い、前回発表したスペクトルは 170K で存在する会合体に由来するもので、溶液を希釈すると単量体に由来する新しいエネルギー準位が検出されることがわかった。例えば $1.34x10^{-5}$ M または、$1.87x10^{-6}$ M では Level Ⅰ ($2^1A_g^-$) からの発光が 14100 (0→0)、12600(0→1) $cm^{-1}$ に観測され、Level Ⅳ ($3^1A_g^-$) への吸収が 21100 (0←0)、22600 (1←0)、23980 (2←0) に観測された。従って単量体の Level Ⅰ ($2^1A_g^-$) と Level Ⅳ ($3^1A_g^+$) は、14100 $cm^{-1}$ と 21100 $cm^{-1}$ となり、会合体より低いエネルギー値をもつことになる。all-*trans*-spheroidene の *n*-ヘキサン溶液及びシス異性体についても報告を行う予定である。

## 3aA12

ＮＭＲ分光法によるバクテリオクロロフィルＣ（ＢＣｈｌ ｃ）の溶媒効果

溝口 正、Leenawaty LIMANTARA、栗本 宜孝[1]、古川 憲治[1]、小山 泰（関西学院大・理、[1]コベルコ科研）

緑色硫黄細菌 *Chlorobium limicora* が持つ farnesyl Bchl c は、側鎖の異なる数種類の同族体を含んでいるといわれている。これらを *Ch. limicora* より メタノール／ジエチルエーテル／石油エーテルを用いて抽出し、充填剤シリカゲル、展開溶媒２０％アセトン／*n*－ヘキサンを用いたＨＰＬＣで、主成分である２つの同族体を分離・精製した。主成分２つをＮＭＲ（$^1$Ｈ－$^1$Ｈ ＣＯＳＹ、$^1$Ｈ－$^1$Ｈ ＮＯＥＳＹ）で同定した結果、4-ethyl,5-ethyl farnesyl Bchl c（以下EEF-Bchl c と略す）、4-*n*-propyl,5-ethyl farnesyl Bchl c（PEF-Bchl c）であった。

これらの同族体のうちEEF-Bchl c を用いて、溶媒との分子間相互作用（中心金属Ｍｇへの配位、カルボニル基との水素結合等）を解明するためBchl c 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。

配位力の強い順に、ピリジン＞ＴＨＦ＞メタノールの３種類の溶媒中でBchl c のα－$^1$Ｈの化学シフトは、それぞれ、9.68、9.90、10.57 ppm、β－$^1$Ｈは、9.46、9.57、10.13 ppmであった。従って化学シフトは、溶媒の配位力のみに依存し、配位力の強い溶媒ほど低磁場シフトする傾向が見られる。

## 3aB01

イネ幼葉鞘の成長と細胞壁に対するケイ皮酸誘導体の影響

鄔偉男, 若林和幸, 保尊隆享, 神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

イネ科植物の幼葉鞘細胞壁のマトリックス多糖類に結合しているフェルラ酸(FA)とジフェルラ酸(DFA)量の増加に伴い細胞壁の伸展性が低下することが報告されてる。本研究では水中型イネ芽生えを用い、ケイ皮酸誘導体類を外から与えた時の幼葉鞘の成長、細胞壁の力学的性質及び細胞壁結合性フェノール化合物量を分析し、細胞壁の伸展性の制御におけるフェノール類の役割について検討した。

FA、p－クマル酸(p-CouA)、ケイ皮酸(T-CinA)はイネの成長を抑制したが、コーヒー酸、フェニルアラニン、チロシンは効果を示さなかった。成長抑制を示す3種の誘導体の内、FA と p-CouA 処理では細胞壁が固くなっていたが、T-CinA では変化はなかった。現在、DFA 架橋仮説(Fry 1979) との関連で細胞壁の化学的特性を分析中である。

## 3aB02

コムギ幼葉鞘細胞壁結合性フェルラ酸及びジフェルラ酸量に対する水ストレスの影響

若林和幸、保尊隆享、神阪盛一郎　(大阪市大・理・生物)

60mMのポリエチレングリコール(PEG4000)処理による水ストレス（吸水ストレス）条件下では、コムギ芽生え幼葉鞘の成長は著しく抑制された。1日間PEGで処理した芽生えを水に戻すと、幼葉鞘の成長は対照と同レベルまで回復した。細胞壁の力学的性質を調べると水ストレス条件下では成長が抑制されているにもかかわらず、幼葉鞘細胞壁は緩んだ状態で維持されていた。一方、水ストレスから回復させた場合には、成長の回復に伴い細胞壁は硬くなり、ほぼ対照と同程度となった。この時の細胞壁結合性フェルラ酸(FA)とジフェルラ酸(DFA)量を分析したところ、FA量とDFA量は水ストレス処理下では増加が抑制されていたが、水ストレスからの回復に伴い急激に増加しほぼ対照と同程度となった。対照、水ストレス処理、回復処理の3つの場合ともFA・DFA量と細胞壁の力学的性質の変化との間で高い相関が認められた。以上の結果より、FAとDFAは幼葉鞘細胞壁の力学的性質を規定する一因となっており、水ストレスでの細胞壁の緩みの維持はFA・DFA量の増加の抑制によるものと考えられた。

## 3aB03

イネ幼葉鞘の気中における成長抑制と細胞壁変化

河村幸男，若林和幸，保尊隆享，神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

イネ幼葉鞘の水中での伸長成長は空気中に比べると速いことが知られている。本研究では、気中、水中、および水中培養して適当な時期に空気中に出し、その後水にもどして育てたイネ幼葉鞘を用いて、細胞壁の変化を調べた。播種3日目に、空気中に一旦出すと成長速度は減少するが、水中にもどすと水中型と同様の速度に回復した。しかし、播種3.5日目では同様の処理をしても成長速度は回復しなかった。細胞壁の伸展性も成長と同様の傾向が見られた。このことは、空気中では細胞壁の伸展性が低下し、これが成長速度が低い原因となっていることを示している。最近、マトリクス多糖分子に結合しているフェルラ酸およびジフェルラ酸量と細胞壁の伸展性との間に相関があることが報告されている (Kamisaka, et al. 1990)。現在、フェルラ酸およびジフェルラ酸量について分析中である。

## 3aB04

イネ幼葉鞘切片のオーキシン誘導成長と(1→3),(1→4)-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，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、その代謝を妨げてオーキシンによる細胞壁のゆるみを阻害する。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、細胞壁多糖ではなく、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、イネ幼葉鞘の(1→3),(1→4)-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。

イネ幼葉鞘切片にCon Aを与えたところ、オーキシンによって誘導される *in vivo* での(1→3),(1→4)-グルカン分解が阻害された。この多糖の細胞壁酵素による自己分解や、細胞壁より高濃度のNaClで遊離された酵素標品によるグルカン分解反応もCon Aにより阻害された。また、グルカン分解活性のかなりの部分が、Con A–Sepharoseカラムに吸着した。これらの結果と、細胞壁のゆるみに対するCon Aの阻害作用より、Con Aは(1→3),(1→4)-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。

## 3aB05

### しだれ性のサクラのＧＡ３による屈曲阻止における組織学的変化

馬場啓一[1]、足立香織[2]、武 輝美[2]、伊東隆夫[1]、中村輝子[2]
([1]京大・木研、[2]日本女子大・理)

しだれ性のサクラ、ヤエベニシダレ(*Prunus spachiana*)の当年枝にＧＡ３処理を行なうと、しだれることなく上方へ向かって成長するようになる。今回我々は、この屈曲阻止現象が起こっている時に枝の組織がどのように変化しているのか、ヤエベニシダレのＧＡ３処理を施した枝、施さない枝および立ち性の品種であるエドヒガンの枝から組織切片を作製し、顕微鏡観察を行なった。しだれ性の枝にＧＡ３を処理すると枝の直径が大きくなり、木部組織の増加が認められた。また、ＧＡ３処理枝の上側で引張あて材に相当する組織が形成されていた。一方、ＧＡ３未処理の枝にはあて材の形成は認められなかった。これらの結果から、ＧＡ３処理における屈曲阻止は、形成層における細胞分裂の頻度を高め、枝を太く丈夫にすることに加え、あて材を形成することによって、枝を上方へと引っ張り上げることによって起こる現象であることが示唆された。

## 3aB06

### ﾌｪﾙﾛｲﾙｵﾘｺﾞ糖の成長阻害作用

石井忠、西島隆明[1]、掛川弘一、枝重有祐（農水省、森林総研、[1]野菜、茶試）

植物や微生物の細胞壁に由来するオリゴ糖が種々の生理活性を持つことが知られている。例えば、双子葉植物由来のｷｼﾛｸﾞﾙｶﾝｵﾘｺﾞ糖は成長阻害作用を持つことが報告されている。しかし単子葉植物の細胞壁に由来するｵﾘｺﾞ糖の作用については、報告は少ない。本研究ではﾀｹﾉｺより単離したﾌｪﾙﾛｲﾙﾗﾋﾞﾉｷｼﾗﾝ3糖の成長阻害作用について検討した。

ﾀｹﾉｺ細胞壁よりﾌｪﾙﾛｲﾙｱﾗﾋﾞﾉｷｼﾗﾝ3糖（FAXX）を単離した。ｳﾆｺﾅｿﾞｰﾙ処理したﾀﾝｷﾞﾝﾎﾞｳｽﾞを５日間暗所で生育させ、$GA_3$およびﾌｪﾙﾛｲﾙ糖を投与した。３日後に第２葉幼鞘長を測定した。$GA_3$のみ処理したものに比べて、$GA_3$とFAXX(20-170 nmol/plant)処理したものは伸長成長が10～30%阻害された。細胞壁にｴｽﾃﾙ結合したﾀﾞｲﾌｪﾙﾗ酸の割合は、$GA_3$のみと$GA_3$＋FAXXの間で差はなかった。また、ﾊﾞｯﾌｧｰ可溶のﾊﾟｰｵｷｼﾀﾞｰｾﾞのｱｲｿｻﾞｲﾑﾊﾟﾀｰﾝに差はなかった。以上の結果よりFAXXの阻害効果について考察した。

## 3aB07

### カボチャの根の力学的性質と細胞壁多糖類に対するアルミニウムの影響

Hoa LE VAN、桜井直樹（広島大・総科・自然）

アルミニウムで処理したカボチャ根の成長帯の細胞壁の力学的性質を，応力緩和法で測定した．アルミニウムは，処理後１時間で根の成長を阻害する．しかし力学的性質を表わすパラメーターの中で，Tm（最大緩和時間）だけが，アルミニウム処理３時間後から減少した．この結果は，応力緩和法ではアルミニウムの成長阻害効果を測定できないことを意味する．Tmの減少は，細胞壁の粘性的性質が失われていることを意味し，根の細胞壁が脆くなっていることを示唆する．次に，ペクチンとヘミセルロース多糖類の量的変化と分子量分布を測定した．アルミニウム処理後１時間で，根の成長帯のペクチンの酸性糖量が増加した．ヘミセルロースは，処理後６時間で有意に増加した．アルミニウムはこれら多糖類の分子量を顕著に変化させなかった．根の成長帯ではアルミニウムは，ペクチンおよびヘミセルローの多糖類の分解を阻害するか，合成を促進するかの，どちらかで量的増加を引き起こしていると思われる．

## 3aB08

### カボチャとトウモロコシの根が分泌する多糖類の糖組成と土壌微生物に対する影響

黒田華織、櫻井直樹、堀越孝雄（広島大・総科・自然環境）

植物と微生物間の相互認識機構に、細胞壁成分の多糖類が大きな役割を果たしていることが明かとなってきた。植物の根の分泌する多糖類が、土壌微生物にどのような影響を与えるかを、トウモロコシとカボチャを用いて調べた。

カボチャとトウモロコシはいずれも蒸留水中で水耕栽培した。栽培後、水耕液を濾過し、濃縮後、分泌多糖類の単糖組成をガスクロマトグラフ、分子量分布をＨＰＬＣで調べた。

主要中性構成単糖は、トウモロコシではグルコースとガラクトース、カボチャではアラビノースとガラクトースであった。また、トウモロコシではフコースが、カボチャではラムノースの比率が高かった．全糖量に対する酸性糖量は、トウモロコシ約20%、カボチャ約45%であった。両者の分泌多糖類の分子量には著しい差があった。トウモロコシの分泌多糖類は高分子と低分子からなるが、カボチャのは低分子が主であった。

希釈平板法を用いて、土壌中の糸状菌、細菌・放線菌の生育に対する根の分泌多糖類の影響を観察した結果についても報告する。

## 3aB09

タケノコ細胞壁からの(1→3,1→4)-β-D-Glucanの単離

枝重有祐、石井　忠（農水省森林総合研究所）

植物細胞の伸長成長には細胞壁に生ずるゆるみが不可欠である。細胞壁のゆるみの一部は細胞壁多糖類が部分的に分解されて起こると考えられている。単子葉植物では不明な点が多いが、子葉鞘の伸長時に(1→3,1→4)-β-D-Glucanの含量が減少することから、この多糖類が単子葉植物細胞のゆるみに関与していると推定されている。本研究では、単子葉植物細胞の伸長成長機構解明のための基礎的知見を得るため、タケノコ細胞壁から(1→3,1→4)-β-D-Glucanを単離し、その化学構造の解明を試みた。

タケノコを粉砕、アルベン抽出し、細胞壁試料を得た。この試料を 0.05M CDTA (20°C, 2回), 0.05M $Na_2CO_3$ (16h, 1°C & 3h, 20°C), 1M KOH (2h, 1°C & 2h, 20 °C), 4M KOH (2h, 20°C), 4M KOH+2-3% boric acid (2h, 20°C)で抽出し、細胞壁多糖類を得た。(1→3,1→4)-β-D-Glucanは1M KOH (2h, 1°C)画分に多く含まれていた。この画分をイオン交換カラム(QAE-Sephadex A-25)、GPC(Bio-Gel A-5m)で精製した。精製物は約90%がグルコース残基で、その４位（58.2-67.6%）と3位（18.7-24.8%）で結合していた。

## 3aB10

形態形成能力／細胞接着性の異なるニンジン培養細胞におけるペクチン多糖の構造

菊池　彰、佐藤　忍、枝重　有祐[1]、石井　忠[1]、藤伊　正
（筑波大・生物、[1]農水省・森林総研）

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Embryogenic callus(EC)とNon-embryogenic callus(NC)の2材料を用いて細胞壁ペクチン多糖の解析を行い、細胞の分化能や接着性をペクチン多糖の構造を基にを考察した。
日本植物生理学会1993年度年会において我々は、ECとNCのペクチン多糖（シュウ酸アンモニウム抽出）を分析したところ、メチル化をほとんど受けていない酸性糖を含む多糖質に量的な違いが認められ、またこの多糖質の構成糖分析を行ったところ、NCではガラクトースが、ECではアラビノースが最も多い構成糖として検出され、アラビノースとガラクトースの存在比に大きな違いがあることを報告した。

本講演では得られたペクチン画分をゲル濾過及びイオン交換カラムにより精製し、メチル化分析による糖構造の推定を行ったので報告する。その結果ECでは5-Ara、3,5-Araが、NCでは4-Gal、6-Gal、3-Araが特徴的に検出された。さらにエキソ型アラビナーゼ処理を行ったところ、全アラビノースのうちECでは1/4程度の、NCでは大半のアラビノースが消化されずに検出された。これらの結果をもとに、両細胞におけるペクチンの中性糖構造を推定し、モデルを作製した。

またCDTA、$Na_2CO_3$抽出のペクチン画分の分析結果によると、細胞壁に強く組み込まれていると考えられる画分になるにつれアラビノース含量の増加がECで顕著に認められ、ペクチンの結合性とアラビノース含量に正の相関が認められた。これらの結果から細胞壁ペクチンに含まれるアラビノースが細胞接着性に重要な役割を果たしていることが考えられた。

## 3aB11

低温グリセリン処理ササゲ胚軸中空円筒細胞壁の，ｐＨ依存性臨界降伏張力（ｙ）

岡本　尚，岡本朱根　（横浜市大・総合理学・分子認識）

in vivo の細胞壁には臨界降伏圧（Ｙ）があるが，in vitro には無い，したがってＹは physiologicalな係数であり，細胞壁の物性定数ではない（Cosgrove，1985）かのような議論がなされてきた。演者らは，-１５℃で２−３週間 ５０%グリセリン水溶液中に浸したササゲ胚軸中空円筒に ２５℃ で荷重をかけ，その可塑的伸長速度と荷重との関係をもとめ，pH 4.0 では 75g，pH 6.2 では 130g に，明かな臨界降伏張力（ｙ）の存在する事を見いだした。細胞壁の展性（φ）も，酸性化によって８倍に増加する。これらのパラメータのpH による変化は可逆的であり，pH 6.2 と pH 4.0 との間のｙの変化幅（55g）は換算するとオーキシンによるＹの減少幅（70 kPa）と一致する。今までin vitro の伸長実験に用いられてきた細胞壁標品，たとえばメタノールで熱殺した細胞壁は変性し過ぎているのに対し，冷グリセリン処理細胞壁にはより生体に近い構造と機能が保存されていると考えられ，この実験系は in vivo の状態と in vitro の状態との間をつなぐ重要な架け橋となると思われる。

## 3aB12

グリセリン処理ササゲ胚軸の細胞壁における伸長成長パラメーターに対する熱処理の効果

岡本 朱根, 岡本 尚(横浜市大.総合理学.分子認識)

低温グリセリン処理ササゲ胚軸における Stress-Strain 実験より、グリセリン処理細胞壁にはpH依存性の伸長成長パラメーター調節機構の存在が示唆される。

伸長成長パラメーターの調節に対する細胞壁結合性蛋白質の関与を知るために、熱処理（90℃，1分間）を施したグリセリン処理ササゲ胚軸の伸長成長パラメーターを測定した。

熱処理の結果、臨界降伏張力（ｙ）の酸性化による変化は全く失われ、pH4.0、pH6.2のいずれにおいても130gであった。熱処理により蛋白質は変性するため、ｙは酸性条件下で活性化される酵素的反応により調節されると考えられる。

一方、細胞壁の展性（$\phi$）は熱処理を施した材料においても酸性条件下で２倍に増大した。この結果はｙと$\phi$の調節機構が異なることを示唆している。

## 3aB13

オクラ下胚軸切片における水の移動のシミュレーション

山本良一（帝塚山短大・食品）

植物細胞の吸水成長は外部から細胞内への水の取り込みによって起こる。水は細胞壁、細胞膜等を通して細胞に取り込まれる。このような経路を通っての水の移動を理解するための一つの方法として、植物器官切片からの高張液による水の流出をモデルとして検討を行った。オクラ下胚軸切片をもちい、高張液による水の移動にHagen-Poiseulle の法則が適用できるかどうか調べた。オクラ下胚軸切片をソルビトール溶液に浮かべ切片の縮みを測定した。いろいろな濃度のソルビトール溶液を用いたところ、縮みの率は切片内外の水ポテンシャルの差に比例することがわかった。また、いろいろな温度で測定したところ、縮みの率は水の粘性に反比例することがわかった。これらの結果は、高張液による水の移動にHagen-Poiseulle の法則が適用できることを示している。そこで、水の通り道を円筒形であるとシミュレートした。その結果、水の通り道の径がサブナノメートルのレンジにあると計算された。そこで、オクラ下胚軸切片をオーキシン処理し、ソルビトール溶液に移し、縮みを測定したところ、オーキシンは水の通り道の径を大きくすることがわかった。

## 3aD01

低温誘導性転写因子をコードするトウモロコシ遺伝子

菅原和幸、Thomas Berberich、鈴木信弘、Kripamoy Aguan、草野友延（秋田農短大・生工研）

我々はイネ胚盤由来の培養細胞を低温処理した際に発現が誘導あるいは促進される３種のcDNAを単離した。このうちの1クローン(lip19)がbZIPをコードすることが明らかとなった。今回トウモロコシのlip19相同遺伝子を単離し構造解析をおこなったところ、mlip15と名づけたこの遺伝子はOBF1遺伝子とは異なるものであること、両遺伝子の転写物は低温にさらされたとき共に蓄積することが判明した。

ウサギ網状赤血球無細胞翻訳系で合成された遺伝子産物(mLip15)は小麦ヒストンH3遺伝子プロモーターに結合する。上記結果よりmLip15は低温誘導性の転写因子である可能性が強く示唆された。

## 3aD02

**ＡＢＡを含む培地で培養したコムギ培養細胞の耐凍性と凍結障害**

斉藤孝之，菅原康剛（埼玉大・理・生体制御）

植物の培養細胞では，ABA(アブシジン酸)培地で培養することによって耐凍性が増大することが報告されている。我々は，コムギ培養細胞(Triticum monococcum L.)を用いて，ABA培地で培養した時の耐凍性の増大と凍結障害について調べた。

培養細胞の凍結融解後の生存率はTTC還元法で調べた。ABA培地では，培養時間に伴い耐性が著しく増大し，培養6日後には耐凍性は最大になり，この時のABAの最適濃度は10～20mg/lであった。ABA培地で培養前の細胞の-40℃の生存率は数%であったが，10mg/lのABAを含む培地で培養した細胞では，凍結融解による生存率の低下はほとんど認められなかった。また，ABA培地で培養した時の細胞の増殖は，2,4-D培地に比べ低下したが，ABAの濃度が高くなるに従い促進され，10～20mg/lのABAで最大になった。

ABA培地で培養した細胞の可溶性タンパク質を電気泳動で解析したところ，ABAでの耐性増大時のタンパク質のバンドのパターンは無処理のものと大きく異なっていた。ABAによって増加あるいは減少したタンパク質があり，また，ABA処理に特有のタンパク質は45kDaと31kDaのものであった。

ABA培地で培養した細胞では，-40℃での生存率は融解直後は高かったが，時間とともに減少した。この減少は，温度や培地の浸透圧などによって異なり，この細胞では，障害が融解後に除々に進行していることがわかった。

## 3aD03

コムギ懸濁培養細胞のアブシジン酸による耐凍性誘導と細胞膜タンパク質の組成変化

小池倫也，荒川圭太，吉田静夫（北大・低温研）

ある種の高等植物，あるいはその組織由来の培養細胞は一定期間の低温処理（低温順化）により，凍結傷害に対する抵抗性（耐凍性）を増すことが知られている．また培養細胞にはアブシジン酸(ABA)により常温で耐凍性が高まるものもある．これら低温順化やABA処理に伴って耐凍性が増加するメカニズムを明らかにしようとする研究が数多く行なわれているが，未だ不明な点が多い．

今回我々は様々な培養条件の設定が可能な培養細胞を用いて，耐凍性の獲得機構を解析するための実験系の確立を試みた．材料としてコムギ懸濁培養細胞(*T. aestivum* L. cv Chihoku)を用い，低温処理及びABA処理による細胞の耐凍性の変化を調べた．耐凍性は凍結融解した細胞の電解質漏出を測定することで評価した．その結果，ABAを与えない細胞の耐凍性は-5.2℃であったのに対し，ABA処理細胞(50μM,7日間)は-18.2℃まで耐凍性が増加した．一方，低温処理（2℃,2週間）では-13.2℃の耐凍性を示した．

このコムギ培養細胞のABA処理に伴う耐凍性増加の機構を解明する上で，我々は凍結傷害に深く関わる部位である細胞膜に着目し，特に細胞膜タンパク質の果たす役割について研究を開始している．現在，ABA処理細胞，未処理細胞から細胞膜を単離し，電気泳動により細胞膜タンパク質の組成の変動について比較検討しているのでその結果を報告したい．

## 3aD04

低温によるヤエナリ培養細胞の液胞ｐＨの変化

吉田静夫（北大・低温研）

対数増殖初期のヤエナリ培養細胞は低温低温感受性が最も高く、低温（０℃）を与えると細胞質ｐＨが速やかに低下することを報告してきた。低温傷害初期過程では、細胞質の酸性化に先だって液胞$H^+$-ATPaseの著しい活性低下が見られることから、本酵素が細胞質ｐＨの調節に重要な役割を持つことが推察される。このことを裏付けるため、本研究では低温による液胞ｐＨの変化について、蛍光レシオ画像解析法を用いて実験を行った。ｐＨプローブとして採用したCDCF-DA {5-(and 6-)carboxy-2',7-dichlorofluorescein diacetate} は、酸性ｐＨの測定に適したpKa値を有し、かつ液胞内に選択的に蓄積することから液胞内ｐＨの測定に最適と考えられる。低温下において液胞ｐＨと細胞質ｐＨは時間と共に互いに反対方向に変化した。すなわち、液胞のアルカリ化と細胞質の酸性化が同時的に進行した。この結果から、低温による細胞質の酸性化は液胞膜プロトン輸送機能の損傷による液胞内部から細胞質へのプロトンまたは関連イオンの漏出によることが強く示唆される。

## 3aD05

低温耐性型液胞膜$H^+$-ATPaseの存在

母坪　研巳，吉田　静夫　（北大・低温研）

広く生物界に存在する液胞型$H^+$-ATPase（V-type ATPase）はその特徴の一つとして、in vitroにおいてchaotropic anionおよび基質であるMg-ATPの存在下で低温条件を与えるとperipheralなサブユニットが膜から遊離し、活性を失うことが知られている。高等植物の液胞型$H^+$-ATPaseにおいても同様の特性が存在し、これが植物の低温傷害機構の一因ではないかと考えられている。しかし、この低温下における液胞型$H^+$-ATPaseの失活の機構は、chaotropic anionに対する感受性などの面で、低温耐性の異なる植物では差異のあることが近年の研究で明らかにされてきた。そこで、我々は豆科植物で低温耐性が異なり、サブユニット構成も若干異なるヤエナリとエンドウの液胞膜を用いて、それぞれの液胞型$H^+$-ATPaseの低温条件下での機能低下に関して検討を行った。

暗黒下で4-7日間生育させたヤエナリとエンドウの黄化実生のそれぞれ下胚軸と上胚軸からfloating法を用いて液胞膜サンプルを調整した。また、lysophosphatidilcholinによる可溶化とQAE-Toyopearlを用いて液胞型$H^+$-ATPaseの精製を行った。低温処理はいずれも１時間で、3mM Mg-ATPの存在下で行った。

$Cl^-$,$NO_2^-$,$NO_3^-$に対する感受性は、エナリでの$H^+$輸送活性の低下が起こる濃度では、エンドウでの活性低下は認められなかった。特に、$NO_2^-$に対する感受性の違いでは、ヤエナリでは25mMで60%以上の低下を示すのに対し、エンドウでは300mM $NO_2^-$でも$H^+$輸送活性の低下は10%程であった。また、ヤエナリ培養細胞の液胞膜$H^+$-ATPaseに対する抗体を用いて、これらの活性低下の際のperipheralなサブユニットの遊離に関しても検討を行った。

## 3aD06

In Vitro実験系を用いた凍結傷害機構に関する研究

I.P.EFREMOV[1]，吉田静夫（[1]Yakutsk Inst. Biology，北大・低温研）

植物細胞の凍結傷害は凍結脱水による細胞膜の構造と機能の変化によってもたらされることが知られる。しかし、凍結による膜損傷とその防止に関する分子機構については十分に解明されていない。低温馴化過程で保護効果を有する糖やアミノ酸など、あるいは保護効果が期待されるLEA CORなどの特別な蛋白質が細胞内に蓄積することが知られている。一方、細胞膜の脂質や蛋白質の組成も大きく変化することも事実である。耐凍性の増加が、単に保護物質の増加によるのか、あるいは細胞膜自体の性質の変化によるのか議論の多いところである。我々は、凍結脱水による膜傷害の機構を分子レベルで理解するため、耐凍性の異なる植物から分離された細胞膜小胞の懸濁液を用いたin vitro 実験系により研究を進めている。膜損傷の指標として$H^+$-ATPase活性とプロトン輸送、半透過性、膜凝集をとりあげ、凍結温度、膜小胞濃度、保護物質、特に熱耐性蛋白質について得られた知見を紹介する。

## 3aD07

越冬中の小麦の耐寒性と水の物性との関係:$^1$H-NMRによる研究

吉田みどり、阿部二朗、森山真久、中村義男[1]（農水省・北海道農試、[1]北大・理・液体化学）

小麦は秋からのハードニング過程で組織内の水分量を減少させながら耐寒性を獲得して行くが、品種間に見られる耐寒性の差異は組織内の水分量とは必ずしも一致しない。本研究は、冬期に約120日間雪に覆われる自然条件下で育てた冬小麦３品種（Valujevskaja, チホクコムギ, P.I.173438）の10月から４月までの耐寒性（$LT_{50}$）と水分量の変動を調べるとともに、そのクラウン中の水の物性を$^1$H-NMRで分析し、耐寒性との関連を調べた。水の物性に関してはクラウン中の水のプロトンの緩和時間（long$T_1$、short$T_1$、long$T_2$、short$T_2$）を測定した。

$LT_{50}$とクラウンの水分量は３品種とも低温順化中に減少し、12月に最低値に達した。積雪下でそれらの値は春まで徐々に増加した。試験期間中、耐寒性はValujevskajaが最も高く、次いでチホクコムギ、P.I.173438の順であったが、クラウンの水分量はチホクコムギ＞Valujevskaja＞P.I.173438であった。P.I.173438は水分量が少ないにもかかわらず、耐寒性は最も低かった。$T_1$、$T_2$も$LT_{50}$及び水分量と同様の変動を示した。品種間差異は$T_2$よりも$T_1$に明白に表れ、その順位はチホクコムギ＞P.I.173438＞Valujevskajaであった。$T_2$ではshort$T_2$においてチホクコムギ＞Valujevskaja＝P.I.173438となった。これらの結果から、小麦はハードニング中にクラウン組織内の自由水を減少させることが明かになったが、品種間の耐凍性の差異は、組織内の水全体の物性よりもむしろ、束縛水の絶対量によって決定付られる可能性が示唆された。

## 3aD08

低温下での葉のクロロフィル蛍光と酸素発生速度の変化

大川原良次、金子誠二（（株）ジャパンターフグラス）

低温感受性の植物では、低温下で比較的低い光照射により光合成器官の損傷が起こることが知られている。本報では牧草や芝草として利用されている暖地型でC4植物であるノシバ(Zoysia japonica.Steud.)と、寒地型でC3植物であるトールフェスク (Festuca arundinaceae Schreb.)の低温感受性の差異を葉の酸素発生とクロロフィル蛍光を用いて比較した。屋外で栽培すると気温の低下にともないノシバの酸素発生速度は低下し、冬期に光合成能の低下が起こることが観察された。特に酸素発生速度を弱光下(PFD;70 $\mu$ molm$^{-2}$s$^{-1}$)で測定した時に、著しい低下がみられ、葉の光量子収率が低下していると考えられた。そこでノシバを光照射下で低温処理（10℃、PFD;230 $\mu$ molm$^{-2}$s$^{-1}$）を行なったところ、24-48時間の低温処理で、寒地型のトールフェスクと比較して酸素発生速度とクロロフィルａ蛍光（Fv/Fm）の著しい低下が起こり、光化学系の活性が光と低温の組み合せにより阻害された。酸素発生速度とクロロフィルａ蛍光（Fv/Fm）の低下は暗条件下では起こらなかった。また同様な酸素発生速度とクロロフィルａ蛍光（Fv/Fm）の低下はファイトトロン内で10/7℃(12時間日長、230 $\mu$ molm$^{-2}$s$^{-1}$）で1週間処理することで起こり、引続き1週間25/20℃に戻すことにより回復した。以上の結果からノシバは低温下での光による損傷を受けやすく、それが冬期の光合成活性の低下をもたらしている可能性が示唆された。

## 3aD09

フラボノイド合成関連遺伝子とダイズの耐冷性

高橋良二（北海道農業試験場）

白目ダイズ（臍色が黄色、毛茸が白色）は外観品質が優れているが耐冷性が低いため、冷害年における収量と品質の低下（開花期の低温による種子の臍周辺の褐変）が褐目ダイズ（臍色と毛茸が褐色）に比べて甚だしい。この臍色と耐冷性の連鎖は白目耐冷性品種育成の障害になっている。毛茸色と種皮色を支配する遺伝子Ｔと色素の分布を支配する遺伝子Ｉのどちらかが耐冷性機能に関与していると考えられるため、ＩとＴに関する２組のIsogenic lineを供試して耐冷性検定を行った。
①臍周辺着色における褐目品種の耐冷性（着色程度の低さ）は遺伝子Ｔ（またはそれに密接に連鎖した遺伝子）に起因すると考えられた。また遺伝子Ｉにも着色を抑制する作用があると考えられた。②主茎長は褐毛系統が白毛系統や褐目系統に対して有意に高い値を示した。③開花始より15℃で4週間処理した結果、有限伸育型のIso-lineにおいては、褐毛系統が白毛系統に比べて障害型耐冷性がまさっていた。
以上の結果より、ダイズの毛茸色と種皮色を支配する遺伝子Ｔ（3'-flavonoid hydroxylaseをコードしていると推定される）、またはそれに強く連鎖した遺伝子が耐冷性機能（臍周辺着色を抑制する機能、生育量を増大させる機能、一部の系統において障害型耐冷性を高める機能）を有することが示唆された。

## 3aD10

クロレラのハードニングによるカロチノイド含量の変化

松川治、吉元誠、波多野昌二（九州大、農、食化工）

*Chlorella ellipsoidea* Gerneck (IAM C-27) は低温処理（ハードニング）により、蛋白質合成が誘導され耐凍性を獲得する。環境ストレスによる植物の耐凍性獲得にアブシジン酸の関与が報告されているが、クロレラ中のアブシジン酸の有無や耐凍性との関係についてはほとんど検討されていない。今回、クロレラの耐凍性とアブシジン酸の前駆体であるカロチノイドとの関係について報告する。

ハードニングによるカロチノイドの変化は逆相HPLCにより分析した。C-27株において、ハードニング24時間で少なくとも8種類のカロチノイドの増減が観察された。このうちアブシジン酸の前駆体であるビオラキサンチンや9-シス-ネオキサンチンの増加が顕著であった。一方、低温感受性株の*C. ellipsoidea* C-102では低温処理によりこれらのカロチノイドの減少が観察された。カロチノイド合成阻害剤のフルリドン添加は耐凍性獲得を阻害した。以上の結果はクロレラの耐凍性獲得にカロチノイドが重要な役割を演じていることを示唆している。

## 3aE01

シロイヌナズナ　プロトプラストからの個体再生

山藤誠司、後藤伸治（宮城教育大、生物）

演者らは、シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）WS系統を用いて、プロトプラストからの個体再生を試みた。Damm and Willmitzer(1988)の手法をいくつか改良したところ、安定的に再生個体を得ることに成功した。改良点は以下の通りである。

(1)プロトプラストを単離する際に用いる酵素液を0.5%セルラーゼY-Cと0.05%ペクトリアーゼY-23の組み合わせとする。これによって酵素処理の時間を約50分に短縮することが出来る。

(2)プロトプラストおよびカルスの培養の際に用いるオーキシンをα-ナフタレン酢酸とする。

(3)プロトプラストの培養は、弱い白色光下（8μW/cm$^2$）で行う。

これらの改良の結果、シュート誘導培地に移したカルスのうち約60%のものが個体を再生し、正常な種子をつけた。

## 3aE02

シロイヌナズナの器官再分化に対するブロモデオキシウリジンの効果

杉山宗隆（東北大・理・生物）

シロイヌナズナの組織培養においては、下胚軸や根の断片を CIM（カルス誘導培地）で数日培養した後に SIM（苗条誘導培地）あるいは RIM（発根誘導培地）に移植すると、高い頻度で器官再分化が誘導される。CIM での前培養を行わずに直接 SIM や RIM に置床した場合には器官再分化は全く見られないか、極めて限定されたものとなることから、前培養期間中に器官再分化能の獲得が起きると推定される。この過程を攪乱する薬剤を求めて、前培養時にいくつかの薬剤処理を行い器官再分化への影響を調べたところ、ブロモデオキシウリジン（BrdU）が器官再分化に対して興味深い作用をもつことを見いだしたので報告する。

まず下胚軸断片を種々の濃度の BrdU を含む CIM で 4日間培養し、BrdU を含まない SIM および RIM に移植して、それぞれ苗条再分化と根再分化に対する影響を見た。1～10$\mu$M の BrdU は苗条再分化に対しては促進的効果を示し、10$\mu$M 以上では根再分化に対して阻害的に働いた。100$\mu$M の BrdU で処理した場合には、苗条再分化、根再分化のいずれもほぼ完全に阻害された。根外植片を材料に用いたときにも BrdU の苗条再分化促進効果は認められたが、100$\mu$M の BrdU による苗条再分化の阻害は極めて軽微であり、この点で下胚軸外植片と大きく異なっていた。BrdU の効果は高濃度のチミジンを同時に投与することにより打ち消された。現在、BrdU の器官再分化に対する作用様式を明らかにするために、各種温度感受性突然変異体への BrdU 投与実験等を行っている。

## 3aE03

シロイヌナズナにおける葉身の変異株*angustifolia*を用いた葉形態形成の解析

柘植知彦、塚谷裕一、内宮博文（東京大・分子細胞生物学研究所）

双子葉植物の葉の形態形成のモデルとしてシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)を用い、Columbia野生株 (wt)と細葉の変異株である*angustifolia*(*an*)変異株とを比較解析した。その結果、*an*変異株の本葉はwt株と比べ主脈方向（縦）の長さに異常は認められなかったが、主脈に対し垂直な方向（横）の長さが著しく短く、厚さも増していた。*an*変異株の葉の成長段階を追った解析結果からは、*ANGUSTIFOLIA*遺伝子が作用を開始する時期は葉の縦の長さが0.5～1.0 mmの時期と推定された。この時点を境に*an*変異株で葉は横の成長率がwt株に比べ一貫して抑えられており、いわゆるneotenyの性質を示した。解剖学的解析からは、*an*変異株の葉を構成する細胞数は縦方向でwt株と同数であり、横方向で少なく、厚さ方向で多いことが明らかとなった．また*an*変異株では、柵状組織の第一細胞層を構成する細胞においてwt株に比べ横方向の伸長に欠損があり、むしろ厚さ方向に発達することが観察された。従って*ANGUSTIFOLIA*遺伝子は細胞増殖と細胞伸長の両面において葉の横方向の発達を促し、厚さ方向の発達を抑制する機能を担っているものと結論づけられた。

また*ANGUSTIFOLIA*遺伝子を葉の形態形成に関与する遺伝子ネットワークの中に位置付ける目的で、*an*変異株と*acaulis1*変異株を含むその他の変異体との二重変異株を作成し、解析した。その結果、*ANGUSTIFOLIA*遺伝子は少なくとも*ACAULIS1*遺伝子と独立に働くことが判明した。

## 3aE04

シロイヌナズナのサイトカイニン高感受性突然変異体およびオーキシン高感受性突然変異体の分離の試み

柿本辰男、久保稔、佐藤圭祐、柴岡弘郎　（大阪大・理・生物）

サイトカイニンやオーキシンの耐性突然変異体の報告はあるが、高感受性突然変異体の報告はない。植物ホルモンのシグナル伝達系の研究にこれらの研究が役にたつと考え、その分離を試みた。

サイトカイニン高感受性突然変異体：基本となる系はシロイヌナズナの胚軸をカルス誘導培地（オーキシンとサイトカイニンを含む）でカルスを誘導した後、シュート誘導培地（サイトカイニンを含む）でシュートを誘導する。カルス誘導培地中のサイトカイニンの濃度が高ければ緑色のカルスが誘導され、低ければ淡黄色のカルスが誘導される。21,000個体のＥＭＳ処理Ｍ２植物の胚軸を低濃度サイトカイニンのカルス誘導培地でカルスを誘導し、緑色のカルスとなるもの選び、さらに二次スクリーニングとしてシュート誘導培地中のサイトカイニンの濃度が野生株ではシュートを再生できないような低濃度でもシュートを再生する個体をサイトカイニン高感受性突然変異体候補として２個体選んだ。

オーキシン高感受性突然変異体：8,000個体のＭ２の胚軸より、カルス誘導培地中のオーキシンの濃度が野生株においてカルス誘導に必要な濃度以下でもカルスを誘導するものを４個体選んだ。

こららの個体より種子をとるため、現在シュートを誘導して培養中である。

## 3aE05

ニンジン肥大根からのカルス誘導および植物体再生

水江由佳、保田浩、増田宏志（帯広畜大・生物資源化学）

ニンジン肥大根切片のカルス誘導系において、従来では植物ホルモンのオーキシンやサイトカイニン存在下でカルスを誘導し、さらにその植物ホルモン要求性の細胞として継代培養が行われて来た。我々はニンジン胚軸切片において、24時間という短時間2,4-Dで処理した切片を2,4-Dのない培地に移し培養を続けるとカルスが誘導され、次いで植物体が再生されることを見いだした。今回はこの誘導系をニンジン肥大根に応用した。その結果、胚軸切片と同様に植物ホルモンが存在しない条件下でカルス誘導、次いで不定胚の発生、植物体が再生されること確認したので報告する。

ニンジン肥大根切片を2,4-Dを含むMS固体培地で24時間処理した後、2,4-Dを含まない固体培地に移し培養すると、2,4-D存在下で培養を続けたものと比べカルス誘導はやや活発で頻度も高かった。肥大根組織では形成層部分で活発なカルス形成が見られ、次いで皮層部分で、さらに遅れて中心部分でわずかに形成された。特に形成層と皮層部分で形成された柔らかいカルスからは頻度は低いが不定胚が形成され、植物体が再生された。またこのカルスは2,4-Dの含まない培地に移しても増殖し、馴化細胞としての性質をもっている。そこで培養過程におけるニンジン肥大根の各組織のタンパク質と糖タンパク質組成の変化を検討した結果、組織別に違いがあることが分かった。一方、2,4-D存在下で培養した場合には植物再生は観察されなかった。

## 3aE06

ニンジン胚軸切片における不定胚形成について

大橋伸二、水江由佳、増田宏志（帯広畜大・生物資源化学）

我々は昨年の本大会においてニンジン胚軸切片を2,4-Dで24時間処理し、その後2,4-Dを含まない培地に移植することにより組織からの単細胞の離脱、細胞塊および不定胚が順次形成することを報告した。今回は組織に接着している細胞から高頻度で不定胚が形成することについて報告する。固体培地で胚軸切片を2,4-D処理後、2,4-Dがない条件下で培養すると組織の細胞どうしが接着した状態で分裂しカルスを経ないで高頻度で不定胚を形成する。組織から細胞が離脱しカルスが形成される場合は不定胚形成の頻度は低い。一方、液体培養においても同じ傾向を示した。すなわち、2,4-Dで処理した切片を2,4-Dのない条件下で培養すると単細胞が多く離脱する。この単細胞の一部は分裂して不定胚を形成するが、一部は分裂して単細胞になる場合もあり相対的に不定胚形成の頻度は低い。一方、単細胞として離脱しないで組織と接着した状態で細胞分裂、、細胞塊形成、高頻度の不定胚分化が順次起こり、不定胚集団として培地中に離脱する場合がある。また、細胞どうしが接着している大きな細胞集団として離脱し、この細胞集団から高頻度に不定胚が形成される場合もある。この不定胚が形成される細胞集団は表皮付近の細胞であると思われる。培養条件として、液体培養では胚軸切片を短時間2,4-Dで処理した後、2,4-Dを含まない培地で培養を継続するよりも、一定期間培養後さらに新しい2,4-Dを含まない培地に移植して培養した時の方が、不定胚形成が早く、また細胞集団の離脱が促進される。

## 3aE07

ニンジン胚軸の不定胚形成におけるcolchicineとCon Aの影響

得字圭彦、増田宏志（帯広畜産大・生物資源化学）

我々はニンジン胚軸切片を短時間2,4-Dで処理すると、その後2,4-Dが存在しなくとも細胞分裂が起こり、細胞塊が形成され、さらに不定胚が発生するという不定胚誘導系を見いだした。この方法は植物組織に様々な生理反応を引き起こす2,4-Dの影響を少なくし、不定胚形成に必須な因子を研究するのに効果的であると考えられる。今回はこの誘導系を用いてcolchicineおよびCon Aの不定胚形成におよぼす影響について報告する。

ニンジン胚軸切片を2,4-Dで24時間処理し、次いで2,4-Dを含まないMS液体培地で培養すると15日後の培地には単細胞、細胞塊および不定胚の細胞集団が混在する。これらをナイロンフィルターで細胞の大きさにより分画した。分画した単細胞、細胞塊および不定胚を細胞分裂の阻害剤であるcolchicineの存在下で培養し、不定胚誘導および植物個体再生に対する影響を検討した。colchicineによりいずれのステージの細胞も球形に肥大し不定胚形成および植物個体再生を阻害した。しかし、colchicineで処理して得た肥大した細胞塊を、colchicineを含まない培地に移して培養すると、肥大した個々の細胞から不定胚が形成され、次いで植物個体が再生された。単細胞からは不定胚が形成されなかった。一方、Con A存在下で細胞塊から植物個体が再生するが、その成長は抑制され、組織の一部に再び不定胚が多数形成された。しかし形成された不定胚はCon A存在下で植物個体には再生しなかった。二次不定胚をCon Aを含まない培地に移して培養すると正常な植物個体に成長した。

## 3aE08

ニンジン培養細胞における不定胚形成能とIAA代謝の関係

佐々木和生、*下村講一郎、鎌田博、原田宏（筑波大・生物、*国立遺伝研・筑波）

ニンジンの組織培養においては、オーキシン処理によって、体細胞不定胚形成が誘導されることが知られている。しかし、TiプラスミドのIAA合成酵素遺伝子を導入することで活発にIAA合成をしているニンジン培養細胞においては、体細胞不定胚形成は誘導されなかった。IAA合成酵素遺伝子を導入したこの細胞においては、合成されたIAAがインドールアセチルアスパラギン酸(IAAsp)に代謝されることにより、内生のIAA含量が低いレベルに保たれていることが示されている。そこで、不定胚形成能とオーキシン代謝の関係を探るため、2,4-Dを含む培地で継代培養されている、不定胚形成能を有する細胞(embryogenic cells:EC)と不定胚形成能を失った細胞(non-embryogenic cells:NE)における、内生IAA含量とIAA代謝について検討した。その結果、ECの内生IAA含量はNEのおよそ15倍高い値であり、また、NEのIAA含量はIAA合成酵素遺伝子を導入した細胞とほぼ同じレベルであった。また、NEにおいては、IAAがIAAspに代謝され、さらにオキシインドールアセチルアスパラギン酸(oxIAAsp)に代謝されていること、および、生成されたoxIAAspはさらに代謝・分解されていることが明らかとなった。NEにおいては、この代謝系によりIAAが不可逆的に分解されることで、内生の遊離IAA含量が低いレベルに保たれており、IAAspが従来考えられていたような遊離IAAの貯蔵型として機能しているのではないと考えられる。一方、ECにおいては、IAAsp生成は見られるもののoxIAAspは検出されず、このため遊離IAAレベルはNEよりも高いレベルに保たれていると考えられた。このような結果は、ECにおける高いIAA含量が不定胚形成において重要な役割を果たしていることを示唆している。

## 3aE09

ニンジンの不定胚形成能獲得とタンパク質のリン酸化

タン・センキー、鎌田博、原田宏　（筑波大・生物）

ニンジンの外殖片を2,4-D存在下で培養することで、不定胚形成能を持つembryogenic cells(EC)を誘導することができ、このECを植物ホルモン無添加培地に移植することで、不定胚が分化する。特定の機能を持つように分化した細胞が不定胚分化能を獲得する際には細胞内で大きな変化が起こることが予測され、このような変化を誘導する機構として、特定タンパク質のリン酸化が関与していることが考えられる。そこで、不定胚形成能の獲得とタンパク質リン酸化の関係を調べるため、まず初めに、ECと不定胚形成能を失ったnon-embryogenic cells(NC)を用いて各々のリン酸化タンパク質の違いを調べた。

ECとNCに$^{32}$P無機リン酸を充分量取り込ませるため、両細胞をリン酸無添加培地で3時間培養した後、$^{32}$P無機リン酸を加え、さらに3時間の*in vivo* labelingを行った。*In vivo* labelingの後、抽出バッファーで潰し、TCA不溶性画分を得た後、二次元電気泳動で分離し、両者のリン酸化タンパク質の違いを調べた。その結果、NCでは見られないが、ECで見られるリン酸化スポットが9個存在した。この9個のリン酸化スポットのうち、銀染色によっても検出できたものは3個であった。この3個のスポットは、リン酸飢餓処理しなかったECでも同様にその存在が確認できた。このようなリン酸化スポットについて、不定胚形成能獲得との関係をさらに裏付けるため、ストレスによる不定胚誘導系を用い、ニンジン実生の茎頂部を2,4-D、sucrose、NaCl、CdCl2等で一定期間で処理し、同様なリン酸化タンパク質の存在の有無を比較検討中である。

## 3aE10

アブラナ属種間キメラにおける形態形成

金谷　潔、野口　貴[1]、平田　豊（農工大・一般教育、[1] 東京農試）

植物の形態形成を組織レベルで調べるために、in vitro接木法によるキメラ形成法を確立した。材料には、アブラナ属の種、*Brassica campestris*（小松菜）と*B. oleracea*（紫キャベツ）を用いた。無菌的に発芽させた両種の胚軸を寄せ接ぎしてガラス管に挿入し、カルス形成を経て不定芽を誘導後、発根培地に継代し、多数のキメラ個体を得た。こうして得られた種々のキメラを材料に外部形態、アイソザイムパターン、RAPD法によるDNA多型によって、異種植物組織間の相互作用、特に器官形成や、植物組織の層構造の決定メカニズム等について考察する。

## 3aE11

新たな突起形成不能株の単離とその解析

頼藤徹也、大隅良典　（東大・教養・生物）

酵母Saccharomyces cerevisiae 1倍体細胞a、αは、互いに相手の分泌する性フェロモンの作用により、接合能を獲得し2倍体a／α細胞を生成する。a細胞は、α細胞が分泌するαフェロモンの作用によりプロジェクションと呼ばれる鋭い突起を形成する。この極性成長のメカニズムを明らかにするために突起形成不能変異株を単離解析し、少なくとも3種の遺伝子PPF1/SPA2, PPF2, PPF3がこの過程に関与していることを見いだした。前回、これらの遺伝子における変異の、接合効率およびフェロモンに対する細胞の適応能に与える影響について報告した。

突起形成には数多くの遺伝子の関与が予想されるため、さらに多数の突起形成不能株を顕微鏡下で単離した。取得された27株について相補性テストを行った結果、これらの株の持つ変異はすべて上記の3つのいずれかの相補性グループに属することが明らかになった。この結果から、形態を指標とした変異株の単離は、ほぼ飽和していると考えられる。また突起形成には栄養増殖期にも必須の遺伝子が多数関与していることを意味しているのかも知れない。次にこれら変異株の栄養増殖期における形態をノマルスキー顕微鏡などを用いて観察した。その結果、ppf3細胞では、母娘細胞間の正常なくびれを欠損した細胞、および出芽痕の直径の増大した細胞がある割合で現れることが判かった。そのためppf3細胞は弱い細胞質分裂異常を示し液体培地中では若干凝集して増殖する。またppf3細胞では出芽パターンにも異常がみられた。これらの変異形質は1Mソルビトールを添加した高張培養液中でも抑圧されなかった。現在これら形態的変異形質を利用してPPF3遺伝子のクローニングを行っている。

## 3aF01

イネにおけるポリアミン、ＩＡＡ、ＡＢＡの師管転流

○横田孝雄、中山真義、原沢　泉、佐藤　守1、且原真木1、河部　暹1（帝京大・理工・バイオ、1蚕糸昆虫研）

イネにおける植物ホルモンの研究は数多くなされてきたが、その師管液転流に関しては報告が全くない。本研究では、イネ師管液について、含まれるポリアミン、ＩＡＡ、ＡＢＡの同定・定量を行った。

イネ師管液は吸汁中のトビイロウンカの口針をＹＡＧレーザーで切断し、溢泌する師管液をガラスキャピラリーにて採取した。分析はＣ１８－ＨＰＬＣで行い、ポリアミン（ＦＭＯＣ蛍光誘導体として）とＩＡＡは蛍光検出器で、ＡＢＡは紫外検出器で分析した。

その結果、1）ポリアミンとして、purtrescine、cadaverine、spermidine, spermine が各々ml当り 7 nmol、3 nmol、1 nmol、痕跡量同定・定量された。植物体のポリアミン濃度と比較することにより、アミノ基が多くなると師管へ移動しにくくなることが示唆される。2）ＩＡＡは 0.2 nmol と定量された。これは植物体濃度と近いことより、ＩＡＡの師管移動は自由であると考えられる。3）ＡＢＡは 0.7 nmolと定量された。これは植物体濃度より約２０倍も高いことより、ＡＢＡは師管に積極的に分泌されていると考えられる。

## 3aF02

シロイヌナズナを用いた種子登熟過程の遺伝学的解析

南原英司[1,2]、Kallie Keith[3]、Peter McCourt[3]、内藤哲[2]（名古屋大・農・生化学制御[1]、北海道大・農・応用生命科学[2]、トロント大・植物[3]）

種子は植物固有の胚発生過程の産物であり完熟種子に至るまでには複雑な遺伝プログラムを要すると考えられるが、この種子登熟過程に関する知見はほとんど得られていない。我々は種子登熟過程を支配している遺伝因子の検索とそれら遺伝因子のネットワークを遺伝学的に理解するためにシロイヌナズナを用いて種子登熟過程に異常を生じた変異株の単離と解析をおこなっている。

EN3変異株(*abi3-3*変異株)とPG1変異株は共に、種子が耐乾燥性を獲得できない、種子貯蔵蛋白質の蓄積が減少しているなど似た表現型を示すが、植物ホルモンであるアブシジン酸(ABA)に対する種子の応答性が異なり、EN3変異株はABA非感受性変異株であるのに対してPG1変異株はABA感受性である。これらの二重変異株の表現型は付加的であり未熟長角果中で極端な穂発芽を示す。この結果から各々の原因変異が生じた遺伝子は野生株では独立に種子特異的な現象を支配していることが示唆された。そこで、シロイヌナズナの主要な種子貯蔵蛋白質である12Sグロブリンをコードしている遺伝子(CRA, CRB, CRC)を用いてEN3変異株とPG1変異株についてノザン解析をおこなった。EN3変異株ではCRA遺伝子とCRC遺伝子由来のmRNAの蓄積は種子登熟過程を通して著しく減少していたのに対して、CRB遺伝子については野生株と同程度にmRNAの蓄積していた。一方、PG1変異株ではCRB遺伝子由来のmRNAの蓄積が著しく減少していたのに対して、CRA遺伝子とCRC遺伝子についてはmRNAの蓄積があまり減少していなかった。この結果は、EN3変異株とPG1変異株で変異が生じた遺伝子は各々独立に種子登熟過程を調節しているという二重変異株の表現型から得られた知見と矛盾しない。

## 3aF03

メロン果実の成熟初期過程のエチレン生成について

山本光章、石木康史、平林哲夫[1]、中川弘毅、佐藤隆英
(千葉大園芸、[1]園芸生産研)

目的　メロン果実は成熟に伴いエチレン生成が著しく増加するクリマクテリック型の成熟をする果実である。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成熟に伴いその量が増加する。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、果実において発現量が多く検出が容易なACCオキシダーゼのcDNAと抗体を用いて果実の成熟に伴うそれらの変化、また成熟初期の果実内におけるエチレン生成の変化を検討した。
結果　果肉部分種子、胎座、果肉部分からRNAと粗抽出液を調製しRNAブロット及びイムノブロット解析した結果メロン果実の成熟初期に胎座でACCオキシダーゼmRNA及びタンパク質量が増加した。またACC合成酵素のmRNAも成熟初期に胎座で検出できメロン果実のエチレン生成は果実の内部、胎座部分からはじまることを示唆している。

## 3aF04

cDNA Cloning for Auxin-inducible ACC Synthase from Mungbean Seedlings

I.S. Yoon, H. Mori, B.G. Kang* and H. Imaseki
Sch. Agr. Sci., Nagoya Univ. and *Dept. Biol. Sci., Yonsei Univ.

Ehylene production in higher plant is regulated by the differential induction of isozymes of ACC synthase, a late-limiting enzyme for ethylene biosynthesis, by different signals. Due to the specificity of isozyme induction, the auxin-stimulated ethylene production system can also be a good model system to investigate the action mechanism of auxin at the molecular level. Towards this end, we have isolated four different cDNA clones for ACC synthase (pMB-1,2,3,4) from auxin-treated hypocotyls of etiolated mungbean (Vigna radiata) seedlings.

One of the cDNA clones, pMB-1, which contains an open reading frame of 1434 nucleotides was characterized. The deduced amino acid sequence show high similarity (80.6 %) to that of auxin-induced ACC synthase gene from cucumber and tomato, but, was significantly different from that of other types, i.e., wound- or senescence-induced enzymes (with similarity of around 50 %). The result indicates that there might be a gene family specific to auxin-inducible ACC synthase. Basal expression level of MB-1 was very low, but greatly enhanced by auxin with a regular dose-response curve. Kinetic study indicated that the transcript was detected within 30 min after auxin treatment. The auxin-induced expression of MB-1 was suppressed by ethylene and ABA, respectively.

There is a report (PMB 1992 32:1153) on a cDNA for auxin-inducible ACC synthase from the same tissue, but its sequence is identical to that of MB-3, expression of which was not auxin specific. We concluded based on the sequence data and northern blot analysis that MB-1 represenets a gene for auxin-inducible ACC synthase in mungbean seedlings.

## 3aF05

短半減期の反応機構依存性不活性化反応を受けるACC合成酵素のトマト緑色組織における存在

佐藤　茂（東北大・農・生物生産）

エチレン合成経路の鍵酵素であるACC合成酵素は，反応中に基質のAdo Metによって不可逆的に不活性化される（反応機構依存性不活性化反応，MBI）．MBIは組織中でのACC合成酵素の分解反応の初発反応として働いている．傷害誘導を受けた成熟トマト果実のACC合成酵素の半減期は，*in vitro*，*in vivo* ともに１-２時間である．

一方，トマトの緑葉切片や緑熟果肉組織でのACC合成酵素の活性減少の半減期については約３０分の値が得られおり，上記の値では説明できないことから，これらの組織での酵素の活性減少にMBIが関与しているかどうか疑問が持たれていた．

そこで，この疑問に答えるために，トマトの緑色組織から得た酵素のMBIの半減期を検討した．この結果，健全緑葉，IAA処理緑葉および緑熟果肉から得た酵素の半減期がいずれも３０分以内であることが明らかになり，これらの緑色組織でもMBIが機能していることが示唆された．また，傷害誘導した緑葉やIAA処理緑葉から得られた酵素試料は，半減期の短い酵素と長い酵素の混合物であることが明らかになった．

## 3aF06

キュウリのサイトカイニン抑制遺伝子*CR9* と*CR20* の発現: いくつかの特徴とその比較

寺本陽彦、遠山知子、竹葉剛[1]、辻英夫（京都大・理・植物、[1]京都府大・生活科学・応用生物）

サイトカイニンによって抑制される２つの遺伝子*CR9* と*CR20* は、光と傷害にも迅速に応答することが、ノザンブロットおよびドットブロット解析により明らかとなった。切り取ったキュウリ黄化子葉を暗所中でベンジルアデニン処理すると、これらのmRNAは、２時間から４時間にかけて大きく減少する。また、キュウリ黄化子葉を白色光下に移した場合、または、暗所インキュベーション中に子葉をさらに切断すると、*CR9* mRNAは、これらの処理後に一時的に減少した。このことから、*CR9* は、光条件や傷害などのストレスに対する適応開始の引き金を引いているのではないかと思われる。明暗周期で育てた植物体の頂芽、本葉、子葉、胚軸、根における*CR9* mRNAのレベルは、黄化子葉に比べて非常に少なかった。*CR9* の推定アミノ酸配列は、イネの光誘導遺伝子*lir1* (Reimmann and Dudler 1993, Plant Mol. Biol. 22: 165-170) のものと高いホモロジーを示した。両者には、それぞれ、アミノ酸18残基 (*CR9*)、15残基 (*lir1*) のよく似た配列が２箇所にみられ、この付近のホモロジーが特に高い。*CR20* についても、光や傷害に対する応答、各器官における発現について調べたが、*CR9* とはいくつかの点で異なっていた。

## 3aF07

サイトカイニン処理2時間で抑制される遺伝子のクローニング

遠山知子、寺本陽彦、竹葉剛[1]、辻英夫（京都大・理・植物、[1]京都府大・生活科学・応用生物）

我々はサイトカイニンの作用機構を明らかにする研究の一環として、サイトカイニン処理後短時間内に抑制される遺伝子に着目した。キュウリ黄化子葉においてサイトカイニンの一種であるベンジルアデニン(BA)により抑制される2つの遺伝子のcDNA（*CR9*と*CR20*）を単離し、その解析を進めてきたが、今回はそれらとは異った遺伝子のcDNAを単離したので報告する。

*CR9*と*CR20*はBA処理4時間とその未処理区との間でのディファレンシャルスクリーニングにより得られたものである。しかし、より短時間で減少するmRNAがあることが*in vitro* translation 実験（Teramoto et al. 1993, Physiol. Plant. 87:584-591）により示されている。そこで、BA処理2時間と未処理区との間でディファレンシャルスクリーニングを行なった。未処理区の子葉から作製したλファージのcDNAライブラリーを用いて、プラークハイブリダイゼーションによって10万プラークをスクリーニングした。その結果、BA処理2時間で減少するmRNAのcDNAクローンが86個得られた。この中には*CR9*が6個、*CR20*が1個含まれていた。また残りのいくつかのクローンについて、BA処理後のmRNA量の時間的変化をノザンブロットにより調べた。

## 3aF08

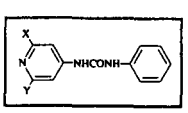
サイトカイニンレセプターとみられる高親和性サイトカイニン特異的結合蛋白

永田龍二，橋本祐一[1]，首藤紘一（東大・薬，[1]東大・分生研）

サイトカイニンの作用機構の中心的役割を担うサイトカイニンレセプターは，①全てのサイトカイニンとその活性発現濃度に見合った結合定数で結合し，②細胞内に必要十分量＝極微量存在する，という規範を満たすべきである。

演者らは4PU30や4PU1080など非常に強力なサイトカイニン活性を持ったピリジル尿素誘導体を開発してきた（下図）。今回，4PU30の放射標識体をプローブとして黄化ヤエナリ芽生え全細胞抽出液中のサイトカイニン特異的結合蛋白（CSBP）を陰イオン交換，疎水的相互作用，およびサイズ排除HPLCで分析したところ，いずれの場合もCSBPは単一のピークとして検出された。CSBPは各種サイトカイニンと特異的かつ競合的に結合し，総じて各種サイトカイニンのCSBPへの親和性と生理活性との間には良い相関が見られた。またCSBPに対する4PU30の結合定数は$4\times10^{10}$ $M^{-1}$，1細胞あたりのCSBPの含量は3,000分子と求められた。CSBPの見かけの分子量はサイズ排除HPLCから21kDaと見積もられた。

以上，CSBPはレセプターの規範を満たしており，サイトカイニンレセプターの有力な候補であると言えよう。




| X | Y | | Optimum Concentration* |
|---|---|---|---|
| H | Cl | : 4PU30 | $4\times10^{-9}$ M |
| Cl | Cl | : 4PU1080 | $10^{-13}$ -$10^{-9}$ M |
| | | Benzyladenine | $7\times10^{-8}$ M |

*: in the Tobacco Callus Growth Test.

## 3aF09

タバコのサイトカイニン結合蛋白質の構造と局在

三井 真一、若杉 達也、杉浦 昌弘（名大・遺伝子）

サイトカイニンは葉に作用してクロロフィル合成および葉緑体の発達の促進などの作用を示すが、レセプターの同定はされていない。レセプターの候補として我々が単離したタバコのサイトカイニン結合蛋白質複合体CBP130は、57 kDaと37 kDaのサブユニットから構成される。57 kDaサブユニット(CBP57)の構造を明らかにするために、CBP57をコードするcDNAをクローン化してその塩基配列を決定した。予想されるCBP57のアミノ酸配列は、様々な生物のS-アデノシル-L-ホモシステイン(SAH)ハイドロラーゼと高い相同性を示した。さらに、精製したCBP130画分中に本酵素活性を検出した。また、抗CBP57抗体を用いた組織染色によりCBP57の局在性を解析したところ、根端及び茎頂付近に強い発現が認められた。

SAHハイドロラーゼはメチル基転移酵素を阻害するSAHを可逆的に分解する酵素であることから、CBP130によってメチル基転移反応が調節され結果として葉緑体におけるクロロフィル合成が調節されている可能性が示唆された。

## 3aF10

トウモロコシ (*Zea mays* L.) 幼葉鞘先端における L-トリプトファンからのインドール -3- 酢酸の生合成

小柴共一，神谷勇治[1]，飯野盛利[2]（都立大・理・生物、[1]理研・フロンティア・ホルモン機能、[2]大阪市大・理・植物園）

現在，トウモロコシなど穀類の幼葉鞘のインドール -3- 酢酸 (IAA) は，先端部において合成されているのか，また IAA は L-トリプトファン (Trp) を前駆体として合成されているのか，という二つの大きな問題に関してきわめて混乱した状況にある。演者らは，トウモロコシ幼葉鞘の先端部において IAA が L-Trp から合成されること，また，この生合成は赤色光照射により阻害されることを明らかにしたので報告する。発芽 4 日目のトウモロコシ芽生えの幼葉鞘より先端 (2.5 mm) を切り取り，$^{14}$C-L-Trp (37 kBq/ml) と共に暗所で2時間培養したのちラベルの内生 Trp および IAA への取り込みを GC-MS で分析した。その結果，先端切片から抽出される Trp と IAA，および切片から培養液中に拡散してくる IAA への$^{14}$C の取り込み率は，それぞれおよそ30, 12, 8 % となった。一方，$^{14}$C-Trp との培養の 2 時間前に芽生えを赤色光(0.8 w/m$^2$, 5分間) で照射すると，IAA への $^{14}$C の取り込み率に変化は見られないが，内生 IAA 量は切片より抽出されるもの，切片から拡散するもの両者とも 40～60 % に減少した。また，先端 5 mm より下の切片 (2.5 mm) には，Trp を IAA に変換する活性は検出できなかった。これらの結果は，Trp からの IAA 合成系がトウモロコシ幼葉鞘先端部における IAA生成の主要な経路であることを示している。

## 3aF11

### 矮性と正常オオムギのインドール酢酸の合成・分解系酵素の活性比較

鶴崎健一、村田靖雄、桜井直樹（広島大・総科・自然）

矮性オオムギ突然変異体（Uzu）でのインドール酢酸（IAA）量の少ない原因を検討するために、IAAの分解と合成に関与すると考えられる酵素の比活性を正常系統と比較した。播種後3日目の幼葉鞘を磨砕し、1000gで遠心した後の上清を粗酵素標品とした。IAAを分解する活性はUzuよりも正常系統で高かった。したがって、UzuでIAAが少ないのは分解速度が原因ではないことがわかった。つぎに、IAA合成の直前の前駆物質と考えられるインドールアセトアミド（IAM）、インドールアセトニトリル（IAN）を基質とし、これらをIAAに変換する活性の比較を行った。IAMをIAAに変換する活性は極めて低く、Uzuと正常系統の間で差はなかった。IANをIAAに変換する活性はIAMをIAAに変換する活性に比べかなり高いが、Uzuと正常系統の間で差は認められなかった。したがって、IAMあるいはIANをIAAに変換する活性は、Uzuで異常がないことが示された。さらに、IAMとIANの内生量にUzuと正常系統の間で差がなかったので、IANとIAMの代謝がオオムギでのIAA生合成の主要経路に関与していない可能性が示された。UzuのIAAの少ない原因としては、IAN、IAMの代謝に関係しない、インドールアセトアルデヒドを経由する経路などに異常がある可能性が高い。

## 3aF12

### イネカルスよりインドールアセトアミドヒドロラーゼの精製とその性質について

荒井　嘉貴、生田安喜良[1]、川口正代司[2]、庄野邦彦[2]　（東理大・基礎工・生物工、[1]東理大・生命研、[2]東大・教養・基礎科学）

トリプトファンからインドールアセトアミド（IAM）を経てIAAに至るバクテリア型オーキシン生合成経路（IAM経路）が一部の高等植物に存在することが提唱されている。又、イネにおいては野性種、栽培種を問わずIAMをIAAに変換するIAMヒドロラーゼ活性の存在がトレース実験等により確認されている。今回この酵素の性質を解明するために栽培種のイネカルス（*Oryza sativa* C5924 日本晴）より酵素の精製を行った。酵素の精製は定法より、硫安沈殿後、各種クロマトグラフィーにより、精製後46倍の活性画分を得、活性本体の蛋白質の分子量は52.5kDaを示した。本酵素の37℃における至適pHは、6.0－6.6で、至適温度は52℃を示し、65℃で完全に失活した。基質特異性を調べたところ、本酵素はインドールアセトニトリルを加水分解できなかったのに対し、IAAのエチルエステル体を加水分解できることが判明した。Km値は、IAMに対しては、960μMであり、一方IAAのエチルエステルでは、550μMであった。このことは、植物の実生に多くのエステル型IAAが含まれていることを考えあわせると、内生のエステル型AAを加水分解し、IAAの生産に寄与する可能性を示唆している。さらにNAAを結合したカラムによるアフィニティークロマトグラフィーを試みたところ、活性の検出された分画にSDS-PAGEで52kDaを示すバンドが検出された。現在この蛋白質のアミノ酸の部分配列の決定を行っている。

## 3aF13

### *Nicotiana tabacum* 培養細胞における核内プロテインキナーゼ活性のオーキシンによる制御

北川峰丈、酒井慎吾（筑波大・生物）

植物培養細胞の分裂・増殖は、一般に植物ホルモンであるオーキシンによって制御されている，また，細胞分裂には，その主たる場である核に存在する特定タンパク質の秩序立ったリン酸化・脱リン酸化反応が重要であることが知られており、これらの反応に対する特定のプロテインキナーゼ(PK)、プロテインホスファターゼの関与が想定される。本研究では、*Nicotiana tabacum* L. cv. Bright Yellow (BY-2) 培養細胞を用い、オーキシン（2,4-D）の細胞分裂・増殖に対する影響と核内 PK 活性の相関について検討した。

2,4-D の分裂への効果を調べるために、2,4-D を含む（+2,4-D）培地に継代後4日目の細胞を用いることにした。この細胞を、2,4-D を含まない（−2,4-D）培地に植え継いだところ、24 hr で分裂係数（MI）は最小値に達し、その後、2,4-D を再添加すると12-24 hr でもとの MI 値に回復した。この MI 値の回復は、2,4-D の濃度に依存すると共に他の活性型オーキシンの添加によっては観察されるが、非活性型オーキシンでは観察されなかった。

同様の実験において、経時的に核を単離し、核タンパク質を抽出し、カゼインを基質として PK活性を測定した。−2,4-D 培地に継代後、24 hr で活性は最小値に達し、2,4-D 再添加後 12 hr でもとの活性に戻った。MI と同様に、この活性の回復は 2,4-D 濃度に依存していた。カゼインを基質としたゲル内リン酸化の実験において、40 kd と 32 kd の PK の活性が同様の変動を示した。また、これらの活性がヘパリンで阻害されたこと、$Mg^{2+}$要求性かつ$Ca^{2+}$非要求性であったことから、この活性の変動にはカゼインキナーゼII（CKII）の関与が考えられた。

以上の結果から、オーキシンは CKII 活性をコントロールすることで細胞分裂・増殖を制御している可能性が示唆される。

## 3aG01

### スギの針葉および雄花におけるリポキシゲナーゼ活性の季節変化

小塩海平，高橋久光，太田保夫（東京農大・農・国際農業開発）

現在，わが国には，スギ花粉症に悩む人が１２００万人いるといわれており，その対策が強く望まれている。演者らは，脂肪酸の葉面散布がスギ雄花の褐変に及ぼす影響について研究を行い，リポキシゲナーゼの作用によって生成するトランス－２－ヘキセナールがスギ雄花を選択的に褐変させることを明らかにした。ここでは，スギの針葉および雄花におけるリポキシゲナーゼ活性の季節的変化を測定し，脂肪酸の処理時期の違いがスギ雄花の褐変に及ぼす影響について検討した。

リポキシゲナーゼ活性は，夏から冬にかけて針葉，雄花とも徐々に減少し，その程度は雄花のほうが針葉に比べ大きかった。脂肪酸の葉面処理効果が夏に高いことは，スギの針葉および雄花のリポキシゲナーゼ活性が夏高いことと呼応していた。一方，針葉におけるリポキシゲナーゼ活性は雄花に比べ数倍高く，針葉は雄花に比べトランス－２－ヘキセナールに対する抵抗性が大きいものと推測される。

## 3aG02

キュウリ実生リポキシゲナーゼ発現制御機構の解析

松井健二、津留英治、梶原忠彦、畑中顯和、長谷俊治[1]
（山口大・農・応生化、[1]大阪大・蛋白研）

リポキシゲナーゼ（LOX）は、ジャスモン酸生合成の鍵酵素であり、また、一部の植物組織では栄養組織の貯蔵蛋白質としても知られている。キュウリ子葉においてLOXは発芽３日目から急速に蓄積し、６日目に最大活性を示した後、再び急速に分解される。一方、根では活性の出現する時期は同じだが、６日目以降も減少することなく、一定レベルの活性が検出され、子葉LOXとは明らかに異なった発現パターンを示す。また、両者は酵素学的、免疫学的に区別できるアイソフォームである。本研究ではこれら２種のLOX遺伝子を単離し、様々な成育条件下でのLOX遺伝子発現様式の解析を目的とした。

発芽４日目のキュウリ子葉、根からmRNAを単離し、常法に従って各器官特異的cDNAライブラリーを作成し、キュウリ子葉LOX抗体をプローブとして、子葉、根LOX cDNAを単離した。キュウリを明所で成育させた場合、子葉LOX mRNAは発芽６日目前後に一過的に蓄積したが、根LOX mRNA量は発芽３日目以降から蓄積し、その後ほぼ一定のレベルであり、両者は明らかに異なる制御を受けていた。一方、子葉LOXの発現は発芽種子をLeupeptin処理する事によって著しく抑えられた。更に、LOX活性の低くなった発芽１０日目の子葉に窒素源を大量に投与すると再びLOXが発現してきた。これらのことは子葉LOX遺伝子の発現が主に窒素によって制御されていることを示唆する。

## 3aG03

病害抵抗性発現時にジャスモン酸合成が光によって制御されている可能性について

白野由美子、柴田大輔（三井植物バイオ研究所）

私達はイネの病害抵抗性反応時に発現するリポキシゲナーゼ遺伝子をクローニングした。その遺伝子産物のN末端に葉緑体移行シグナル配列があることから、この遺伝子産物は葉緑体に存在すると推定した(Peng *et al. J. Biol. Chem.* (1994) in press)。さらにこの遺伝子を大腸菌内で発現させ、その活性の性質を詳細に調べた。その結果、至適pHは５から６の間で、pH７以上では活性が認められなかった。このことからこのリポキシゲナーゼは、光合成によってpHが酸性に傾く葉緑体内腔に存在することが推定される。つまり光によってリポキシゲナーゼ経路のスイッチが入ると考えられる。また、リノレン酸に対する活性はリノール酸を基質とした場合の約３倍であり、C13位特異的に酸素を導入した。葉緑体の中の糖脂質ではリノレン酸が主な構成成分であることから、この反応によってジャスモン酸の前駆体である13-hydroperoxylinolenic acidが主に生成されると考えられる。また、最近、ジャスモン酸生合成に関与するallene oxide synthaseのcDNAがクローニングされ、その遺伝子産物が葉緑体に存在することが示唆されている(Song *et al.* PNAS 90, 8519-8523, 1993)。以上の結果は、光に依存したリノレン酸のC13特異的過酸化を引き金として、ジャスモン酸が生成する可能性を示唆している。

## 3aG04

L-ガラクトノ-γ-ラクトンデヒドロゲナーゼの精製と性質

大羽和子、中野淳子（名古屋女大、家政）

植物に於けるビタミンC（VC）の生合成機構は十分に解明されていない。VC生合成の最終段階に関与する酵素、L-ガラクトノ-γ-ラクトンデヒドロゲナーゼ（EC1.3.2.3、GLDHase）が植物に於けるVC生合成の調節に関与しているという報告が幾つかあるが、本酵素の性質については明らかにされていない。本研究では甘藷塊根よりGLDHaseを精製し性質を決定した。

甘藷1.5kgを同量の0.4M庶糖、0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）と共に磨砕し、12.000xg 沈殿（Mt）画分を得、これから、酵素の精製を行なった。GLDHase活性はL-ガラクトノ-γ-ラクトン（L-Gal）を基質とし、シトクローム（Cyt）C共存下で550 nmの吸光度の増加から1 分間に2 μmolのCytCを還元する酵素量を1 unitとした。

甘藷のMt画分の酵素活性は1g 当たり12.7 unitであった。Mt画分を超音波処理（クボタ、201M型、130w、30sec）すると、50-60%の活性が可溶化された。Sephacryl S-200 によるゲル濾過では、Mt 画分の活性の24%が回収され、48倍に精製された。DE-52セルロースカラムクロマトグラフィでは、10%の回収率は、102 倍に精製された。クロマトフォーカシングではpH 5.8で酵素活性が溶出され、回収率は0.9%で、292 倍に精製された。この精製酵素はSDS-ゲル電気泳動で分子量56.000 の一本の蛋白質バンドになった。Sephadex G-100のゲル濾過でも、本酵素の分子量は56.000であった。精製酵素の至適pHは7.9で、L-Galに対するKm 値は0.12mMであり、L-Galに基質特異性を示した。

## 3aG05

イネ篩管液に存在するチオレドキシンの解析

石渡　裕、中村進一、林　浩昭、森　敏、茅野充男（東大.農.農化）

植物における篩管は物質の転流に関わる重要な組織である。この篩管液中には高濃度のシュクロース、アミノ酸などが流れているが、これら低分子化合物以外にも核酸やタンパク質などの高分子化合物も流れてることが明らかになっている。これまで、イネ篩管内には情報伝達に関与すると考えられるプロテインキナーゼの存在、篩管内の酸化還元を調節すると考えられるチオレドキシンの存在を報告してきた。

本報告では、cDNAの塩基配列よりチオレドキシンであると示唆されているイネ篩管タンパク質の性質を調べることを目的とした。まず、抗コムギチオレドキシン抗体を用いたウエスタンブロッティングにより、篩管液は、他の組織に比べて多くのチオレドキシンを含むことを明らかになった。また、インシュリンを基質としてチオレドキシン活性を測定したところ、篩管液タンパク質は、チオレドキシンを含むことが明らかになった。さらに、大腸菌に過剰発現させたイネ篩管チオレドキシンも同様に抗体と反応し、また酵素活性も検出された。

成熟した篩管内ではタンパク質の合成は行われておらず、篩管液中に検出されるタンパク質は、伴細胞より原形質連絡を通じて篩管内に積み込まれると考えられる。

## 3aG06

ニンジン培養細胞からのDAHP synthase-Coの精製

鈴木菜穂、作田正明、清水碩（お茶の水大・理・生物）

高等植物において、シキミ酸経路で生成される３つの芳香族アミノ酸は、タンパク質合成の基質としてだけでなく、二次代謝の基質としても重要である。シキミ酸経路の初発段階を触媒する DAHP (3-deoxy-D-*arabino*-heptulosonate 7-phosphate) synthaseには、DS-Mn, DS-Coと呼ばれる２つのアイソザイムが存在し、DS-Mnは色素体に、DS-Coは細胞質中に局在していると考えられている。このうち、DS-Mnについては、免疫学的、分子生物学的手法を用いて解析が進んでいる。しかしながら、 DS-Coについては、未だその単離・精製は行われておらず、その実体は明らかではない。このことは、DAHP synthaseの生理機能の解明に障害となっている大きな要因である。そこで、ニンジン懸濁培養細胞を用いて、DS-Coの精製を試みた。このニンジン培養細胞の培養期間を通してDAHP synthaseの活性を測定したところ、両アイソザイムの活性の変動パターンに違いが見られた。
DS-Mn活性は、対数増殖期に高く、定常期にかけて減少した。一方、DS-Co活性は対数増殖期には低く、その後上昇し、定常期には最大となった。そこで、精製にはDS-Co活性とDS-Mn活性の差が最も大きくなる継代後7-8日目の細胞を用いた。細胞破砕後遠心分離により得た上清を、硫安分画、DEAE-sephacel、ハイドロキシアパタイト、Mono Q、Superoseカラムを用いて分離し、SDS-PAGE上で単一の酵素標品を得た。この酵素は、SDS-PAGE上では約62-kDのバンドとして検出された。

## 3aG07

イネ穎果におけるグルタミン酸合成酵素群の組織内分布

早川俊彦，中村貞二[1]，山谷知行，（東北大・農・細胞生化学，[1] 東北大・農・作物学）

イネの穂や若い葉身は、下位の老化組織から篩管を介して転流する窒素及び地下部から導管を介して流入する窒素で構成される。 演者等は、これ等の生長中の組織におけ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**)が担うことを示唆する報告を行ってきた[1)2)]。 イネ葉身維管束組織における**GOGAT** の分布を示した昨年度の本大会[3)]に引き続き、今大会ではイネ穎果における**GOGAT** の組織内局在性について免疫組織化学的に解析した結果を報告する。
イネ（ササニシキ）をガラス室で水耕栽培し、開花後の一次枝梗の穎果を材料とした。 抗体は精製抗原に対してアフィニティー精製したものを用いた。 Control には大過剰の精製抗原にて免疫沈降させた抗体液の上清を用いた。 開花後10日目の穎果を籾殻と内部の未熟玄米に分けて、各組織のイムノブロット分析を行った結果、穎果全体の**NADH-GOGAT**蛋白質の約84%が、未熟玄米中に存在することが明らかとなった。 更に、未熟玄米のパラフィン包埋切片を抗体染色して光顕観察した結果、**NADH-GOGAT**抗原は維管束組織の篩部と木部の柔細胞、珠心突起細胞、種皮の珠心表皮細胞及び糊粉層細胞群に主に存在することが判明した。 これ等の細胞群は、形態学上推定される玄米の物質流通経路の細胞群と完全に一致しており、転流窒素の再利用において重要な役割を担う可能性が更に強められた。 一方、**ferredoxin**依存性**GOGAT** (**Fd-GOGAT**)は果皮の葉緑体を含む横細胞群に存在し、**NADH-GOGAT** とは組織内分布が異なっていた。

1)**Yamaya et al.** (1992) Plant Physiol. **100**:1427
2)**Hayakawa et al.** (1993) Plant Physiol. **101**:1257
3)**Hayakawa et al.** (1994) Planta in press.

## 3aG08

トウモロコシ葉PEPカルボキシラーゼをリン酸化するプロテインキナーゼの部分精製とその分子的性質

藪田尚弘、小川紀之、泉井桂（京都大・農・農生）

トウモロコシの$C_4$回路におけるPEPカルボキシラーゼ（PEPC）は光照射によりリン酸化を受け、フィードバック阻害剤であるリンゴ酸感受性が低下することが知られている。この活性調節に関与するプロテインキナーゼ（PEPC-PK）はこれまでに葉の細胞質画分から部分精製されているが、その活性調節因子として$Ca^{2+}$が関与するか否かで議論が分かれている。我々はBlue Sepharoseアフィニティークロマトグラフィーによる部分精製を行い、PEPC-PKは$Ca^{2+}$依存性であること、さらにSDS-PAGEによる分離後、ゲル中で再生・自己リン酸化を行うと50～60kDaに$Ca^{2+}$依存性のPK活性をもつバンドが現れることを示した[1)]。今回、基質であるPEPCの精製法の改良を行い、また各クロマトグラフィー（ゲル濾過・イオン交換・疎水性）におけるPEPC-PKの挙動を調べた。その結果、ゲル濾過による分離において分子量10万～20万に$Ca^{2+}$依存性のPK活性を検出したが、分子量3万には$Ca^{2+}$非依存性の活性も検出された。イオン交換クロマトグラフィーにおいても両PK活性がみられた。また等電点電気泳動を行ったところ$Ca^{2+}$依存性のPK活性がpI値4.8～5.8にみられた。現在、これらの分離法を組み合わせることによりPEPC-PKを単離精製し、両者の関係を明らかにすることを試みている。

1) Ogawa, N. & Izui, K. (1992) Research in Photosynthesis(ed. Murata, N.) Vol.3, pp.831-834 Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

## 3aG09

トマト果実におけるフェレドキシン-アイソプロテインの蓄積の制御

青木　考，和田敬四郎 （金沢大・理・生物）

トマト（*Lycopersicon esculentum* cvMomotaro）は、根や葉だけでなく果実でもフェレドキシン（Fd）を蓄積する。トマト果実からFdの精製を行い、その蓄積量に影響を与える要因について検討した。

赤くなったトマト果実から５種類のFd(Fd0,Fd1,Fd1*,Fd2,Fd3)を精製した。Fd1,Fd3は葉に存在するFdと同一物で、トマト果実の成長に伴いFd0,Fd2（果実特異的）が増加し、Fd1,Fd3が減少した。しかし果実の色の変化との相関はみられなかった。着果直後から果実に袋をかぶせ、暗所で育てたところ、果実は正常に赤くなったが、Fd1,Fd2,Fd3に著しい減少がみられた。また樹上で赤くなったトマトと、摘果後赤くなったトマトを比べたところ、後者はFd3に対するFd2の割合が増加する傾向にあった。さらにエチレン・ノルフルラゾンの処理も行ったが、Fdの組成に変化はなかった。これらの結果よりトマトのFdは器官・光・転流物質による制御を受けていることがわかった。

## 3aG10

キュウリアスコルビン酸ペルオキシダーゼのcDNAクローニング

尼子克己　佐野智　三宅親弘　曹婉紅　浅田浩二　（京都大・食研）

アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)は植物での$H_2O_2$の消去に機能しているが、これまでに解析されてきた植物由来のグアヤコールペルオキシダーゼと分子的性質が大きく異なる。しかし、APXの詳細な構造や反応機構については、生葉からの大量精製が困難であるため不明な点が多い。ここでは、チャ葉ストロマ型APX(sAPX)に対する抗体を用いてcDNAクローニングを行った結果を報告する。

スクリーニング時のバックグラウンド低減のために、チャ葉sAPXを担体に吸着させたカラムにより抗血清をさらに精製した。これを用いて発現ベクターλgt22Aを使ったキュウリ子葉cDNAライブラリーをスクリーニングし、得られたクローンの塩基配列を決定したところ、750bpのORFを見いだした。

このORFにはチャ葉sAPX およびホウレンソウチラコイド膜結合型APX(tAPX)のN末端アミノ酸配列と相同性のある領域は見いだされなかった。またこのORFの一次配列はエンドウおよびシロイヌナズナ細胞質型APX(cAPX)と80%以上の相同性を示し、ホウレンソウおよびチャ葉cAPXのN末端アミノ酸配列において高い相同性を示したことから、得られたORFはcAPXであると予想された。また、他のペルオキシダーゼとの相同性を調べたところ、グアヤコールペルオキシダーゼよりも酵母チトクロム*c*ペルオキシダーゼ(CPX)との相同性が高く、CPXにおいて反応機構に直接関与すると考えられているTrp残基、Arg残基、Asp残基はいずれも APX上に保存されていた。

このcDNAを*Not*I分解、末端平滑化後*Nco*I部分分解で断片化し、発現ベクターpET-8cに挿入し、大腸菌BL21(DE3)に形質転換させた。現在形質転換体において活性なcAPXを発現させるための生育条件を検討中である。

## 3aG11

大腸菌で発現させたキュウリモノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼの性質

佐野智、浅田浩二[1] (RITE、[1]京都大・食研)

アスコルビン酸 (AsA)は細胞内で各種ラジカルの"シンク"として働くが、その際1電子酸化されてモノデヒドロアスコルビン酸 (MDA) ラジカルとなる。特に葉緑体内では光化学反応に伴い生成する$H_2O_2$をAsAペルオキシダーゼが消去するためMDAラジカルが多量に生じる。MDAラジカルは、FADを含みNAD(P)Hを電子供与体とするMDAレダクターゼによってAsAに再生される。この酵素は植物体から精製すると非常に収率が低い。そこでキュウリ芽生えcDNAライブラリーから単離したMDAレダクターゼcDNAを用い、*E. coli*で発現させ、精製し、その性質を調べた。

ここで使用したcDNAから予想されるアミノ酸配列は、以前に精製されたキュウリ果実MDAレダクターゼのアミノ酸配列と異なる部分があった。しかし組換え体酵素はキュウリ果実から精製した酵素と同様、キノン類やCyt *c*などを電子受容体とせず、そのNADH、MDAラジカルによる吸収スペクトル変化からフラビンが反応に関与している。

組換え体酵素の*Km*値は、NADHに対しては植物からの精製酵素と同程度 (4.4 μM) であったが、NADPHに対しては約9倍 (210 μM) であった。MDAラジカルに対しては、植物からの酵素の*Km*値の約2倍である3 μMでも、組み換え体酵素の反応速度は飽和しなかった。

また、メナジオンレダクターゼに対する阻害剤であるジクマロールは、植物体からの酵素の活性は阻害しないが、0.1 mMで組換え体酵素の活性を約60%にまで阻害した。

## 3aG12

エンドウaspartate kinaseのcDNAクローニング

清田誠一郎、坂野勝啓（農水省・生物研）

植物のaspartate kinese(AK)には、スレオニン阻害型(Thr-AK)とリジン阻害型 (Lys-AK)の2種類のアイソザイムが存在する。エンドウ幼植物葉の両アイソザイムの活性を日を追って測定したところ両者で発現パターンが異なることがわかった。2つのアイソザイムの発現調節機構を解明するための一環として、今回は、AKのcDNAクローニングを行った。

ニンジンAKのcDNA[1]を元に設計したプライマーを用いて、緑化過程のエンドウ葉から作成したcDNAを鋳型にPCRを行った。期待される1.4kbのPCR産物が得られ、塩基配列の分析の結果、AKであることが確認された。

現在、このPCR産物をプローブとしてcDNAライブラリーのスクリーニングを行っている。

[1]Weisemann J. M. and B. F. Matthews,(1993) Plant Mol. Biol. 22:301-312

## 3aG13

*Rhodobacter capsulatus* 7鉄フェレドキシンの3鉄クラスター保持に関与するCys間配置の変換とその効果

末次由実、佐伯和彦、松原　央（阪大・理・生物）

フェレドキシンは種々の代謝系の電子伝達を担う鉄硫黄蛋白質である。[4Fe-4S][3Fe-4S]型(7鉄)フェレドキシンについては特異な3鉄クラスターに着目した物性解析が多くなされているが生理機能には未知の点が多い。私達は光合成細菌*Rhodobacter capsulatus*フェレドキシンII (FdxA)の構造改変を通じて7鉄フェレドキシンの構造－機能相関の解析を進めており、今回クラスターを保持するシステイン(Cys)に特有の配列の構造変換を行なった結果を報告する。 2[4Fe-4S]型(8鉄)フェレドキシンでは一般に$Cys\text{-}Xaa_2\text{-}Cys\text{-}Xaa_2\text{-}Cys\text{-}Xaa_3\text{-}Cys$配列が2回繰り返されるのに比べ、*R. capsulatus* FdxAを含む*Azotobacter*型7鉄フェレドキシンではいずれも片方が$Cys\text{-}Xaa_2\text{-}Cys\text{-}\mathbf{Xaa_4}\text{-}Cys\text{-}Xaa_3\text{-}Cys$である。この$\mathbf{Xaa_4}$部分と3鉄クラスター保持の関連を調べるため*R. capsulatus* FdxAの$\mathbf{Xaa_4}$に相当する配列(Lys-Tyr-Thr-Asp)をGly-Ala、Gly-Asp、Gly-Asnに改変するような3種類の変異遺伝子(GA-*fdxA*、GD-*fdxA*、GN-*fdxA*)を作成し、それらをプラスミドとして保持させた株のゲノム*fdxA*の破壊実験を行なった。FdxAが必須蛋白質であるためゲノム遺伝子が破壊できるのは改変*fdxA*産物が機能し得る場合のみである。GA-、GD-*fdxA*のみを持つ株が得られたのに対しGN-*fdxA*のみを持つ株は得られず、GN-FdxAが機能できないことが判明した。また抗FdxA抗体を用いた解析によると菌体中のGA-FdxAとGD-FdxAはいずれも不安定であった。

## 3aH01

コムギ葉緑体ｐｓｂＤ／Ｃ遺伝子クラスターの光応答プロモーターに作用する転写活性化因子

角山雄一、中平洋一、椎名隆、豊島喜則　（京都大学、人間・環境学研究科）

コムギ葉緑体ｐｓｂＤ／Ｃ遺伝子クラスターには４種類のプロモーターが存在する（Ｄ／Ｃ－１～Ｄ／Ｃ－４）。それらの内、Ｄ／Ｃ－３プロモーターのみが光に応答して転写が活性化されるが、暗所で育てたコムギ芽生えが光により緑化する初期過程において、このＤ／Ｃ－３プロモーターに作用する転写制御因子が生じる事を既に報告した。

本研究では、まずヘパリンセファロースカラムクロマトグラフィーを用いてこの転写制御因子（フラクションＡ）を葉緑体ＲＮＡポリメラーゼから分離した。

ついで制御因子のアッセイ系を確立する目的で、葉緑体自身のＲＮＡポリメラーゼのかわりに大腸菌のＲＮＡポリメラーゼを用いてｉｎ　ｖｉｔｒｏ転写実験を行った。大腸菌ＲＮＡポリメラーゼ単独の場合、Ｄ／Ｃ－２プロモーターからの転写は起こるが、Ｄ／Ｃ－３からの転写は認められなかった。しかしながら、大腸菌ＲＮＡポリメラーゼにフラクションＡを加えるとＤ／Ｃ－３プロモーターからの転写が生じた。

さらに、Ｄ／Ｃ－３プロモーターのシス配列を解析するためにゲルシフト実験を行った。その結果、フラクションＡ中にはこのプロモーターの特定の領域に特異的に結合する複数の蛋白質が存在する事が分かった。

## 3aH02

A DEVELOPMENTALLY-REGULATED *atpE*-SPECIFIC TRANSCRIPT ARISES FROM A PROMOTER WITHIN THE CODING REGION OF *atpB* GENE IN TOBACCO CHLOROPLASTS

Sanjay KAPOOR, Masahiro SUGIURA, Center for Gene Research, Nagoya University, Chikusa, Nagoya 464-01, Japan

The *atpB* and *atpE* genes encode β and ε subunits, respectively, of chloroplast ATP synthase. These genes are transcribed as part of bi-cistronic transcripts starting 5' to *atpB* gene in most of the plants species studied so far. In tobacco, however, *atpB* gene specific probe hybridizes to 2.7 and 2.3 kb transcripts. Besides these two, probe from *atpE* coding region hybridizes also to a smaller, 1.0 kb, transcript. This *atpE*-specific transcript accumulates in leaves and not in proplastid containing tobacco BY-2 cells. Its 5' end has been mapped 431 nt upstream of the *atpE* translation initiation site, within the coding region of *atpB* gene. This transcript shares a common 3' end with other two bi-cistronic transcripts (2.7 and 2.3 kb) of this operon, ~150 nt downstream of *atpE* termination codon. Moreover, *in vitro* capping and ribonuclease protection analysis revealed that this transcript results from a primary transcriptional event and is also characterized by -10 and -35 canonical sequences in the upstream flanking region.

## 3aH03

**A NOVEL RNA GENE IN THE TOBACCO PLASTID GENOME: ITS POSSIBLE ROLE IN THE MATURATION OF 16S rRNA**

Antonio VERA, Masahiro SUGIURA, Center for Gene Research, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya 464-01

A small plastid-encoded RNA (spRNA, 218 nt) has been detected in tobacco. The corresponding locus (*sprA*) does not contain any open reading frame and is actively transcribed from its own promoter, as shown by ribonuclease protection assays using *in vitro* capped RNAs. Gel-shift and UV-crosslinking experiments showed the formation of a specific complex between spRNA and chloroplast polypeptides. The mobility of the complex was further shifted when a transcript bearing part of the 16S rRNA leader sequence was added in the incubation mixture. Glycerol gradient fractionation of a chloroplast lysate indicated a preferential sedimentation of spRNA at 15-20S and 70S. These observations and the potential base pairing with the leader sequence of pre-16S rRNA, suggest a role of spRNA in chloroplast ribosome biogenesis, i.e. 16S rRNA maturation. By sequencing of tomato plastid DNA and heterologous northern hybridizations, the presence of *sprA* homologues and their expression in a number of dicot plants have also been shown.

## 3aH04

タバコ光化学系Ｉ核遺伝子群のグリーニング過程での発現

近藤由希子、山本義治、中邨真之、小保方潤一（北大・地球環境・生態遺伝）

高等植物の光化学系Ｉ（PSI）は少なくとも１３種類のサブユニットから成り、このうち核にコードされている８種類のサブユニットの大部分には重複遺伝子に由来するアイソマーが見い出される。このように、光化学系Ｉの形成には多様な遺伝子群が関与しているが、一方、それらの発現を支配する分子機構については今のところほとんどわかっていない。本研究ではタバコの母系祖先種である*Nicotiana sylvestris*を材料として、これらの系Ｉ遺伝子群が黄化芽生えのグリーニング過程でどの様な発現様式をとるのかをRNaseプロテクション法とタンパク質の免疫ブロッティング法によって検討した。その結果、調べたほとんどの遺伝子の産物はこの過程においてほぼ同調的に蓄積し,サブユニットやアイソマーによる違いは見られなかった。これは、少なくともグリーニング時においては、多様な系Ｉ核遺伝子群の発現が共通な機構で支配されていることを示唆している。

## 3aH05

タバコの光化学系Ⅰ遺伝子*psaDb*の転写、転写後、翻訳ﾚﾍﾞﾙでの光制御について

山本義治[1,2]、辻英夫[2]、近藤由希子[1]、小保方潤一[1]（[1]北大・地球環境・生態遺伝、[2]京大・理・植物）

*Nicotiana sylvestris*の光化学系Ⅰ核遺伝子群の中で*psaDb*は最も迅速な光応答を示す。*psaDb*の遺伝子発現に関して光の作用点は転写、mRNAの安定性、翻訳のどの段階にあるのかをトランスジェニックタバコを用いて解析した。*psaDb*遺伝子断片を含む3種の融合遺伝子（「psaDbプロモーター＋ＧＵＳレポーター」「ＣａＭＶ３５Ｓプロモーター＋*psaDb*の転写領域」「ＣａＭＶ３５Ｓプロモーター＋*psaDb*リーダー配列＋ＧＵＳレポーター」）を構築し、アグロバクテリウムの系によりタバコに導入した。そしてこれらの導入遺伝子が光応答を示すかどうかを調べた。その結果「*psaDb*プロモーター＋ＧＵＳレポーター」のみが光応答を示したので、*psaDb*の光に依存した発現は転写レベルで調節されており、mRNAの安定性や翻訳開始頻度は光照射によって変化しないことがわかった。また*psaDb*のリーダー配列には翻訳活性を十数倍高めるシス配列があることが示唆された。

## 3aH06

タバコの光化学系Ⅰ核遺伝子群に結合するタンパク質因子の解析

中邨真之、山本義治、近藤由希子、小保方潤一 (北大・地球環境・生態遺伝)

光化学系Ⅰサブユニットを支配する核遺伝子群の発現は光に対して迅速にかつ同調的に応答する。さらにこの発現は転写レベルで誘導され、これらの遺伝子群に共通する発現調節機構の存在が示唆されている。しかしながら光化学系Ⅰ核遺伝子群のシス・トランス因子に関する知見は非常に少ない。我々は、タバコ(*Nicotiana sylvestris*)の核ゲノムからPSI-Hサブユニットをコードする遺伝子*psaH*を単離し、さらにタバコの他の光化学系Ⅰ核遺伝子、*psaD*、*psaE*、とプロモーター領域の構造を詳細に比較した。その結果、光化学系Ⅰ遺伝子群に特徴的ないくつかの反復配列の存在が明かとなり、これらをR1からR6と名付けた。この中で、3種の遺伝子に共通して見いだされたR5モチーフに着目し、このモチーフに特異的に結合するタンパク質因子をゲルシフト法によって解析した。

## 3aH07

Ｃ３植物にもＣ４型類似ＰＰＤＫ遺伝子は存在する

今泉信之、石原邦[1]、鮫島宗明[2]、松岡信[2]（ジャパンターフグラス、[1]東京農工大学・農、[2]農水省・生物研）

Ｃ４植物のピルビン酸正リン酸ジキナーゼ（ＰＰＤＫ）はＣ４光合成の最も重要な調節酵素として知られている。最近、Ｃ３植物にもＰＰＤＫタンパク質が存在することが明かにされ、その生化学的性質はＣ４型ＰＰＤＫと比較的似ていることが報告されている。しかし、Ｃ３植物におけるＰＰＤＫの機能およびその発現調節などについてはほとんど明かにされていない。そこで、われわれはＣ３植物であるイネよりＰＰＤＫ遺伝子を単離し、その構造解析を行うことにより、Ｃ３とＣ４植物間のＣ４光合成遺伝子の相同性について検討した。

イネ（日本晴）のゲノムライブラリーより、トウモロコシ（Ｃ４型）ＰＰＤＫ遺伝子のｃＤＮＡをプローブとして、スクリーニングを行い、２種類の異なるクローンを得た。その内、Ｃ４型ＰＰＤＫ遺伝子とホモロジーの高い遺伝子について全塩基配列を決定し、Ｃ４型ＰＰＤＫ遺伝子と比較した。

イネとトウモロコシ（Ｃ４型）ＰＰＤＫ遺伝子のエクソン－イントロンの関係は、エクソン１と３を除き完全に一致し、翻訳アミノ酸配列は約９０％以上の高いホモロジーを示した。また、Ｃ４型ＰＰＤＫ遺伝子は２つの転写開始点を持つことが特徴とされているが、イネＰＰＤＫ遺伝子においても２つの転写開始点を持っていた。以上の結果から、Ｃ３植物にもＣ４型ＰＰＤＫ遺伝子と構造的によく似た遺伝子が存在することが確認された。

## 3aH08

イネ（Ｃ３植物）のＣ４類似型ＰＰＤＫ遺伝子はトウモロコシ（Ｃ４植物）内でＣ４的発現をしない。

松岡信、今泉信之[1]、大和陽一（生物研、[1]ジャパンターフグラス）

ピルビン酸正リン酸ジキナーゼ（PPDK）はＣ４光合成回路の重要な酵素であり、Ｃ４植物の緑葉には多量の発現が観察される一方で、Ｃ３植物の緑葉ではその発現はほとんど観察されない。このことから以前はPPDK遺伝子はＣ４植物に固有な遺伝子であると考えられていたが、最近の我々の研究ではＣ３植物であるイネにもトウモロコシのＣ４型PPDK遺伝子と極めて類似した構造の遺伝子が存在することが確認された（今泉ら、本講演要旨参照）。では何故Ｃ４類似型PPDK遺伝子はＣ３植物(イネ)内で高い発現を示さないのであろうか？我々はすでにトウモロコシのPPDKプロモーターが形質転換したイネ内で葉肉細胞特異的で光依存的な発現を引き起こすことを報告した（PNAS 90, 9586, 1993）。このことは、Ｃ３植物であるイネの緑葉中にもトウモロコシのＣ４型PPDK遺伝子の発現を制御する転写因子が存在することを示唆している。したがって、イネＣ４類似型PPDK遺伝子の低いレベルの発現はイネ緑葉中に発現に必要な転写因子が欠如しているのではなく、Ｃ４類似型PPDK遺伝子のプロモーターに高いレベルの発現に必要なシス因子が存在しないためと予想される。そこでこの仮説を検証するためにイネPPDK遺伝子のプロモーター領域をルシフェラーゼ遺伝子に融合し、トウモロコシ緑葉にパーティクルガン法により融合遺伝子を導入してルシフェラーゼ活性の誘導を観察した。その結果、コントロールに用いたトウモロコシPPDKプロモーターはトウモロコシ緑葉中で強いルシフェラーゼ活性を誘導させるにも関わらず、イネPPDKプロモーターはほとんどルシフェラーゼ活性を誘導しなかった。これは、イネPPDK遺伝子のプロモーターに高いレベルの発現に必要なシス因子が存在しないとする上の仮説を強く指示する。

## 3aH09

$C_3$植物、$C_4$植物PPDK遺伝子は共通のシス領域を持つか

村上（嘉納）ゆり子、大和陽一[1]、今泉信之[2]、松岡信[1]（農水省果樹試、[1]生物研、[2]ジャパンターフグラス）

$C_4$型光合成回路の酵素であるピルビン酸ジキナーゼ（PPDK）は$C_3$植物では非常に低い発現しか示さないのに対して、$C_4$植物では高い発現を示す。この様な$C_3$植物$C_4$植物間での発現機構の変異を解析するため、PPDK遺伝子のプロモーター領域をルシフェラーゼ遺伝子に融合し、トウモロコシにパーティクルガン法を用いて導入し、PPDK遺伝子のシス領域をより詳細に検討した。一方、イネPPDK遺伝子とトウモロコシPPDK遺伝子の比較から、双方とも5’上流域のほぼ同じ位置（-560及び-400）にAT-richな領域が二つ存在しているなど総体的な位置関係は類似していた。しかし、パーティクルガン法により決定されたシス領域に相当する配列（-300）は、$C_3$型光合成を行っているイネPPDK遺伝子には見いだせなかった。
我々はすでに$C_4$植物PPDK遺伝子が$C_3$植物のイネに形質転換した場合、高い発現を示す事、及びイネ緑葉核抽出液に$C_4$植物PPDK遺伝子のシス領域に結合する活性が存在する事を報告している。こうした知見からイネ自身のPPDK遺伝子が弱い発現しか示さないのは、トウモロコシPPDK遺伝子のシス配列に相当する配列がイネには欠如している事が予想された。そこで、今回、イネとトウモロコシのPPDK遺伝子の5’上流域においてAT-richな二つの領域（AT-1、AT-2）が、位置、配列とも相同性を示した事を考慮して、この二つの領域及びトウモロコシPPDK遺伝子のシス領域に相当する位置の領域をプローブとして、トウモロコシ緑葉核抽出液を用いたゲルシフトアッセイを行った。その結果、トウモロコシのシス領域に相当する結合活性は見いだされなかった。

## 3aH10

トウモロコシ$C_4$-型PEPカルボキシラーゼ遺伝子の5’上流域に結合するDNA結合タンパク質-MNF1-の解析

森島明、柳澤修一[1]、泉井桂（京都大・農・農林生物、[1]東大教養）

PEPカルボキシラーゼは$C_4$光合成において初期炭酸固定反応を触媒する酵素であり、葉において可溶性蛋白の10%以上を占める。

本酵素遺伝子はゲノムあたり１コピー存在し、そのプロモーター領域は高レベルの発現、光による制御、組織特異的発現という見地から注目されている。我々はこれらの発現制御に関与することが示唆されている5’側上流約１kb領域内に複数の核内因子が結合することを見いだしその性格付けを行っている。

その中の一つである核内因子MNF1について分子的性質に関する知見を得たので報告する。この因子は転写開始点より約800bp上流に２コピー存在する繰り返し配列、RS-1に結合する。RS-1は約40bpからなり、その配列中に既知の植物の転写制御因子の認識配列は見いだされない。トウモロコシの核抽出液を調製し、合成オリゴヌクレオチドを用いたコンペティションアッセイを行った結果、MNF1はRS-1配列内の"GTGCCCTT"8bpに対して認識配列特異性を有する因子であることが明らかになった。またゲル濾過クロマトグラフィーから予想されるMNF1の分子量は、900～1.200kDと通常の転写制御因子の分子量と比較して極めて大きく、MNF1は<u>in vitro</u>の溶液中において複数のタンパク質からなる複合体を形成していることが予想される。MNF1の認識する配列"GTGCCCTT"を利用したDNAアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより因子の高度精製を行ったが、単一の分子にまで精製するには至らなかった。このことはMNF1の見かけの分子量が大きいことと関係があると思われる。現在このMNF1の高度精製溶液を用いてさらに解析を進めている。

## 3aH11

トウモロコシのC4型PEPカルボキシラーゼ遺伝子発現の光調節とサーカディアンリズムの関与について

<u>吉田和市</u>、森島明、森康夫、泉井桂　（京都大、農、農林生物）

植物の光応答性の遺伝子発現の調節には、しばしばサーカディアンリズムの関与が報告されている。C4型光合成の初期炭酸固定に働くPEPカルボキシラーゼの遺伝子(*pep*)については、ソルガムで　明暗に対応した転写産物量の増減が報告されている(Thomas *et al.* 1990)が、サーカディアンリズムの関与は実証されていない。今回、我々は、トウモロコシ芽生えの*pep*発現について調べ、その光調節の仕組みとサーカディアンリズムの関与についていくつかの明瞭な結果を得たので報告する。

１２h/１２hの明暗周期下で４日間生育させた発芽後５日目のトウモロコシの芽生えに３日間の光処理を行い、光処理期間中３h毎の第一葉の*pep*の転写産物量の変化を調べた。

1) １２h/１２hの明暗周期を続けた場合、転写産物量は明期開始後3-6時間で上限に、暗期の3-9時間目に下限に達する周期的な変化を示した。上限と下限の間に5-１０倍程度の転写産物量の変化が見られた。 2) ５日目以降を連続的な明期とした場合にも、１２h/１２hの明暗周期下で見られたのとほぼ同様の転写産物量の周期的増減が観察され、サーカディアンリズムの関与が証明された。 3) ５日目の後半から連続的な暗期としたところ、転写産物量は急激に減少したが、概日的な振動を伴う減少であった。*pep*の発現に関して、明暗で増減する*pep*発現の基本的な光制御があり、これに対し上乗せ的にサーカディアンリズムによる修飾が働いていることが予想された。

## 3aH12

マツの集光性クロロフィル蛋白質遺伝子プロモーターによるルシフェラーゼ遺伝子の光非依存的、葉器官特異的発現

山本直樹（生物研）

マツの集光性クロロフィル蛋白質遺伝子（*cab*)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*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、あるいは、針葉樹に特異的な *cab*の発現機構を明らかにするために、代謝回転の速いルシフェラーゼをレポーターに用いて解析をおこなったところ、良好な結果を得ることができた。

マツの*cab*プロモーター(0.5 kbp)をルシフェラーゼ遺伝子つなぎ、Tiプラスミド(pBI121)へGUS遺伝子の代わりに導入し、タバコに導入、形質転換体を得た[PC6::LUC]。光感受性の対照としてイネの*cab*プロモーター(0.8 kbp)を利用したが、同様の操作により形質転換をおこなった[Rice cab::LUC]。ルシフェラーゼ活性の測定は、T2の幼植物にルシフェリンを噴霧したのち、発光画像解析システム(Argus-50,浜松ホトニクス)により行った。CP6::LUCのタバコ幼植物からの発光は明暗の条件にかかわらず恒常的に観察された。また、この発光の大部分は葉に限られ、幼根からの発光はなかった。一方、Rice cab::LUCをもつタバコ葉からの発光は、明条件に移すと急速に増加し、光の誘導が明瞭に観察できた。マツの *cab*プロモーター領域には、組織特異性制御の配列は存在するが光感受性にかかわる配列は存在しないものと理解できる。

## 3aI01

**ダイズサイクリン遺伝子のcDNAクローニングとその発現様式**

**河内　宏[1]、前田美紀[1]、関根政実[2]、畑　信吾[3]（農水省生物研[1]、阪大工[2]、姫路工大理[3]）**

$p34^{cdc2}$のreguratory subunitであるサイクリンは、真核細胞の分裂周期制御において重要な役割を果たす。動物および酵母におけるサイクリンボックスの保存配列をもとに、ダイズ根粒の全cDNAからPCR法によって得たフラグメントをsequencingしたところ、多様なサイクリン配列が得られたが、これらはアミノ酸配列の類似性から大まかに4つのグループ(I-IV)に分けられた。グループI-IIIはA-タイプに近い構造をもち、IVはB-タイプの特徴を有していた。これらの各グループから代表的なフラグメントを選び、これをプローブとして根粒及びダイズ培養細胞のcDNAライブラリーを検索して、それぞれ全長のcDNAを得、これらの全塩基配列と予想されるアミノ酸配列を決定した。ノーザン分析の結果、茎頂、根端、分裂中の根粒など異なる分裂組織での発現のパターンはすべてのクローンについて基本的に同様で、顕著な組織特異性は認められなかったが、発現量には大きな差異があり、演者らがさきに報告したB-typeサイクリン(EMBO.J. 10:2681, 1991)がもっともabundantであった。A-typeのうち最も発現量の多いグループIIIと、B-typeのグループIVについて、茎頂、根端、根粒の組織切片のIn situハイブリダイゼーションを行った結果、これらは分裂域の細胞に特異的に発現しており、分裂中の細胞に見られるシグナルから、B-typeサイクリンは、A-typeに比べて細胞分裂のより後期まで発現していると推定された。

## 3aI02

タバコのサイクリンｃＤＮＡのクローニング

Y.Y. Setiady，関根政実、山本拓生，新名惇彦（大阪大・工・応用生物工学）

ｃｄｃ２／サイクリン複合体は真核細胞の細胞分裂周期の調節において重要な役割を果たしている。現在まで、酵母や脊椎動物細胞から多くのサイクリンが単離されてきた。サイクリンファミリーには少なくとも５つのタイプがあり、それぞれは特異的な時期に細胞周期を調節している。

植物における細胞周期調節の分子レベルのメカニズムを解明するために、我々はタバコ(Nicotiana tabacum)からサイクリンｃＤＮＡを以下のように単離した。サイクリンファミリーの中で保存されている領域に基づいて、ＰＣＲ法を用いてｃＤＮＡ断片を増幅した。次にこれらのｃＤＮＡ断片を用いてタバコｃＤＮＡライブラリーをスクリーニングしたところ、３つのｃＤＮＡクローンが得られた。これらのｃＤＮＡは酵母のサイクリン欠損変異株に対して相補性を示した。さらにこれらのｃＤＮＡの発現特異性を明らかにするため、現在タバコＢＹ－２培養細胞の同調系を用いて細胞周期におけるこれらのｃＤＮＡの発現パターンを調べている。

## 3aI03

タバコのプロテインホスファターゼ cDNA のクローニング

高橋浩一郎、関根政実、新名惇彦（阪大・工・応用生物）

真核細胞の細胞周期は cdc2 キナーゼ活性により制御されている。cdc2 キナーゼの活性化と不活性化は、特異的なリン酸化－脱リン酸化によって調節されており、プロテインホスファターゼ（PPase）が細胞周期の制御に重要な役割を果たしていると考えられている。セリン／スレオニン PPase はタイプ１，2A，2B，2C に分類されており、近年、酵母、動物、植物より各タイプの PPase がクローニングされ、細胞周期におけるそれらの役割が明らかになりつつある。我々は、植物における細胞周期調節機構の解明を目的とし、その一環としてタバコ（Nicotiana tabacum cv. Samsun NN）からセリン／スレオニン PPase cDNA の単離を行った。

酵母と動物由来の１型 PPase 間で保存されている領域内のアミノ酸配列をもとに合成した１組のオリゴヌクレオチドをプライマーとして、タバコ茎頂組織由来 cDNAを鋳型に PCR 法により遺伝子増幅を行った。得られた DNA 断片をプローブにして、プラークハイブリダイゼーション法により、数個の陽性クローンを得た。それらの１つ（NtPP1）は、全長約 1.0 kbp でその塩基配列を決定したところ、304 アミノ酸残基よりなるタンパク質をコードし、そのタンパク質は、アラビドプシスの１型 PPase（PP1-At）とアミノ酸レベルで 84 % の相同性を持つことが判明した。また、NtPP1 をプローブとしたサザン解析の結果、このタイプの PPase は数個の遺伝子からなることが示唆された。現在、他の cDNA クローンの塩基配列の決定とともに、機能面での解析を行っている。

## 3aI04

タバコ培養細胞BY-2においてG2/M期に特異的に発現される遺伝子の検索

横井崇秀，柿本辰男，柴岡弘郎　（大阪大・理・生物）

植物細胞は発達した細胞壁を有するため動物細胞とは非常に異なる分裂様式を持っている。しかし，植物細胞特有の前期前微小管束やフラグモプラストの構築およびその制御機構については明らかにされていない。これらの構築また構築制御には遺伝子発現の変化が関わっていると考えられる。本研究の目的は，タバコ培養細胞BY-2よりG2期からM期に特異的に発現する遺伝子をクローニングするところにある。

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存在下で２４時間培養するとG1/S期で停止するが，アフィディコリンを取り除くと細胞周期は同調的に進行する。多くの細胞が分裂期にある時期のcDNAよりアフィディコリン除去直前の細胞のcDNAでサブトラクションを行い分裂期特異的cDNAを濃縮しPCR法で増幅した後ライブラリーを作成し，G1/S期のmRNAとG2～M期のmRNAからそれぞれcDNAプローブを合成しディファレンシャルスクリーニングを行った。その結果，G2期からM期に特異的に蓄積されるmRNAに対応するcDNA断片のクローンを２つ得た。現在スクリーニングを続けるとともに得られたcDNAの塩基配列の決定を行っている。

## 3aI05

タバコ培養細胞形質転換体を用いた高等植物における細胞周期特異的遺伝子のプロモーター解析

伊藤正樹、渡辺昭[1]（名古屋大・生物分子応答研究センター、
[1]（現）東京大・理・植物）

細胞周期中で起こるeventは、正確な周期性で正しい時期に発現する必要がある。このような細胞周期の秩序を維持するため、細胞周期中で特定の時期に発現する遺伝子が重要な役割を演じていると考えられる。高等動物や酵母からは、周期中様々な時期に発現する細胞周期特異的遺伝子が同定されており、実際に細胞周期の進行に必須な遺伝子が多く含まれていることが明らかにされている。演者らはこれまでにニチニチソウ同調培養系を用いて、DNAポリメラーゼδの補助因子として知られるPCNA、及び$p34^{cdc2}$キナーゼの調節因子であるサイクリンが高等植物の細胞周期において周期特異的に発現することを示してきた。また、differntial screening法によりS期特異的発現を示す未知遺伝子、*cyc07*を単離している。この様な遺伝子のプロモーターは、形質転換植物体において、分裂組織に特徴的にレポーター遺伝子の発現を指令することが知られているが、その細胞周期特異的な発現を付与するか否かについては明らかにされていない。演者らは、このような遺伝子のプロモーター領域とレポーター遺伝子からなるキメラ遺伝子をタバコ培養細胞BY-2に導入した。得られた形質転換体におけるレポーター遺伝子の発現の周期特異性を同調培養系を用いて解析した。

## 3aI06

アラビドプシスのβ－アミラーゼ遺伝子の糖応答性に関わる変異株hba1

三田悟、村野信仁、赤池美紀子、中村研三
（名大・農・生化）

サツマイモのスポラミンやβ－アミラーゼの遺伝子をはじめ、ショ糖によって発現が制御される植物遺伝子はこれまで数多く報告されており、ショ糖による遺伝子の発現制御は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。

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と、β－アミラーゼ活性が顕著に増加し、こうしたショ糖の供給によるβ－アミラーゼ活性の顕著な上昇は、ゲノムに単一コピーで存在する遺伝子の転写レベルで制御されていることを明らかにしてきた。

植物遺伝子発現の糖レベルによる代謝調節機構を遺伝学的に解析するために、アラビドプシスβ－アミラーゼ遺伝子の発現パターンが野生株とは異なる突然変異株を単離した。今回はそのひとつであるhba1変異株について報告する。2%ショ糖を含む無菌培地で3週間生育させたhba1の幼植物体のロゼット葉では、野生株に比べて約5倍の高いβ－アミラーゼ活性が検出された。hba1のロゼット葉におけるβ－アミラーゼ活性は構成的なものではなく、土で生育させたhba1のロゼット葉では野生株とほぼ同程度の低いβ－アミラーゼ活性を示した。また、ショ糖培地で生育したhba1のロゼット葉でのβ－アミラーゼ遺伝子発現レベルは抽苔にともなって低下した。これらのことから、hba1変異株は培地から植物体に供給されるショ糖に対するβ－アミラーゼ遺伝子の発現応答が野生株に比べて高まった変異株であると考えられる。

## 3aI07

タバコの54kDのカルシウム依存性プロテインキナーゼは葉のショ糖処理によって増加する。

○大藤雅章、中村研三　（名大・農・生化）

サツマイモのβ－アミラーゼ遺伝子プロモーターとGUSレポーターとの融合遺伝子の形質転換タバコ葉切片におけるショ糖に応答した発現誘導は、カルモジュリン阻害剤W－7、$La^{3+}$などの$Ca^{2+}$輸送系阻害剤、プロテインキナーゼ阻害剤のスタウロスポリンやK-252aで抑制される。

タバコ葉切片の抽出液中のタンパク質をSDS－PAGEで分離してから、自己リン酸化能を持つバンドを検出すると、組織のショ糖処理によって活性が増加するバンドが46kDから 127kDの間で数本認められた。これらのバンドの活性化は葉切片をグルコースやフルクトースで処理した場合にも見られるが、非資化性糖であるソルビトールやマンニトールで処理した場合には見られない。これらのバンドの中で、*in vitro*の自己リン酸化活性が$Ca^{2+}$要求性、W－7感受性、スタウロスポリンやK-252a感受性を示すものを検討したところ、54kDのバンドがこれらの要求を全て満たしていた。これらの性質から、この54kDのバンドはカルシウム依存性プロテインキナーゼによるものと思われる。この54kDバンドの自己リン酸化活性のショ糖による増加はシクロヘキシミドにより抑制されたことからポリペプチドの合成に依存していると考えられる。54kDバンドは根、茎、葉のどの器官の抽出液にも検出できたが、葉の中では特に若い葉の方が高い活性が認められた。またこのバンドは原形質膜に富む画分に分画され、膜表在性のタンパク質であることが示唆された。

## 3aI08

ショ糖によって誘導されるサツマイモのCalcium-dependent protein kinase(CDPK) cDNA

真野昌二、大藤雅章、中村研三（名大・農・生化）

サツマイモより切断した葉－葉柄部を高濃度のショ糖で処理すると、塊根主要タンパク質のスポラミンやβ－アミラーゼ、あるいはデンプン生合成に関わるADP-glucose pyrophosphorylaseなどのmRNAの集積が誘導される。このショ糖による誘導は、カルモジュリン阻害剤やタンパク質キナーゼ阻害剤であるStaurosporinやK252a、あるいは$La^{3+}$などの$Ca^{2+}$輸送阻害剤で抑制され、またショ糖処理した組織で活性が上昇するプロテインキナーゼが検出されている。

我々は、Soybean、Carrot、RiceのCDPK cDNAの相同性の高い領域のDNAオリゴマーを合成し、ショ糖処理したサツマイモ葉柄mRNAから作成したcDNAを鋳型としてPCRを行い、増幅DNA断片をクローン化した。得られた断片は上記のCDPKと64～87%の相同性を持つアミノ酸配列をコードしていた。このDNA断片をプローブとしてCDPK mRNAの発現制御を解析したところ、約3.2kbのmRNAが組織のショ糖処理によって顕著に誘導されることが明らかになった。このCDPK mRNAは、グルコースやフルクトースでも誘導を受けたがマンニトールやソルビトールのような代謝できない糖では誘導を受けなかった。更に、このCDPK mRNAレベルの器官特異性を調べると、他の器官に比べ塊根に特に多量に存在することが明らかになった。

## 3aI09

サツマイモ塊根主要タンパク質遺伝子の発現； ショ糖およびポリガラクツロン酸による誘導とプロテインホスファターゼ（タイプ１、２Ａ）特異的阻害剤によるその抑制

武田真、真野昌二、大藤雅章、中村研三（名古屋大・農・生化）

サツマイモ塊根の２つの主要タンパク質、スポラミンおよびβ－アミラーゼの遺伝子の発現は、葉－葉柄片を高濃度ショ糖や低濃度ポリガラクツロン酸（ＰＧＡ）で処理することにより、葉、葉柄の両組織で顕著に誘導される。

ショ糖およびＰＧＡ誘導系における、タイプ１および２Ａ・プロテインホスファターゼ特異的阻害剤（オカダ酸、ミクロシスチン、カリクリンＡ）の効果を調べたところ、これらの阻害剤は、スポラミンｍＲＮＡやβ－アミラーゼｍＲＮＡの蓄積誘導を顕著に抑制した。また、β－アミラーゼ・プロモーターと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片を用いた場合にも、ショ糖によるＧＵＳ遺伝子の発現誘導は、これらの阻害剤によって強く阻害された。これらの結果は、スポラミンやβ－アミラーゼ遺伝子のショ糖およびＰＧＡによる発現誘導に、タンパク質の脱リン酸化が必要であることを示唆した。

## 3aI10

スポラミン遺伝子のショ糖誘導に関わるシス制御配列

森上敦、田中芳実、中村研三　（名大・農・生化）

サツマイモ塊根主要タンパク質スポラミンの遺伝子は、高濃度のショ糖により発現が誘導される遺伝子の一つである。この遺伝子のショ糖による発現誘導と同様の機構はサツマイモ以外の植物にも存在すると考えられ、スポラミン遺伝子の１つgSPOA1の転写制御領域305bpとレポーター遺伝子GUSの融合遺伝子を導入したタバコの葉を高濃度のショ糖処理すると融合遺伝子の発現誘導が見られる。そこで、転写制御領域に様々な欠失・挿入・置換を持つ融合遺伝子をタバコに導入し、ショ糖によるスポラミン遺伝子の発現誘導に必須となるシス配列の決定を行った。その結果、ショ糖誘導にはＡ(-255～-266)とＢ(-192～-181)の二つの配列が必要であるばかりでなく、この２つの配列が少なくとも１３ｂｐ以上離れて存在することが必要であることが明らかになった。また、この２つの配列とCaMV35Sプロモーター TATA近傍配列とのキメラプロモーターもショ糖誘導性を示したことから、ショ糖誘導には特定のTATA近傍配列は必須でないことが示された。スポラミンと同じようなショ糖による発現誘導が見られる遺伝子としてサツマイモのβ－アミラーゼ遺伝子があるが、Ａ配列中の*TGGACGG*配列はβ－アミラーゼ遺伝子のショ糖応答に関わる転写制御領域にも存在する（石黒ほか、日本農芸化学会１９９３年度大会）。この配列に塩基置換変異を導入すると、ショ糖への応答性が見られなくなった。

## 3aI11

チャ *Camellia sinensis* CHS mRNAの糖に対する応答

竹内敦子，松元　哲，早津雅仁（農水省・野菜茶試）

私たちは、チャカルコンシンターゼ(CHS) cDNAを３つ単離し、器官におけるCHS mRNA量および、光、糖に対するCHS mRNAの応答を解析している（日本植物生理学会1993年度年会講演要旨集，pp.123）。本年会では糖に対するCHS mRNAの応答を詳細に報告する。成樹から採取したチャの新芽を糖で処理し、新芽の葉の総RNAを各CHS mRNAに対する特異的プローブで解析した。特異的プローブは、各CHS cDNAの5'非翻訳配列にそれぞれ相補的な50ヌクレオチドの合成DNAを用いた。その結果、暗黒下あるいは連続光下で処理した場合、いずれのCHS mRNA量も、同様に増加した。暗黒下の場合、フルクトース、シュクロース、マルトースに応答して各CHS mRNA量が増加し、連続光下では、グルコース、シュクロース、マルトースに応答して増加した。さらに、シュクロースについて、濃度、処理時間を変えた場合も、いずれのCHS mRNA量も、同様に変化した。よって、３つのCHS遺伝子の発現は、よく似た機構で、糖に対して応答することが示唆された。シュクロースに対する応答は、シクロヘキシミドによって阻害され、クロラムフェニコールによっては阻害されなかったので、新たなタンパク合成を必要とすることも強く示唆された。また、シュクロースにより、若い葉および成熟した葉の各CHS mRNA量は増加したので、葉の発達段階とは関係なくシュクロースに応答することが示された。

## 3aI12

糖質によるイネα-アミラーゼ遺伝子の転写調節機構の解明

光永伸一郎、Raymond L. Rodriguez[1]、山口淳二[2]（上越教育大・生活健康系、[1]カリフォルニア大・デイビス校、[2]名古屋大・生物分子応答研究センター）

穀物類のα-アミラーゼは、植物ホルモン・ジベレリンによって誘導されることが広く知られている。ところが最近、穀物類のなかでもイネに関しては、性質を異にする2種類のα-アミラーゼアイソザイムが存在することが明らかになった。一方はジベレリンにより誘導されるものであり、もう一方は、グルコース、マルトースといった糖質（α-アミラーゼによるデンプンの分解産物）の欠乏により誘導されるものである。

イネα-アミラーゼ遺伝子は、multigene familyとして染色体上にコードされているが、それぞれの遺伝子クローンを用いたノーザンブロット解析の結果から、糖質の欠乏により誘導されるのは*RAmy3D*遺伝子であることが明かになった。

そこで、我々は*RAmy3D*遺伝子の転写調節機構の解明を目的に、プロモーター領域の解析を試みた。その結果、プロモーター領域に特異的に結合する核タンパク質因子を検出することに成功した。また、フットプリントアッセイにより、この因子の結合部位を解析したところ、結合部位は3ヶ所存在し、興味深いことに、これらの中心には、いずれもGCCG G/C CGという7塩基からなる共通配列が含まれていた。

一般講演

第3日　3月30日（水）　午後の部

A会場　光合成細菌（2）
B会場　細胞壁（3）
C会場　光生物学（2）
D会場　細胞分化
E会場　形態形成（3）
F会場　成長調節物質（2）
G会場　蛋白質・酵素（2）
H会場　遺伝子構造（2）
I会場　遺伝子発現（7）

## 3pA01

クロロフィルbの励起三重項の共鳴ラマンスペクトル

佐島徳武、西澤栄一、小山　泰（関西学院大・理）

共鳴ラマン分光法は、短時間に起こる化学反応や基底・励起・酸化還元状態の選択的な情報を与える。そこで我々は、この方法によってPSIIの主成分であるChl bの励起三重項状態（$T_1$）における分子構造に関する情報を得ることを試みた。

【実験】ホウレン草から抽出・精製したChl bのベンゼン溶液（$1\times10^{-3}$M）を試料として用いた。この試料を$N_2$ガスでバブリングした後、回転セルに入れ、室温でSoret帯の長波長側の裾にあたる488nmのナノ秒レーザーのパルス光（$S_0\rightarrow S_n$に対して前期共鳴、$T_1\rightarrow T_n$に対して真正共鳴条件）を照射して$T_1$ラマンスペクトルの測定を試みた。このとき、光強度を変化させることによって励起状態と基底状態の分布数を変えて、高光強度から低光強度を差し引くことにより、励起状態のラマンスペクトルを得ようとした。また、$Ar^+$レーザーのCW光（488nm）を用いて、完全な基底状態のラマンスペクトルを得ることも試みた。

【結果】高光強度で測定したラマンスペクトルは低光強度で測定したラマンスペクトル（またはCW光で測定したラマンスペクトル）と比べると、1656、1615、1555、1472、1429、1350、1288、1247、1200$cm^{-1}$に強度を増したピークが現れた。これらは$T_1$状態に由来するラマン線と考えられる。現在、よりS/Nが良く信頼度の高い$T_1$ラマンスペクトルを得る試みを行っている。

## 3pA02

バクテリオクロロフィル a のサブマイクロ秒過渡吸収スペクトルの溶媒効果

小山　泰、西澤榮一　（関西学院大・理・化学）

光反応中心の電荷分離機能には二量体バクテリオクロロフィル a（BChl）のカチオンラジカル（$D_0$）状態が、過剰なエネルギー散逸の機能には単量体 $BChl_L$ の三重項励起（$T_1$）状態が関与している。

16 種類の BChl 溶液（3 x $10^{-4}$ M、15 ml）の Soret 帯を光励起し(355 nm、8 ns、10 Hz、2 mJ / pulse)、励起後 200 ns の差過渡吸収スペクトルを円筒型フローセル（$\phi$ = 1mm、流速 400mm / sec）を用いて測定した。

基底状態の吸収帯のブリーチングの影響を補正した過渡吸収スペクトルを比較した。① $D_0$、$T_1$ 状態の最も強い吸収帯は各々 420、400 nm に現れることが報告されている。高次の会合体を形成する $CCl_4$ 溶液では $D_0$ 状態が、低次の会合体しか形成しない $CH_2Cl_2$ 溶液では $D_0$ 状態と $T_1$ 状態の両方が、会合体を形成しないその他の 14 種類の溶液では $T_1$ 状態だけが検出された。会合体中では励起（$S_1$ または $T_1$）状態の BChl 分子と隣接した他の基底状態の BChl 分子の軌道の重なりによって効率の良い電子伝達が可能となり $D_0$ 状態の BChl が生成したと考えられる。②$T_1$ 状態の吸収スペクトルには (a) 400 nm 付近の最も強い吸収帯とこれに付随した (b) 430nm 付近の肩、そして (c) 500 ～520 nm、(d) 595 ～ 640 nm、(e) 655 ～695 nm の 3 本の弱い吸収帯が現れた。溶媒効果は (a)、(b) の吸収帯には現れなかった。アルコール基を持つ溶媒では (c)、(d) の吸収帯が長波長側にシフトし、さらに 580 nm 付近に新たな吸収帯 (f) も現れた。(e) の吸収帯は BChl の配位子数と関係があることがわかった。5 配位状態では 656 ～ 663 nm に、一方 6 配位状態では 673 ～ 693nm に現れた。$T_1$ 状態の BChl の電子状態は配位、水素結合により制御されていることが示唆された.

## 3pA03

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF THE SUBUNITS OF THE LIGHT-HARVESTING COMPLEXES FROM *RHODOBACTER SPHAEROIDES* R-26 AND R-26.1

Leenawaty LIMANTARA[1], Tomisaburo KAKUNO[2], Richard J. COGDELL[3] and Yasushi KOYAMA[1] ([1]Fac. Sci., Kwansei Gakuin Univ., Nishinomiya 662, [2]M&S Technosystem, Osaka 532, [3]Dept. Botany, Univ. Glasgow, Glasgow)

The LH-1 and LH-2 complexes were solubilized and purified from the chromatophore membranes of *R. sphaeroides* R-26 and R-26.1, respectively, by the use of detergents, sucrose mono-cholate (SMC) and commonly used lithium dodecyl sulfate (LDS).

The subunits of the light-harvesting complexes were analysed by using SDS-PAGE. Each subunits of LH-1 was identified by means of both amino-acid sequence determination and western blotting, while that of LH-2 was identified by means of western blotting.

The LH-1 complex obtained by using the detergent SMC was stable against various conditions of the preparation procedures, a fact which proves the usefulness of this new detergent in preparing the LH-1 complex free from the reaction center.

## 3pA04

光合成細菌 *R. viridis* の光反応中心での電子伝達反応におけるアミノ酸側鎖の役割

中川博之, [1]岡田　孝, 小山　泰, (関学大・理学部・化学, [1]関学大・情報処理研究センター)

*R. viridis*, *R. sphaeroides*, *R. capsulatus*, *R. rubrum* のL, Mサブユニットのアミノ酸配列を比較し，保存残基および，化学的性質を保存した残基を探索した。保存アミノ酸の側鎖，および色素の座標を*R. viridis*のX線結晶構造データから抽出してモデル分子を作成し,11パートに分割した($P_L$ - $P_M$ - $B_M$, $P_M$ - $P_L$ - $B_L$, $P_L$ - $P_M$ - $H_M$, $P_M$ - $P_L$ - $H_L$, $B_M$ - $H_M$, $B_L$ - $H_L$, $H_M$ - $Q_B$, $H_L$ - $Q_A$, $Q_A$ - $Q_B$, Heme - $P_M$ - $P_L$ および $B_M$ - Car)。各パートに対し，拡張Hückel法に基づき色素・残基間の軌道の混ざりを計算し，電子伝達反応におけるアミノ酸側鎖の役割を検討した。その結果を以下に示す。(1) $H_M$, $B_M$, $P_M$, $P_L$, $B_L$, $H_L$は，隣接色素間でLUMOが充分に混ざるが，L181-Phe, M208-Tyrを通じ，PとH$_L$, PとH$_M$のLUMOも混ざる。(2) M250-Trpの軌道がH$_L$とQ$_A$のLUMOと混ざり，電子伝達での橋渡しをすると考えられるが，対応するL216-Pheの軌道はH$_L$とQ$_A$間の電子伝達には役立っていない。この他に(3) Feと配位子が　Q$_A$ - Q$_B$間の電子伝達に，(4) L162-Tyrと周囲のアミノ酸残基がHeme-P間の電子伝達に関与していると思われる。

## 3pA05

光合成細菌のウレアーゼはアルギニンと酸素で誘導される

高桑進，山口和也[1]，鈴木晋一郎（京都女大・家政，[1]大阪大・教養）

光合成細菌の窒素代謝系はアンモニアの有無によって厳密に制御を受けている。例えば，明条件ではアンモニアが制限されるとグルタミン合成酵素が活性化され，無くなると窒素固定系が働くが，アンモニア添加によりＮｉｆ遺伝子のスイッチがオフとなる。しかし，光合成細菌の窒素代謝系における尿素の役割やウレアーゼについてはあまり報告がない。そこで，紅色無硫黄細菌の１つである Rhodobacter capsulataでウレアーゼ活性を誘導する条件について検討したところ，非光合成細菌では報告されていない制御機構が見つかったので報告する。すなわち，R.cap のウレアーゼは尿素の存在下はもちろん，アンモニアの存在下でも一定量が構成的に合成されていることが分かった。さらにアルギニン存在下ではその活性が５倍に誘導されることを見いだした。また，いったん誘導されたウレアーゼはアンモニアの添加によって，その生合成も活性も抑制されない。一方，ウレアーゼの誘導は明所・嫌気的条件よりは暗所・好気的条件下で高いことから酸素が誘導要因の一つと考えられる。そして，１～５ｕＭのニッケルイオンの添加で活性が著しく促進されることからこの細菌のウレアーゼも他の細菌と同様ニッケルを含む金属タンパク質と思われる。様々な窒素源および炭素源での生育条件とウレアーゼの活性変動についても述べる。

## 3pA06

光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides*の *puf*オペロン上流域結合タンパク質の解析と精製

島田裕士、和田忠士、太田啓之、増田建、塩井祐三、半田宏、高宮建一郎（東工大、生命理工）

紅色非イオウ細菌の *Rhodobacter sphaeroides* の *puf* オペロンには光化学反応中心のL鎖とM鎖、集光性バクテリオクロロフィルタンパク質複合体Iのα鎖とβ鎖等の遺伝子がコードされている。我々は *puf* オペロンの発現制御に必須と報告されているオペロンの上流域を用いてゲルシフトアッセイを行った。その結果、この領域に特異的に結合するタンパク質は、酸素、光によって *puf* オペロンの発現が抑制されているときに結合することが示された。また、結合能のないタンパク質を脱リン酸化処理すると結合能を持つようになった。DNaseIフットプリント法より決定されたタンパク質結合部位は(GCGATCC-GGCGCGC)の部分的なパリンドローム配列であった。さらにこのタンパク質の精製を行い、SDS-PAGEにおいて15kDaのバンドであることが示された。

## 3pA07

光合成細菌のモリブデンコファクター欠損株のペリプラズムにおけるＤＭＳＯ還元酵素活性構造の形成

桝井秀雄，草野元，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

光合成細菌*Rhodobacter sphaeroides* f. sp. *denitrificans*のdimethyl sulfoxide reductase(DMSOR)は１分子のモリブデンコファクター(Mo-co)を持つペリプラズム酵素である．この酵素のペリプラズムでの高次構造形成過程をMo-co欠損変異株の分泌するフォールディング中間体を用いて解析した．

Mo-co欠損株スフェロプラストは，native電気泳動で移動度の異なる，しかし，SDS電気泳動では同じ82kDaの分子サイズを示す２種のDMSORアポ蛋白を分泌する．トリプシン抵抗性，尿素抵抗性，ゲル濾過クロマトグラフィー等から移動度の高い蛋白（Ｉ型）は活性型の酵素と立体構造が等しく，移動度の低い蛋白（II型）は一部unfoldしていることがわかった．xanthine oxidaseから抽出したMo-coとインキュベートすると，II型は一部Ｉ型に変換された．一方，精製酵素をMo-coの脱落する，濃度の薄い酸で処理するとII型に近い構造となった．これらのことから，II型はＩ型への中間体ではないかと推定された．

## 3pA08

光合成細菌のDMSO呼吸系遺伝子群

宇治家武史　山本勇　山崎素直[1]　佐藤敏生（広島大・理・生物科学、　[1]東京大・農・農化）

光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* f. sp. *denitrificans* はdimethyl sulfoxide(DMSO)呼吸を行う。DMSO呼吸の末端還元酵素であるDMSO還元酵素は、モリブデン(Mo)コファクターを１分子有するタンパク質で、DMSOで誘導合成されペリプラズムに局在する。今回、酵素のアミノ酸配列を基に合成したオリゴヌクレオチドを用いてDMSO還元酵素の遺伝子をクローン化しその塩基配列を決定した。

その結果、約6.4kbの塩基配列中に４つのORFを見いだした。DMSO還元酵素のDNAプローブとハイブリダイズする領域を含むORFは、821アミノ酸からなり、42アミノ酸のシグナル配列が存在し、Ｍｏコファクター含有タンパク質と高い相同性が見られた。この遺伝子をDMSO還元酵素の遺伝子として*dmsA*と命名した。*dmsA*の上流の３つのORFのうち２つは*dmsA*とオペロンを形成していると推定され、それぞれ*dmsB*、*dmsC*と命名した。*dmsB*産物は226アミノ酸からなり疎水性の高いタンパク質であることが推定された。*dmsC*産物は404アミノ酸からなり、５カ所にCXXCH配列を有するヘムタンパク質であることが示唆された。さらに上流に存在するORFの産物は371アミノ酸からなることが見いだされた。

## 3pB01

ポプラ培養細胞の壁結合型 エンド-1,4-β-グルカナーゼの精製と性質

大宮泰徳、中村信吾、酒井冨久美、林　隆久
（京都大·木質研）

ポプラ培養細胞には細胞質、細胞壁、培地にそれぞれエンド-1,4-β-グルカナーゼ活性の存在が認められている。壁に結合しているβ-グルカナーゼは、β-グルカン複合体特にキシログルカンのβ–1,4結合を部分分解し、細胞壁にゆるみを生じさせることが示唆されている。我々はポプラ培養細胞からこの壁結合型エンド-1,4-β-グルカナーゼの精製を試み、その性質について調べた。ポプラ（*Populus alba*）の葉から誘導された培養細胞を、10μMのオーキシンを含むMurashige&Skoogの液体培地で暗黒下25℃で培養し、対数増殖期に収穫した。エンド-1,4-β-グルカナーゼ活性は、細胞壁標品から0.5M NaClを含むリン酸バッファーにより抽出された。酵素活性はカルボキシメチルセルロースの粘度低下によって測定した。精製は抽出液を硫安分画した後、イオン交換、疎水クロマトグラフィー、ゲル濾過等を用いて行った。精製された酵素は、SDS-PAGEにより分子量47kDa、等電点電気泳動によりpI 5.6を示した。

## 3pB02

ポプラ培養細胞の培地に分泌されるエンド-1,4-β-グルカナーゼのcDNAクローニング

中村信吾、森　仁志[1]、酒井富久美、林　隆久（京都大·木質研、[1]名古屋大·農·生化学制御）

植物細胞の成長に果たすエンド-1,4-β-グルカナーゼの役割を分子レベルで解明するために、ポプラ培養細胞の培地中に分泌されるエンド-1,4-β-グルカナーゼのcDNAクローニングを試みた。精製した酵素のN末端アミノ酸配列26残基を決定し、それに対応する混合オリゴヌクレオチドをプライマーとして、RT-PCR法により51bpのcDNA断片を調製した。これをプローブにして対数増殖期前期のポプラ培養細胞のcDNAライブラリーから、エンド-1,4-β-グルカナーゼの全長のcDNAクローンを得た。すでに塩基配列が知られているアボカドの果実の成熟といんげん豆の落葉にかかわるグルカナーゼとは、アミノ酸レベルでそれぞれ77%,51%の類似性があった。得られた塩基配列から予想される酵素の等電点は、5.53、分子量は、51.6kDaとなり、精製した酵素を用いて、等電点電気泳動、SDS-PAGEによって求められた等電点 5.5、分子量50kDaとよく一致していた。

## 3pB03

矮性および正常オオムギ幼葉鞘のβ-グルカナーゼ活性の比較

渡辺竜五、中川直樹、桜井直樹（広島大・総科・自然）

オーキシンが伸長成長を引き起こす時、禾本科では1,3:1,4-β-グルカン分解酵素の活性が上昇し、細胞壁が弛み，成長が促進されると考えられている。これを明かにするため，内性オーキシン量の少ない一遺伝子突然変異矮性オオムギ（渦）と正常型（並）の幼葉鞘を用いて、それぞれの1,3;1,4-β-グルカナーゼの活性を測定した。暗室で三日間育てたオオムギ幼葉鞘をポリトロンで破砕した後、細胞壁を精製し 3M LiClで壁結合蛋白質を抽出した。SP-セファデックスでβ-グルカナーゼを精製しエンド型とエキソ型に分離した。活性は還元末端と粘性により測定した。エキソ型β-グルカナーゼの比活性および幼葉鞘一本当たりの活性は並の方が高かったが、生重量当たりでは並と渦で差がなかった。カラムにかけた時の活性フラクションの溶出の仕方に並と渦で差がなく酵素自体には差がないと考えられる。SP-セファデックスで濃度勾配溶出した場合、トウモロコシのβ-グルカナーゼとは異なり，オオムギの場合エンド型の方がさきに溶出した。

## 3pB04

発芽期のイネで活性が増大する細胞壁結合β－グルコシダーゼの性質

秋山　高（農水省 北海道農試）

発芽後２日のイネ種子の1M食塩水抽出画分のβ-グルコシダーゼ活性（単位タンパク質量当たり）は、50mMりん酸緩衝液抽出画分のそれより約５倍高く、このことは本酵素が細胞壁結合性であることを示唆した。この1M食塩水抽出画分の酵素活性は発芽後５日で約５倍に増大し、その実生の個々の部位では葉の活性が最も高く、根の約４倍、胚乳の約９倍の活性を示した。葉からフェニルセファロース、Con Aセファロース、スーパーデックス200HRカラム、電気泳動法などを用いて部分精製した酵素は、ゲル濾過法で50,000前後の分子量を、等電点電気泳動法で約8.5の等電点を示した。本酵素はp-ニトロフェニル-β-D-グルコシドをよく分解し、その至適pHは5.5であった。β-結合をもつ二糖類：セロビオース、ラミナリビオース、ゲンチオビオース、ソホロースなどを基質に用いた場合、本酵素は加水分解活性のほか糖転移活性を示し、基質より高い重合度のオリゴ糖を生成した。

## 3pB05

ポプラ培養細胞におけるエンドキシログルカントランスグルコシラーゼ活性の性質

竹田 匠、三石 安[1]、酒井富久美、林 隆久
（京都大・木質研、[1]工技院・生命研）

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ている。このキシログルカンを修飾・分解するエンドキシログルカントランスグルコシラーゼは、主鎖の1,4-β-グルコシド結合を切断すると同時に、その還元末端をオリゴサッカライドに転移させる活性を示す。

ポプラ培養細胞を実験材料として、エンドキシログルカントランスグルコシラーゼ活性を同定するとともに、その性質を検討した。この活性は、培養細胞の対数増殖期前期に誘導され、Buffer-insoluble区画に局在した。その後、対数増殖期中期より徐々に培地中に分泌され、定常期には完全に培地中に可溶化した。ドナーであるキシログルカンの濃度の増加とともに、アクセプターに対する親和性が増大した。また、アクセプターであるXXXGolの濃度の増加は非拮抗的な活性化を示した。各種アクセプターによる効果も調べた。

## 3pB06

アズキ上胚軸細胞壁のキシログルカン分解酵素

田渕彰、保尊隆享、神阪盛一郎 （大阪市大・理・生物）

キシログルカンは植物細胞壁の主要なヘミセルロース性多糖である。キシログルカンの分解が双子葉植物の茎のオーキシン誘導成長の際見られる細胞壁のゆるみに必要であること、またエンドー1，4－β－グルカナーゼやエンド型キシログルカン転移酵素がその代謝に関与することが報告されている。しかし、これらの酵素が細胞壁のゆるみに必要なキシログルカン分解に関与するかは、必ずしも明らかになっていない。

演者らはヨウ素法によるキシログルカンの呈色を指標として、黄化アズキ上胚軸細胞壁に存在するキシログルカン分解酵素について検討した。キシログルカン分解活性は、遠心法によって得られるアポプラスト溶液にはほとんど存在しなかったが、細胞壁標品から1MのNaClで抽出されるタンパク質画分中に認められた。この分解活性を、Con A-Sepharose、MONO-S、Superdex-75 カラムを用いて、部分精製した。主要なキシログルカン分解活性は、MONO-S カラム上でエンドー1，4－β－グルカナーゼ活性のピークと分離された。以上の結果より、本酵素はエンドー1，4－β－グルカナーゼとは異なる酵素であると考えられる。

## 3pB07

エンド型キシログルカン転移酵素の遺伝子発現

冨田英津子，岡本繁久，西谷和彦 （鹿児島大・教養）

植物の生長は細胞を取り囲んでいる細胞壁のネットワークの構築及び再編成と密接に係わっている。しかし、その詳しい分子機構は未だ明かにされていない。キシログルカンは細胞壁ネットワークを構成する主要多糖の一つであり、この切断及び再結合はネットワークの再編成にとって必要不可欠であると考えられる。アズキの上胚軸より演者らが単離したエンド型キシログルカン転移酵素(EXT)は細胞壁中でキシログルカンの繋ぎ換えを触媒する酵素である。植物内でのEXTの働きと植物の生長との関係を明らかにするために、様々な生長段階や様々な器官におけるEXT遺伝子の発現の程度及び生長に伴う細胞壁多糖の量的な変化について解析した。その結果、EXT遺伝子は(1)生長途上にある芽生え、特に茎において特異的に発現していること、(2)茎の中でも細胞壁合成が盛んな中央部分で顕著に発現していること、(3)生長の停止した組織ではほとんど発現していないことなどが明らかとなった。以上のことは、EXTが細胞壁の構築を通して、植物の生長制御に関与していることを強く示唆している。

## 3pB08

エンド型キシログルカン転移酵素（ＥＸＴ）及びＥＸＴ様タンパク質のアズキ植物内での分布

牛ノ浜孝，岡本繁久，冨田英津子，岡澤一秀[1]，浅田起代蔵[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）

植物細胞は細胞壁で囲まれているので細胞が生長するためには細胞壁の再編成が必要である。セルロース微繊維間を架橋しているキシログルカン分子の構造変化は、細胞壁の再編成において重要な役割を果たしていると考えられている。エンド型キシログルカン転移酵素（ＥＸＴ）はこのキシログルカン架橋を繋ぎ変える酵素として、最近、演者らが単離したものであるが、その生理機能はまだ明らかでない。

今回，私達はアズキにおけるＥＸＴタンパク質の分布をウェスタンブロット法で解析した。その結果、生長が盛んなアズキ上胚軸（発芽後6日目）では先端付近から基部までのすべての部位でＥＸＴと思われる約33kDaのタンパク質が検出された。また、細胞壁合成が盛んな中央部から基部に至るまでにはこのタンパク質に加えてもう一つのタンパク質（約31kDa）が検出された。一方、成熟したアズキ（発芽後40日目）では複数のタンパク質が、花や未熟鞘をはじめ様々な器官で検出されたが、その量は上胚軸に比べて少なかった。以上の結果から、アズキにＥＸＴファミリーが存在すること、これらが上胚軸以外にも、花、未熟種子などの器官に存在することが明らかになった。

## 3pB09

エンド型キシログルカン転移酵素のタバコ培養細胞 BY-2 における発現

木下剛，岡本繁久，上舞哲也，加藤郁之進[1]，西谷和彦
（鹿児島大・教養、[1]宝酒造バイオ研）

キシログルカンは細胞壁中のセルロースミクロフィブリル間を架橋している多糖である。この分子のなんらかの構造変化が細胞壁の合成および再構築に必要と考えられる。エンド型キシログルカン転移酵素（EXT）は、キシログルカン分子の繋ぎ変えを触媒する酵素として単離したものであり、細胞壁構築に重要な働きを担っていると考えられる。

私達は、EXTの生理機能を明らかにするためにタバコ培養細胞 BY-2 を用いて、ノーザンブロット法でこの遺伝子の発現様式を調べた。その結果、誘導期、対数期、定常期のどの培養時期の細胞にも一定の遺伝子発現がみられたが、その発現量はタバコの芽生えに比べて弱かった。また、定常期にある培養細胞でも顕著な酵素活性がみとめられた。さらに、アズキ EXT に対する抗体でウエスタンブロット法を行なうと、数種のタンパク質が検出された。しかし、細胞壁を取り除きプロトプラストにすると１種類のタンパク質のみが検出された。以上の結果に基づき、タバコ培養細胞の細胞壁構築における EXT および EXT 様タンパク質の生理機能について考察する。

## 3pC01

マメ科植物によるnear-UVに対する生理学的応答

手塚修文、山口文子[1]、安藤由香[1]、服部郁子[1]（名古屋大・情報文化・自然情報、[1]名古屋大・農・園芸）

1801年にRitterが紫外線を発見して以来これまで 190余年の間、紫外線（400-100 nm）は生物に害作用を及ぼすという俗説が流布されている。しかし、これは必ずしも正しくない。我々は太陽光中の紫外線(solarUV: 400-290 nm)は むしろ植物にとっては必須要因であることを発見して既に報告している（日本植物生理学会:1989-1991，日本植物学会:1991/1992， J. Photochem. Photobiol. 1993)。本大会では、マメ科植物の生育に及ぼすnear-UV(400-300 nm)の作用について報告する。

紫外線不透過の特製ビニールフィルム被覆下のnear-UV 照射・非照射条件下で生育したダイズ・エンドウの生理的変動を調べた。 near-UV照射区では、我々がこれまでに用いた非マメ科植物と同様に、生長は非照射区に比べて旺盛であり、また根粒数の増大、窒素固定能の促進も見られた。さらに矮性エンドウ(品種: Sparkle)では、花芽も多く誘導された。これはnear-UVによる光合成や呼吸の活性化およびアデニンヌクレオチド代謝の活性化などとも深く関係していることが明らかになった。

## 3pC02

シロイヌナズナ普通葉におけるクロロフィル減少に対する紫外線の効果

八田　洋，木立真敏，井上康則，榎並　勲[1]（東理大・理工・応生，[1] 東理大・理・生物）

これまでに多様な生理現象に対する紫外線の影響が報告されてきたが、ここでは特に葉のクロロフィルに対するUVの効果について研究した。播種後２０日後のシロイヌナズナ(Columbia)を材料にクロロフィル減少に対するUV-A(320nm以上)，UV-B(290nm～320nm),UV-C(254nm)の効果を調べた。UV照射後、連続白色光下で、３日間培養(25℃)すると、無照射対照及びUV-Aではクロロフィル量は変化しないのに対し、UV-B,UV-Cでは大きく減少した。UV照射後暗黒下で培養(25℃)すると、対照とUV-Aではクロロフィル量は半分まで減少するのに、UV-B,UV-Cでは、ほとんど減少しなかった。シクロヘキシミド投与は、UV-B,UV-Cと同様の結果もたらした。UV-C照射後の白色光の効果は、アスコルビン酸投与で部分的に、また酸素遮断により完全に打ち消された。これらの結果は、UV照射により核にコードされたタンパク質の合成が抑えられ、白色光下では活性酸素を除くシステムが働かなくなり、一方暗黒下では暗黒によって誘導されるクロロフィル分解系が働かなくなることによりUVの効果が現われたことを示唆している。さらにクロロフィルタンパクの変化とクロロフィルの減少の関係についても言及する予定である。

## 3pC03

ＵＶ－Ｂ照射の紅色酵母Rhodotorula細胞膜機能への影響

秦 恵、多田幹郎[1]（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障害を与える他、光形態形成を引き起こすことが知られている。その際、細胞膜がUV-Bのターゲットの一つとなる。これまでに、強光下で起こる膜の透過障壁能の損傷の他に、弱光下で特異的な生理学的反応が起こることが、細菌や高等植物の細胞では報告されているが、菌類ではそのような研究は少ない。また、その光受容体やそれに関連する反応に対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を用いて、UV-B照射後速やかに起こる細胞反応の検索を行い、これまでに細胞膜エルゴステロールの光変換[1]、$K^+$の排出[2,3]、膜リン脂質の抽出効率の変化等の現象を見出してきた。今回さらにUV-B照射時の①グルコース、アミノ酸の取り込みおよび流出、②p-ニトロフェニルグルコピラノシドの分解反応、③膜電位の変化、④抗酸化剤の添加効果を調べた。これらの反応とこれまで得ていた$K^+$排出、カロチノイド合成、エルゴステロールの光変換との関係から、UV-Bが膜機能に与える影響について考察する。

1) Hada et al. J.Photochem.Photobiol. 17, 127-134 (1993)
2) Hada et al. J.Photochem.Photobiol. 21, 77 80 (1993)
3) Hada et al. Plant Cell Physiol. 34, s74 (1993)

## 3pC04

長波長紫外光(ＮＵＶ)による酵母 Saccharomyces cerevisiae 細胞膜の損傷とその回復

荒見真一郎、秦 恵、村田芳行、多田幹郎（岡山大・農）

【目的】演者らは、ＮＵＶ照射による酵母 S.cerevisiae の不活性化(増殖阻害)について、細胞膜エルゴステロールの光分解が細胞膜機能損傷をもたらし、その結果として不活性化が発現することを報告してきた。本研究では、エルゴステロールの光分解による細胞膜の構造変化を電顕による形態学的観察の結果と共に、細胞膜損傷の回復についての実験結果を報告する。

【方法及び結果】菌体を脱塩蒸留水に懸濁して氷冷下でＮＵＶを照射した後、フリーズエッチング法及び細胞化学法に従って電顕観察に供した。その結果、未照射菌体の細胞膜は滑らかな構造をしているのに対し、照射菌体では、5 J/㎡以上の光量で、膜表面や内部に多くの小孔が生じていることが認められた。このことは、生理学的実験に基づく従来の推察［ＮＵＶによる細胞膜の透過障壁能の損傷はエルゴステロールの光分解による小孔の形成による］を裏付けている。次いで、非照射菌体が24時間後には100%コロニー形成する条件下で、10 J/㎡の光量を照射した菌体のコロニー形成を経時的に調べた。その結果、24時間後には接種菌体の３%だけがコロニーを形成したが、48時間後には45%、72時間後には65%のコロニー形成が認められ、培養時間の延長による増殖能の回復を確認した。そして、この回復が進む培養の過程で、光分解によって減少したエルゴステロール含有量が元のレベルまで増加すること並びに細胞膜の表面構造が非照射菌体のように滑らかになることを認めた。

## 3pC05

ホウレン草に対する近紫外線照射の効果
$H_2O_2$の生成と$H_2O_2$消去系酵素の誘導について

安達浩司、柴田 均（島根大・農・応用生物機能学）

近紫外線が活性酸素の生成源となる経路が報告されているので、近紫外線照射に伴うホウレン草ディスクでの$H_2O_2$の蓄積と種々の近紫外線照射条件下で生育させたホウレン草での$H_2O_2$消去系酵素の誘導を調べた。

ホウレン草ディスク(1.57 ㎠)を25 mMリン酸緩衝液 pH 7.2に浮遊させ、UV-A(FL-20BLB)又はUV-B(螢光ランプ、FL-20SG)照射下での$H_2O_2$生成を比色定量法で追跡した。$H_2O_2$蓄積量はUV-A, -Bのエネルギーに依存して増加し、またその蓄積は照射30分後には定常状態レベルの2.5-2.7 倍になった。

次にUVカット、UV-A、UV-B照射条件下で40-80日間生育させたホウレン草についてアスコルビン酸ペルオキシダーゼ、グアヤコールペルオキシダーゼの比活性を比較したところ、UV-Bを照射したホウレン草ではUVカット区の2-3 倍の上昇を確認した。

さらに可溶性・膜結合型のグアヤコールペルオキシダーゼについて活性染色を行ない、近紫外線照射による酵素タンパクの発現量の変化を調べた結果、UV-B照射した葉ではUVカット区と比較して可溶性では約3.7倍に、膜結合型では約13倍に増加していた。

以上の結果より近紫外線はホウレン草葉内で$H_2O_2$を蓄積させ、$H_2O_2$消去系酵素を誘導させたが、UV-Bによる著しい生育阻害は$H_2O_2$生成のみでは説明できないと考察された。

## 3pC06

ﾅｽの芽生えにおけるﾌﾗﾎﾞﾉｲﾄﾞと紫外線の防御

武田幸作、東近由紀子、深沢利江子（東京学芸大・生物）

紫外線（>300nm)を含む光（＋UV）と紫外線を含まない光条件下（-UV）で育てたﾅｽの芽生えを用いてﾌﾗﾎﾞﾉｲﾄﾞと紫外線に対する抵抗性との関係を調べた。＋UVの芽生えの子葉ではﾌﾗﾎﾞﾉｲﾄﾞの蓄積がみられたが、－UVではそのﾚﾍﾞﾙは非常に低く、両者のﾒﾀﾉｰﾙ抽出物の紫外線吸収ｽﾍﾟｸﾄﾙは、著しい相違を示した。ﾌﾗﾎﾞﾉｲﾄﾞは、＋UVの芽生えでは、子葉のおもに表皮および柵状組織の細胞に局在していたが、－UVの芽生えでは維管束の周囲の細胞に検出されただけであった。一方、両者のｸﾛﾛﾌｨﾙの蓄積量には大きな相違はなかった。これらの芽生えに紫外線（270—410nm, λmax 310 nm)を照射しその影響を比較したところ、子葉の表面が波打つ、子葉がしおれるなどの紫外線による傷害の程度に両者で大きな相違があり、＋UVの子葉は明らかに紫外線に対する抵抗性を示した。このことは、FDA染色による組織化学的比較によっても認められた。

これらのことは、紫外線によるﾌﾗﾎﾞﾉｲﾄﾞ生合成の促進とﾌﾗﾎﾞﾉｲﾄﾞによる有害な紫外線の防御の関係を示している。

## 3pC07

ニンジンの pal-10 は波長の異なる UV-B 光により enhanceされる 2つの enhancer 領域を持つ

竹田淳子、吉田和市[1)]、小関良宏[2)]（京大農化、農生[1)]、東大教養[2)]）

子葉や幼植物の茎の表皮細胞にアントシアンをはじめとするフラボノイド系化合物が蓄積する現象は、植物の持つ紫外線防御機構と考えられてきた。アントシアン合成に関する作用スペクトルは、290nm 付近にピークを示し、UV-B光受容体が関与する反応であることが示唆されているが、このような短波長域の UV-B光受容体に関する実体はほとんど解明されていない。今回は、ニンジン培養細胞を用い、光照射によりすばやく発現するgPAL-10についてそれぞれの 5'上流制御域及びその部分欠損させた領域とレポーター遺伝子 (luciferase) との連結遺伝子を作成し、トランジェントアッセイから求めた光量反応曲線を比較検討した。gPAL-10 全長については光量反応曲線から求めた作用スペクトルは先にアントシアン合成やPAL遺伝子発現で得た作用スペクトルと同様に、 UV-B 域(290nm max)にbroad peakを示した。gPAL-10の 5'上流域は -395bp を境に2つの部分に分けて考えると、-395bp より上流の配列は 300nm 付近の光によってのみ著しく促進され、-395bp より下流（実際は -286bp)の配列は 280-290nm の光によってのみ著しく促進された。gPAL-10の全長 5'上流域で得られた作用スペクトルはこれら 2つの部分による促進効果の和として示される。

## 3pC08

紫外線ＵＶＣ照射イネ実生苗の成長度とＤＮＡ損傷

今泉和光，米倉博子，戸塚良宣，小田　茂，松本英樹[1]，
大西武雄[1]（ＰＬ学園女子短大・植物研，[1] 奈良県立医大）

【目的】植物への紫外線影響の研究は今後の地球環境を考える上で重要である。我々は、植物に対する紫外線の影響を調べる目的で、主食植物として重要であるイネに紫外線ＵＶＣを照射し、照射の影響について成長度やＤＮＡ損傷について調査したのでそれらの結果について報告する。

【材料・方法】実験には日本型イネ（Oryza sativa L. subsp japonica）を用いた。紫外線ＵＶＣの照射は、２５±２℃恒温室内で育成した高さ２０mm程度の実生苗に真上から照射した。紫外線照射の影響評価は、照射後の植物体の地上部（＝茎葉）の伸長（mm）を測定しておこなった。また、ＤＮＡ損傷量はシクロブタン型二量体および（6-4）型二量体それぞれのモノクローナル抗体を用いたＥＬＩＳＡ法で測定した。

【結果】成長度と紫外線量との関係は、照射線量の増加と共に茎葉の伸長度は低下した。また、ＤＮＡ損傷量については紫外線量の増加と共にシクロブタン型二量体および（6-4）型二量体の両者とも増加していた。

一方、紫外線照射後に明所下および暗所下で育成した苗地上部のＤＮＡ損傷量について継時的に測定して損傷の回復能をみたところ、暗回復能はきわめて高く、シクロブタン型２量体よりも（6-4）型二量体の修復のほうが効率が良かった。また、光回復についてはシクロブタン型二量体の修復について幾分みられる程度であった。

## 3pC09

近紫外照射時におけるラン藻 *Synechococcus* PCC7942 での GroEL の発現

野田哲治、柴田　均（島根大学・農・応用生物機能学）

ラン藻、 *Synechococcus* PCC7942 に近紫外線照射（294-395nm）すると16 種類の UV-shock proteins が誘導され、近紫外線に対する防御反応の一環と考察される。これらの UV-shock proteins のうち最も顕著に誘導されるものが GroEL であることが確認された。今回、近紫外線照射下での GroEL の転写、翻訳レベルでの誘導を検証した結果と、ラン藻に存在する近紫外線増感化合物の諸性質について報告する。

*E.coli* GroESL 高発現 clone から GroEL を精製し、anti *E.coli* GroEL IgG を用いてラン藻 GroEL の翻訳レベルでの発現量を測定した。また、*Synechococcus* PCC7942 *groESL* gene をプローブに用い、転写レベルでの発現量を追跡した。

翻訳レベルにおいて、最適エネルギー量は 200μW で、45分で最大に達した。また、$H_2O_2$ による誘導パターンは、近紫外線照射したものと非常によく似ていた。転写レベルでは、200μW、5分で 最大に達した。

また、*Synechococcus* PCC7942 には、近紫外部に吸収を持ち、活性酸素を生成する増感物質が存在する。そこで、この化合物を単離、精製し、その性質について調べた。

活性酸素生成物質は、325nm に吸収極大を示し、分子量は 164 であると決定した。ジアセチルヘム置換したペルオキシダーゼを用いた分光学的分析の結果、この化合物への近紫外線照射によって、$O_2^-$ と $H_2O_2$ が 1:4 の割合で生成することを確認した。

## 3pD01

ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換に対するブロモデオキシウリジンの阻害効果

庄司雄一[b]，[1]杉山宗隆，[1,2]駒嶺穆（東北電力・応技研，[1]東北大・理・生物，[2]現 日本女子大・理・物資生物科学）

私たちは前回（日本植物生理学会1993年度年会），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では修復型ＤＮＡ合成やポリＡＤＰリボース合成が活性化し，ＤＮＡ鎖の切断と再結合が起こることを報告した。また，これまでの知見から総合的に考えて，ＤＮＡ修復系がヒャクニチソウ単離葉肉細胞の分化転換において重要な役割を果たしていると推論している。ここでは，チミジンアナログであるブロモデオキシウリジン（BrdU）を用いて分化転換過程のＤＮＡ合成を解析した結果について報告する。

BrdUは葉肉細胞の管状要素への分化転換を阻害したが，細胞分裂にはほとんど影響を与えなかった。このとき，[$^3$H] BrdUの放射活性は76％がＤＮＡ画分に，24％がＲＮＡ画分に取り込まれていた。チミジンまたはウリジンをBrdUと同時に細胞に投与したところ，チミジンはウリジンに比べて強力にBrdUの効果を打ち消した。この結果からBrdUがＤＮＡに取り込まれて分化転換を阻害することが示された。そこでBrdUとチミジンを組み合わせて細胞に投与してBrdUのパルス処理（12時間）を行い分化転換に対するBrdUの効果を調べたところ，培養24～36時間目のBrdU処理が最も強く分化転換を阻害した。培養24～36時間目には修復型ＤＮＡ合成が最も活発に起こるため，BrdUは修復型ＤＮＡ合成に作用して分化転換を阻害することが示唆された。

## 3pD02

ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素分化において一過的かつ特異的に発現するシステインプロテアーゼ

南　淳、福田　裕穂（東北大・理・生物）

ヒャクニチソウの芽生えの第一葉から単離した葉肉単細胞は、適当な濃度の植物ホルモンを含む分化誘導培地（D培地）中で培養することにより、高頻度かつ同調的に管状要素に分化する．この管状要素の分化の過程の後期に細胞は細胞壁を除く全ての細胞内容物を自己分解し、細胞死に至る。

以前、我々はこの自己分解過程でヘモグロビン分解活性が増大することを報告した。今回はMCA基質を用いた方法によりプロテアーゼ活性の解析をすすめた。培養72時間目においてD培地で培養した細胞には分化誘導されない対照培地中で培養した細胞にくらべ非常に高いZ-Phe-Arg-MCAの分解活性があった。この酵素活性は培養48時間目から72時間目にかけて劇的に上昇し、その後96時間目までに急激に減少した。この活性を担うプロテアーゼを、D培地中で72時間培養した細胞を出発材料として、一連のカラムクロマトグラフィー（CM-Sepharose、Phenyl Superose、Superose12）によって部分精製した。その結果Z-Phe-Arg-MCA分解活性は、Superose12カラムクロマトグラフィーで単一のピークとなり、最終標品の比活性は420倍になった。この部分精製されたプロテアーゼの活性はE-64やロイペプチンで阻害され、DTTにより活性化されることから、自己分解過程で発現するプロテアーゼはシステインプロテアーゼの一種であると考えられた。現在、PCR法を用いたシステインプロテアーゼ遺伝子の単離を行っており、この結果もあわせて報告する。

## 3pD03

ヒャクニチソウ管状要素分化過程におけるNADPH:quinone oxidoreductase 活性

出村　拓，渡辺　誠幸，福田　裕穂（東北大・理・生物）

ヒャクニチソウの芽生えの第一葉から機械的に単離した葉肉細胞は、オーキシン(NAA)とサイトカイニン(BA)を含む液体培地中で高頻度かつ同調的に管状要素（道管・仮道管細胞）に分化する。私たちは、この系を用いて管状要素分化過程初期に強く発現する遺伝子のcDNA クローンを単離してきた。そのうちの一つTED2のmRNAは、管状要素に特徴的な二次壁の肥厚に先だって蓄積されていた。一方、個体内では原形成層と新たに形成されつつある維管束組織に特異的に発現していることが *in situ* hybridization により明らかにされた。TED2のアミノ酸配列は、モルモットの水晶体に特異的なタンパク質（ζ-crystallin）とよく似ていた。このζ-crystallin は、最近NADPHとquinoneを基質とした酸化還元酵素活性を持つことが報告された。

そこで今回私たちは、TED2タンパク質の機能解析の一つとして、管状要素分化を誘導したヒャクニチソウ細胞におけるNADPH:quinone酸化還元酵素活性を測定した。TED2 mRNAは培養開始後24～36時間の間に急激に増加するが、酵素活性は24～48時間の間に増加した。また、ホルモン条件をかえて培養した場合、TED2 mRNAが発現している細胞では高い酵素活性が測定され、TED2の遺伝子産物量との強い相関が認められた。現在この活性の増減が真にTED2タンパク質に由来するものであるかを抗TED2血清を用いて解析している。また、大腸菌中で合成したTED2タンパク質についても、この酵素活性を示すか検討しており、このことも含めて報告したい。

## 3pD04

ヒャクニチソウ管状要素分化におけるTED2タンパク質発現の免疫学的な解析

渡辺誠幸・出村拓・福田裕穂(東北大・理・生物)

私たちの研究室ではヒャクニチソウ葉肉細胞から管状要素(道管・仮道管細胞）への単細胞分化系を開発し、これを用いて植物細胞分化の仕組みについて詳細な解析を行ってきた。管状要素分化過程は前期過程（非制限過程）と後期過程（制限過程）に分けられるが、前期過程から後期過程に移行する時期に強く発現する遺伝子のcDNAが単離されている（TED2,3,4）。そのうちの一つであるTED2は、予想されるアミノ酸配列がモルモットの水晶体特異的タンパク質、ζ-クリスタリンと類似している。そこで、このTED2遺伝子産物の機能と発現を調べるために、私たちは、TED2の組み換えタンパク質を大腸菌中で生成した。さらに、このタンパク質に対する抗体を作成し、TED2タンパク質の免疫学的な解析を行った。

抗TED2抗体を用いて、いろいろなホルモン条件で培養した培養後４８時間目のチャクニチソウ細胞の可溶性タンパク質を調べたところ、TED2タンパク質は分化培地で培養した細胞で強く発現していた。また、分化培地で培養した細胞におけるTED2タンパク質の発現のタイムコースをみたところ、TED2タンパク質は形態形成に先立って発現していた。現在、TED2タンパク質の免疫組織化学的な解析を行っており、この結果も合わせて報告する。

## 3pD05

ＤＤＲＴ－ＰＣＲ法によるナスの不定胚誘導時に特異的に発現する遺伝子の解析

萱野暁明、岡本潔、田部井豊、宮尾安藝雄、美濃部侑三、西村繁夫（農水省・農業生物資源研究所）

ナスの不定胚誘導時に特異的に発現する遺伝子を同定するために、ＤＤＲＴ－ＰＣＲ（Differential Display Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction）法を適用した。ナス子葉切片から高濃度および低濃度の2,4-Dによってエンブリオジェニックカルス（ＥＣ）を誘導する系としない系から，それぞれＲＮＡを抽出し、3'末端にＧＣを付加したオリゴｄＴヌクレオチドをプライマーとして一本鎖ｃＤＮＡを合成した。このｃＤＮＡを鋳型として、３０種の5'側のランダムプライマーと上述の3'側のプライマーを用いてＰＣＲ反応を行い、その産物を変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離した。ＥＣを誘導する組織由来のｃＤＮＡにおいて数本の特異的なＰＣＲ産物のバンドが検出できたので、ＥＣ誘導時の初期に特異的に発現する可能性のある遺伝子の存在がｍＲＮＡのレベルで確認された。ＤＤＲＴ－ＰＣＲ法の有効性についても考察する。

## 3pD06

タバコプロトプラストにオーキシン非要求性を与える遺伝子**AXI1**のダイズ,イネからの単離

大野広道[1]，藤巻秀，中林一彦，Rick Walden[2]，森敏，林浩昭，茅野充男（東京大・農・農芸化学,[1]栗田工業,[2]Max-Planck-Institut für Zűchtungsforschung, Kőln, Germany）

**AXI1**(auxin-independent growth)は、タバコプロトプラスト中で過剰発現させると、オーキシンを含まない培地上でも細胞分裂を引き起こし、カルス形成を可能にする働きを持つ遺伝子である。この遺伝子は、T-DNA tagging法によってタバコ(*Nicotiana tabacum*)より単離されたものである。この遺伝子の機能を解明することにより、オーキシンの作用を知る上で新たな知見が得られると期待できる。本実験では、この**AXI1**が植物の基本的な遺伝子の一つであると考え、ダイズ(*Glycine max* L.cv.Williams)とイネ(*Oryza sativa* L.)からの単離を試みた。

タバコより得られた**AXI1**のcDNA(**cDNA-A**)の一部をプローブとしたプラークハイブリダイゼーションにより、ダイズとイネのゲノムライブラリーからポジティヴクローンを単離し、その塩基配列を解析したところ、アミノ酸配列について**cDNA-A**と80％以上のホモロジーを有する配列をダイズで2種、イネで1種見出した。

現在、得られた遺伝子のオーキシン応答性、環境ストレス応答性について、その発現様式を検討中である。

## 3pD07

ユリの雄性配偶子核特異的H2Bヒストンと豊富H1ヒストンの免疫学的検出

上田健治、田中一朗　（横浜市大・文理・生物）

被子植物の二細胞性花粉内に存在する生殖（雄原）細胞は、雄性配偶子の前駆細胞で、動物の精子同様、高度に凝縮した核（クロマチン）を持つことが知られている。我々はこれまでにテッポウユリの生殖核には、体細胞核と共通なヒストン5分子種（体細胞型ヒストン）と減数分裂の誘導期から出現する"meiotic histone"が存在し、さらにH2Bヒストンの変異体（p22.5）、H3ヒストンの変異体（p18.5）、ノンヒストン（p21）が特異的に、２種のH1ヒストンの変異体（p35、p33）が体細胞核に比して多量に含まれることを見いだした（Planta, 1993）。

本研究では、この生殖核で見いだされた核タンパク質のうち、特異的H2Bヒストン（p22.5）と豊富H1ヒストン（p35）に対する抗血清を作製し、イムノブロットによる抗原の検出を試みた。抗原は、二次元電気泳動後のゲル中から電気的に溶出することで精製し、ラットに免疫注射した。得られた抗p22.5血清は生殖核のp22.5のみを認識し、生殖核や葉核に共通して存在する体細胞型H2Bヒストンは認識しなかった。このことから、p22.5は免疫学的に体細胞型H2Bヒストンとは異なる分子であることが実証された。一方、抗p35血清は生殖核と葉核に含まれるp35を認識した。現在、これらの抗血清を用いてp22.5とp35の花粉発生での出現や蓄積時期等を調査中である。

## 3pD08

カボチャ子葉のセネッセンスにおけるプラスチッドの変動

西村幹夫、武内由佳、加藤　朗、林　誠（基生研、細胞生物）

演者らは先にカボチャ子葉のセネッセンスの過程で、マイクロボディの機能転換が生じ、緑葉パーオキシゾームがグリオキシゾームに変換することを明らかにしている[1)]。今回はこのカボチャ子葉のセネッセンスにおけるプラスチッドの変動を Rubisco 量との関連から検討したのでその結果を報告する。

カボチャの発芽子葉を切断後暗所でインキュベートすると、子葉は徐々に黄化していき、セネッセンスしていく。電子顕微鏡による観察から、子葉のセネッセンスに伴い、ミトコンドリアやマイクロボディの形態はあまり変化しないのに対し、プラスチッドの形態は大きく変動し、グラナ構造の崩壊やプラスチッド内に一次的なデンプンの蓄積が認められた。

一方 immunoblotting による解析から、子葉中の Rubisco の蛋白質はセネッセンスに対応して徐々に減少した。更に、Rubisco の特異抗体を用いた金コロイド電顕法により、プラスチッド中の金粒子の密度がセネッセンスに伴い減少していくことが明らかとなった。この知見はセネッセンスに伴い、Rubisco がプラスチッド内で分解されていくことを示唆している。

1）Nishimura M., Y. Takeuchi, L. De Bellis and I. Hara-Nishimura (1993) Protoplasma, 175: 131-137

## 3pE01

アカパンカビの光による位相変化過程でのカルモジュリンの関与

定金　豊、鈴木さくら、中島秀明（岡山大学・理・生物）

アカパンカビ（*Neurospora crassa*）を用いて生物時計の制御に関わる光の情報伝達過程について調べた。一時的な環境の変化で生物時計の位相が前進もしくは後退する現象は位相変化と呼ばれるが、我々は昨年度の本大会において、光による位相変化の細胞内情報伝達過程に新たなmRNAの合成が必要であることを報告した。

今回、その情報伝達過程においてカルモジュリンが必要かどうか解析した。液体培地法を用いてカルモジュリンアンタゴニストであるトリフロオペラジン（TFP）と光との二重パルス処理の結果、TFPは光による位相変化を完全に阻害することがわかった。また、位相変化阻害の濃度依存性は生長阻害のそれと一致し、30μMで阻害され始めた。さらに、類似構造を持つがカルモジュリンに対して感受性の違う薬剤であるw-7とw-5を使用して、w-7のみが光による位相変化を阻害することを見いだした。TFP感受性変異株を用いた同様の実験についても報告する予定である。

## 3pE02

アカパンカビを用いた概日リズムの宇宙実験

三好泰博，森安裕二，伊関峰生（静岡県立大・国際関係・教養）

概日リズムの特徴は温度や湿度、光の条件が一定でも生じることである。それゆえ、このリズムの発生機構は生物自体の有する内因性のものと考えられている。しかし、地球上で実験する限り、光や温度以外の24時間周期を持つ外的要因、例えば気圧、重力、電磁放射などの影響によりこのリズムが生じている可能性を否定することはできない。また概日リズムの発生機構が内因性であるにしても、微小重力の環境下で地上と同様にリズムが発現するかどうかは興味のある問題である。そこで、本研究では分生子形成に典型的な概日リズムを有するアカパンカビのバンド突然変異株を用いて、そのバンド形成を宇宙で試みた。

その結果（１）飛行試料、地上対照試料とも明確な分生子のバンドパターンが形成された。（２）飛行試料と地上対照試料との菌糸の伸びを比較した場合、飛行試料の方が生長速度は大であった。（３）飛行試料と地上対照試料とで分生子の形態に違いが見られた。本講演では分生子のバンドパターンの解析結果を報告する。

## 3pE03

藍色細菌の生物時計の突然変異体

近藤孝男、石浦正寛　(基礎生物学研究所)

概日性リズムはほとんどすべての生物において観察され昼夜交替する地球上の環境に適応するため機能しているが、その基礎となる生物時計の分子機構は現在でも全く不明である。生化学的解析が困難な生物時計に有効な戦略は、遺伝子導入による形質転換や突然変異の遺伝子解析などを使う分子遺伝学的な方法であろう。しかし概日性リズムの測定には長期の連続測定が必要で、これを能率よく適用出来る実験系はなかった。そこで我々は藍色細菌（らん藻）にレポータ遺伝子として生物発光遺伝子（ルシフェラーゼ）を移入し「人工の時計の針」として機能させ、さらに寒天培地上の各コロニーからもリズムを測定することに成功した。そこで冷却CCDカメラによる自動測定装置を開発し、同時に5000コロニーのリズムを自動測定することを可能にした。これまでEMS処理細胞を150,000クローンをスクリーニングし１５－６０時間に及ぶ１１個の周期突然変異体、７個の低振幅突然変異体を得ることが出来た。

なおこの藍色細菌の生物時計に関するプロジェクトは米国Vanderbilt大C.H.Johnson博士, Texas A&M大, S.S.Golden博士との共同研究である。

## 3pE04

単細胞性藍色細菌*Synechocistis* PCC6803におけるヒートショック蛋白質遺伝子*dnaK*の概日性発現リズム

青木摂之、近藤孝男[1]、石浦正寛[1]（京都大学生態学研究センター、[1]基礎生物学研究所）

概日性リズムは、ほとんどすべての真核生物において見つかっており、最近では、原核生物の藍色細菌においてもその存在が確認されている。

我々は、発光細菌のルシフェラーゼ遺伝子（*luxAB*）を遺伝子発現のレポーターとして単細胞性藍色細菌*Synechococcus* PCC7942に導入することにより、概日性リズムを効率よく追跡するシステムを開発した（Kondo,T., et al.[1993] PNAS 90:5672-5676）。

今回我々は培地にグルコースを添加することにより暗条件でも生育可能な単細胞藍色細菌*Synechocistis* PCC6803 (6803) を実験生物として使用した。いくつかの生物において、熱耐性や、ヒートショックレスポンスに関して概日性リズムが観察されている。我々は、ヒートショックレスポンスにおいて重要な役割を果たすとされるDnaK蛋白をコードする*dnaK*遺伝子に注目し、6803の*dnaK*遺伝子のプロモーター領域をluxAB遺伝子のコード領域と連結したものをゲノム中に導入した。上記のシステムを利用し*luxAB*遺伝子の発現による発光のレベル変動を追跡したところ、概日性リズムの条件を満たしたのでここに報告する。

## 3pF01

FUNCTION OF THE *GA1* GENE IN *ARABIDOPSIS*

Yuji KAMIYA, Tamio SAITO, Tai-ping SUN[1], Frontier Research Program, RIKEN, Wako-shi, Saitama 351-01, Japan, [1]Dept. Botany, Duke Univ., Durham, NC 27708-0338, U.S.A.

The *ga1* mutants of *Arabidopsis thaliana* are gibberellin (GA)-responsive male-sterile dwarf plants. Feeding experiments suggest that GA biosynthesis in the *ga1* mutants is blocked prior to the synthesis of *ent*-kaurene. The *GA1* locus was cloned using the genomic subtraction technique (Sun et al., Plant Cell **4**, 119-128, 1992). We are investigating the function of the GA1 protein in GA biosynthesis and the pattern of *GA1* gene expression in relation to growth and development.

*E. coli* JM109 (pACCRT-E) which contains the *Erwinia* gene encoding geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) synthetase was kindly supplied by Dr. N. Misawa (Kirin Brewery Co. Ltd). *E. coli* cells which contained both the *Arabidopsis GA1* gene and GGPP synthetase were extracted with methanol. Extracts were hydrolyzed by alkaline phosphatase and analyzed by GC-MS. Copalol, which is not endogenous to *E. coli*, and geranylgeraniol were identified by full-scan GC-MS. This result indicates that the *GA1* gene encodes the enzyme, *ent*-kaurene synthetase A, which catalyzes the conversion of GGPP to copalyl pyrophosphate.

## 3pF02

**Gibberellins act early in pea seed development**

Stephen M. Swain[1,2], John J. Ross[1], Yuji Kamiya[2] and James B. Reid[1]. [1]Dept Plant Science, University of Tasmania, GPO Box 252C, Tasmania, Australia. [2]Plant Hormone Function, RIKEN, Wako-shi, Saitama 351-01, Tokyo, Japan.

The $lh^i$ and *ls* mutations have been used to investigate the role of the gibberellins (GAs) in seed development of the garden pea (*Pisum sativum* L.). The $lh^i$ and *ls* mutations reduce endogenous GA levels late in seed development (after the liquid endosperm disappears). This has allowed the site of action of the *ls* and $lh^i$ mutations to be investigated using cell-free enzyme systems from developing seeds. The *ls* mutation reduces kaurene synthetase A activity, while the $lh^i$ mutation may reduce kaurene oxidase activity. The $lh^i$ mutation also reduces endogenous $GA_1$ and $GA_3$ levels in the embryo/endosperm of young seeds (a few days after fertilization), while the *ls* mutation does not reduce GA levels in this tissue compared with wild-type seeds. Seeds homozygous for $lh^i$ are more likely to abort during development, and weigh less at harvest, compared with wild-type seeds and seeds homozygous for *ls*, due to altered embryo and/or endosperm development. Fertilizing $lh^i$ plants with wild-type pollen dramatically increases $GA_1$ and $GA_3$ levels in the embryo/endosperm and restores normal seed development. These results suggest that GAs (possibly $GA_1$ and/or $GA_3$) play an important role early in pea seed development by regulating the development of the embryo and/or endosperm. By contrast, the high GA levels found in maturing wild-type seeds do not appear to have a physiological role in seed development.

## 3pF03

濾紙およびその抽出液による植物種子根伸長の促進

市村一雄、小田雅行（農水省野菜茶試）

われわれはこれまでに市販の寒天、あるいは木質繊維の抽出物がトマトの子葉切片からの不定芽再生およびレタスをはじめとする多くの植物の種子根伸長を促進させることを明らかにしてきた。このことは植物起源の多糖に関係する物質が生理活性をもっている可能性を示唆している。濾紙はワタから精製されたセルロースが主成分である。そこで濾紙（NO.2; 東洋濾紙）の種子根伸長に及ぼす影響を試験した。試験した7科10種のすべての植物において、種子根伸長は濾紙により促進された。そのうち最も効果が大きく、再現性のすぐれていたレタスを以下の試験に用いた。濾紙の熱水抽出液によっても種子根伸長は著しく促進された。それに加えて、濾紙抽出液はトマトの不定芽再生を促進する効果のあることも判明した。種子根伸長促進物質のエタノールに対する溶解性は非常に低かったことから、活性物質は高い極性をもつことが示唆された。種子根伸長促進物質の精製を、Sephadex G-25、Bio-Gel P-2、C18およびAmide80を用いたカラムクロマトグラフィーにより行なった。Sephadex G-25により低分子画分に活性は存在した。C18を除く精製の各段階で、活性は複数の画分に存在した。そのうち3種類のカラムおよびＴＬＣで単一のピークを示す２つの活性画分を得た。以上の結果より、濾紙に含まれる根伸長促進物質は複数存在し、いずれも極性の高い低分子であることが判明した。

## 3pF04

ジャスモン酸によるバレイショ塊茎組織の細胞肥大

高橋淳、藤野介延、喜久田嘉郎、幸田泰則（北大・農・植物）

ジャスモン酸（ＪＡ）は、バレイショ塊茎組織片の生重を短期間のうちに顕著に増加させる。この生重増加は、細胞分裂ではなく細胞肥大に起因している（1992年度年会にて発表）。ＪＡによる細胞肥大の進行過程において、ショ糖含量の大幅な増加と、デンプン含量の低下がみられた。細胞壁構成成分の変化を調べた結果、ＪＡはペクチンおよびセルロース含量を顕著に増加させたか、ヘミセルロース含量には影響しなかった。各種細胞壁合成阻害剤は、ＪＡによる細胞肥大を阻害し、セルロース合成のみを阻害した場合にも細胞肥大が阻害された。以上の結果より、ＪＡはショ糖含量を増加させて細胞内浸透圧を上昇させるとともに、細胞壁合成系に影響を及ぼし壁の伸展性を変化させ、塊茎細胞の肥大を誘起していると考えられた。また、この時セルロース合成が必要不可欠であると推察された（1993年度年会にて発表）。本報では、ペクチンおよびヘミセルロースの分子量分布に及ぼすＪＡの影響について検討を加えたのでその結果を報告する。ペクチンは50 mM EDTAで、ヘミセルロースは17.5% NaOHで抽出し、ゲルクロマトグラフィーを行った。更に、微小管の重合阻害剤であるコルヒチンやイソプロピルフェニルカーバメイト、アクチン繊維の破壊剤であるサイトカラシンＢかＪＡによる細胞肥大を抑制したことから、細胞骨格系の関与が推察されたので、これらの実験結果についても併せて報告する。

## 3pF05

ミカヅキモの有性生殖に機能する性フェロモン(PR-IP)のcDNAクローニングとその遺伝子発現制御

関本弘之、曽根 裕、藤伊 正（筑波大・生物科学）

ミカヅキモの有性生殖には、＋型細胞から放出され、－型細胞のプロトプラスト化を促すフェロモン様糖タンパク質(PR-IP)が機能している。今回、このPR-IPの各サブユニットをコードする完全長cDNAの単離を行い、その遺伝子発現制御機構を検討した。

42kDa及び19kDaのサブユニットは、それぞれ252個と128個のアミノ酸により構成されており、分子量はそれぞれ、27441と14434と推定された。またPR-IPは、それぞれの構成アミノ酸組成から、それぞれのサブユニットが2個ずつ会合した4量体として存在していると推定された。

これらのmRNAの蓄積は、－型細胞から放出されるもう一つの性フェロモン（PR-IP Inducer）の処理により、一過的にしかも全く同時に見られるが暗所では見られなかった。さらに、この両サブユニットをコードする遺伝子は、＋型細胞、－型細胞ともに備えられていることが、ゲノミックサザン解析により確認された。

以上の結果より、PR-IP各サブユニットをコードする遺伝子は、接合型決定などに関わる上位の制御因子の支配下で、PR-IP Inducer及び光の作用を受け、はじめて発現に至ると推定された。

## 3pF06

ミカヅキモ性フェロモン(PR-IP Inducer)の精製と解析

野尻隆裕、藤伊正、関本弘之（筑波大・生物科学）

我々はミカヅキモの有性生殖過程において、+型細胞から放出され-型細胞に対してプロトプラスト化を誘起するフェロモン様糖タンパク質(PR-IP)の関与を明らかにし(Planta 1990)、さらに-型細胞が単独で放出する別のフエロモン様物質の作用により、このPR-IPの放出が誘導されることも明らかにした(P.C.P. 1993)。今回、PR-IPInducerと名付けたこの物質の精製を行い、その特性を検討したので報告する。

PR-IPInducerは、+型細胞に対するPR-IP放出の誘導活性を指標として、カラムクロマトグラフィー(DEAE-Sepharose CL-6B, hydroxylapatite, Sephacryl S-100 HR, Mono Q)により精製された。Mono Qカラムより、その活性は214 nmによる吸収と一致して溶出され、その画分にはSDSゲル電気泳動で見かけの分子量が22 kDaの単一バンドのみが銀染色で検出された。また、マス・スペクトル分析により、絶対分子量が18.7 kの単一標品であったことからも、PR-IPInducerの精製の完了が確認された。標品を用いた濃度応答曲線から、PR-IPInducerは極めて低い濃度(nM以下)でもPR-IPの放出を誘起できることが示唆された。

またCBB染色およびPAS染色でともに陽性であったことからも、PR-IPInducerがPR-IP同様にミカヅキモ(*Closterium peracerosum-strigosum-littorale* complex)の有性生殖過程で機能するフェロモン様活性をもつ糖タンパク質であることも示唆された。

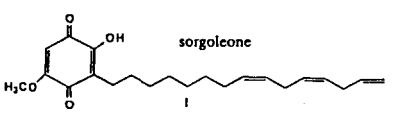
## 3pF07

アレロパシー物質・ソルゴレオンの酸化還元電位

柴田和恵、辻野義雄[1]、大堺利行[2]、鶴見誠二[1]
（神戸大・理・生物、[1]神戸大・自然科学、[2]神戸大・理・化学）

ホウキモロコシ (*Sorghum bicolor*) は、アレロパシー作用をもつ Sorgoleone と呼ばれるキノン物質を土壌中に放出する。Sorgoleone はレタス等の根の伸長を抑制し、その還元型は *Striga asiatica* という寄生植物の発芽を促すことが知られている (Netzly et al., 1988)。また Sorgoleone はNADHを基質とするミトコンドルアでの呼吸を阻害する効果があり、チトクロム *b* とのチトクロム *c1* の間の電子伝達を阻害していると報告されている (Rasmussen et al., 1992)。

そこで Sorgoleone をホウキモロコシから単離し、サイクリック・ボルタンメトリーを使ってその酸化還元電位（$E^{o'}$ *vs.* NHE, pH 6.7）を求めた。Sorgoleone の $E^{o'}$ (−0.01 V)は、デシルユビキノン (0.10 V) よりもネガティブであった。 したがって、Sorgoleone はミトコンドリアにおける電子伝達を阻害するのに十分な酸化還元電位であることが示唆された。




## 3pF08

レピジモイドの植物界における分布

塩家仙子、小瀬村誠治[1]、山村庄亮[1]、長谷川宏司[2,3]
（筑波大・バイオシステム研究科、[1]慶応大・理工、[2]筑波大・応生化、[3]植物情報研究センター）

レピジモイドはクレス発芽種子の分泌液から単離された新規のアレロパシー物質で、他の植物のシュートの成長を顕著に促進する。D-glucose と α-L-rhamnose から合成されたレピジモイドのスペクトルと物理特性が天然のレピジモイドと一致したことからその絶対配置は Na 2-O-L-rhamnopyranosyl 4-deoxy--α-L-threo-hex-4-enopyranosiduronateと決定した。

発芽種子が成長促進物質を分泌するという生物機能の植物界における分布に関して、数10種類の植物についてヒモゲイトウ下胚軸伸長試験に対する活性を指標として調べた結果、程度の差はあっても調べた全ての植物に活性が認められた。生物検定で最も高い成長促進活性を示したホウレンソウ、オクラ、ヒマワリの発芽種子の分泌液から、種々の精製手段を駆使して成長促進物質を数種類単離した。これらの物質の一つはレピジモイドと同定された。これらの結果から、レピジモイドはクレスだけでなく、他の植物でもアレロパシー物質として重要な役割を演じている可能性が示唆される。他の物質の構造は現在、検討中である。

## 3pG01

Acetyl-CoA carboxylase のsubunitの 1 つはchloroplast genome にコードされている

佐々木幸子、袴田一彦、須天由貴子、永野幸生、古沢巌、松野隆一（京大 農）

Acetyl-CoA carboxylase (ACCase) は脂肪酸合成の最初の反応を触媒する酵素で、single subunit からなる真核細胞型酵素だけが植物にあると考えられてきた。しかし、multi-subunit からなる無核細胞型ACCaseの存在を示唆する報告もある。Chloroplast genomeに*E. coli* ACCase のsubunit (*accD*)と homologyのあるORFがあったので、この遺伝子産物の機能を調べた。エンドウchloroplast *accD* を 発現させ、recombinant ACCD に対する抗体を作成した。この抗体はchloroplast からのACCase活性を阻害した。一般にACCase はbiotin 化されている。 抗体沈殿物にはaccD protein の他に biotinyl proteinも存在した。これらの結果はACCDが無核細胞型ACCaseのsubunit であることを示している本研究でchloroplast genomeの 脂肪酸合成に関与する遺伝子が、初めて同定された。

**J. Biol. Chem.**(1993) in press.

## 3pG02

高等植物のアセチルCoAカルボキシラーゼの種類と局在

小西智一, 佐々木幸子 （京都大・農）

アセチルCoAカルボキシラーゼは脂質合成の開始反応を触媒する酵素である。原核生物型のものと真核生物型のものが知られており、高等植物ではイネ科の葉緑体から真核生物型のものの存在が報告されている。

これまで植物細胞には、葉緑体における真核生物型の酵素だけが存在すると考えられていた。ところが、エンドウの葉緑体には原核生物型の酵素が存在した。さらにエンドウは真核生物型の酵素を葉緑体外に持ち、こうした葉緑体外の酵素はイネ科の植物にも見られた。他の高等植物種（腐生性のものを含む）を網羅的に調べたところ、イネ科の植物だけが原核生物型の酵素を欠くことがわかった。原核生物型の酵素のサブユニットの一つは葉緑体ゲノムにコードされているが、イネ科の植物の葉緑体ゲノムはこの遺伝子を欠いている。以上から、高等植物では葉緑体の内外にこの酵素が必須であることが考えられる。これらの酵素がどのような役割分担をしているのかはまだ不明である。

## 3pG03

リンゴ果実のソルビトール脱水素酵素の精製及び性質

山口秀明，金山喜則，山木昭平　（名古屋大・農・園芸科学）

ソルビトールはバラ科植物において多く見られ、転流糖であり、リンゴでの光合成産物代謝において重要な役割を果たす。ソルビトール脱水素酵素（ＮＡＤ－ＳＤＨ）は果実中に転流してくるソルビトールをフルクトースに変えることによって、果実への糖の蓄積を可能としている。

本報告は、植物におけるＮＡＤ－ＳＤＨを精製した最初のものである。リンゴ果実（王林）から抽出した酵素を、疎水性クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニィティークロマトグラフィー、ゲルクロマトグラフィーによって処理することにより、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにおいて主な単一バンドとして現れるまで精製した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥによる６２ｋＤａとゲルクロマトグラフィーによる１２０ｋＤａの分子量より、本酵素が２つの同一サブユニットからなることが明かとなった。本酵素活性の至適ｐＨは、ソルビトール酸化には ９．６、フルクトース還元には ６．０であった。またソルビトールの酸化に対するＫｍ値は３６ｍＭ、フルクトースの還元に対するＫｍ値は２１５ｍＭであり、ソルビトールの酸化に対するＶｍａｘはフルクトースの還元に対するそれの約１０倍であり、ソルビトールをフルクトースに変換する方向に反応が傾いていることが明かとなった。本酵素は、ソルビトール基質に対してのみ特異的に働くのではなく、調べられた基質中、特にエチルアルコールに対して高い親和性を示した。２価金属イオンによる酵素活性の促進は見られなかった。

## 3pG04

ゼニゴケ培養細胞から精製した酸性フォスファターゼの性質

樽井　裕、飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

酸性フォスファターゼは細胞内リン酸代謝において重要な役割をしていると考えられる。赤色光下、２５℃で継代したゼニゴケ(Marchantia polymorpha L.)の培養細胞(Ａ18系統)を材料にして、その可溶性分画から酸性フォスファターゼを抽出した。非変性ゲル電気泳動と活性染色によって、少なくとも３種の酵素(酵素Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ)が検出された。内、２種(酵素Ⅱ、Ⅲ)を硫酸アンモニウム分画、カラムクロマトグラフィー(ＤＥＡＥセルロース、ブチルトヨパール、ヒドロキシアパタイト)、等電点電気泳動で精製した。いずれの酵素も基質特異性が広く、またこれらの活性は、低濃度のモリブデン酸イオン（$I_{C50}$≒１０μＭ）、および高濃度（＞１０ｍＭ）の$K^+$と$Na^+$により阻害された。一方、これらの酵素は、最適ｐＨ（酵素Ⅱ：ｐＨ６．０、酵素Ⅲ：ｐＨ４．５）、ｐＩ（酵素Ⅱ：ｐＩ５．１、酵素Ⅲ：ｐＩ３．６）、ゲル濾過(トヨパール55S, ０．２Ｍ ＮａＣｌ)で求めた分子量(酵素Ⅱ：１８０Ｋ、酵素Ⅲ：１１０Ｋ)において異なっていた。酵素Ⅲは、クエン酸イオンによって阻害された($I_{C50}$≒１ｍＭ)。酵素Ⅱではこの阻害はみられなかった。最適ｐＨから、酵素Ⅱは細胞質に、酵素Ⅲは液胞に存在すると推定される。

## 3pG05

モヤシマメ幼根液胞膜のATP依存$H^+$ポンプにおけるpHの影響

武田裕一[1]、笠毛邦弘[2]、太田英二[1]（[1]慶応大・理工、[2]分子情報・食総研）

液胞膜の$H^+$-ATPaseは主に細胞内pHの恒常性を維持する重要な機能を果たしていると思われる。したがって、ATPに依存する$H^+$輸送活性はそれをとりまくpHにより著しく影響を受けると思われる。そこで、$^{31}$P-NMR法により in vivo にてモヤシマメ幼根の細胞内pHを計測したところ、通常の細胞質及び液胞内のpHはそれぞれ7.3、5.8前後であった。次に、モヤシマメ幼根から液胞膜小胞を単離し、その小胞内外のpHを変えてATP依存$H^+$ 輸送活性をキナクリンの蛍光消光で測定した。その結果、最大の輸送活性を示す小胞外pH（in vivo で細胞質pHに相当）は6.5、小胞内pH（液胞内pHに相当）のそれは7.0付近であり、生来の環境のpHとは異なっていた。これは、いずれも細胞内pHのホメオスタシスを保つための機構であると考えられる。小胞外pHの影響については$^{31}$P-NMR測定において外液pHを変化させたときの細胞内pH変化を説明できる。小胞内pHの影響については、その理由を検討している。

## 3pG06

EFFECTS OF PROCESSING HISTORY ON ENZYME HYDROLYSIS OF SAGO STARCH

Andrew D. POWELL[1], Wen Jia WANG[2] AND Christopher G. OATES[2]. [1]Dept of Botany, [2]Dept of Biochemistry, National University of Singapore, 0511.

Raw sago starch granules obtained from a number of sources were found to be resistant to hydrolysis by a range of amylases. The pattern and extent of granular degradation was dependent on processing history. Poor degradation was characterised by shallow depressions at random locations and reduction in granular size. Increased granular hydrolysis was associated with a "single round hole" predominantly initiated at the end of the granule. This resulted in the excavation of the inner regions of the granule, leaving an empty shell with apparent dimensions of the native granule. Extensive hydrolysis was only possible with prior processing of the granules.

## 3pG07

COTYLEDONARY PROTEINS OF ARTOCARPUS HETEROPHYLLUS LAM. (JACKFRUIT)

Andrew D. Powell[1], Michael Brown[2], Prakash P. Kumar[1] and C. J. Goh[1] [1]Botany Dept., National University of Singapore, Kent Ridge, Singapore. 0511; [2]Botany Dept., Universty of Guelph, Guelph, Ontario, Canada N1G 2W1

The cellular organisation of the asymmetric cotyledons of jackfruit seed is comparable and SDS-PAGE indicates that the subunits of the storage proteins therein are the same. The majority of the polypeptides extracted in 0.05M phosphate buffer are in the 14kD to 25kD molecular weight range and show varying degrees of glycosylation. The 14 and 16kD bands correspond to the alpha and alpha' subunits of the jackfruit lectin- jacalin. Radicle protrusion (germination) was completed 4 to 12 days after addition of water. SDS-PAGE showed that none of the major proteins had been mobilised even after 3 weeks of post-germination growth. Cotyledons could be removed without any deleterious effects on seedling development shortly after the first leaf had expanded.

## 3pH01

大腸菌のモリブデン輸送系遺伝子

藪宏典、佐藤敏生、山本勇（広島大・理・生物科学）

モリブデンを活性部位に持つ種々の酵素が知られている。細胞内へのモリブデンの輸送系をコードする*mod*遺伝子の変異と部分的な塩基配列が大腸菌で報告され、さらに最近になって*mod* operonの塩基配列が*Rhodobacter capsulatus*、*Azotobacter vinelandii*で報告された。大腸菌の*modC*遺伝子の発現は硝酸により促進され、モリブデンにより抑制されることがわかっているが、分子レベルでの転写制御の機構は解明されていない。

今回、嫌気呼吸系の遺伝子発現に働く遺伝子*torR*を調べていたところ、*modC*変異を回復させるDNA fragmentを分離した。このDNA fragmentは４つのORFを含んでおり、ホモロジー検索の結果、その一つが既知の*modC*遺伝子と一致した。ORF1は257アミノ酸残基からなり、N末端に典型的なシグナルペプチドを持っていた。ORF2、ORF3はそれぞれ229、352アミノ酸残基からなる蛋白をコードしていた。これら各々の蛋白は光合成細菌やアゾトバクターのModABCと高いホモロジーを持ち、各ORFはoperonを形成しているものと予想され、各々の遺伝子を*modA*、*modB*、*modC*と命名した。

## 3pH02

ラン藻*Synechococcus* 6301 *rpsA*遺伝子の構造と染色体ゲノム上の位置

杉田護、杉田千恵子、金子貴一[1]、松林徹[1]、杉浦昌弘（名古屋大学遺伝子実験施設、[1]かずさディー・エヌ・エー研究所）

*Synechococcus* 6301から分離した38 kDa ssDNA結合蛋白質のN末端分析と遺伝子構造の解析を行なった。その結果、決定したN末端配列を含む307アミノ酸残基をコードするORFを見いだした。蛋白質データベースを検索したところ、ホウレンソウの葉緑体リボソーム蛋白質ＣＳ１と最も高い相同性（47%）をもつことが判明した。そこで、このORFをリボソーム蛋白質Ｓ１遺伝子と同定し*rpsA*と命名した。*Synechococcus rpsA*はシングルコピー遺伝子で、*str*オペロンとRNA結合蛋白質遺伝子*12rnp1*の間に位置する125 kb *Swa*IDNA断片にマップされた。大腸菌の*rpsA*と*str*オペロンは2,000 kb以上離れていることから、ラン藻と大腸菌ではリボソーム蛋白質遺伝子群の配置が大きく異なることが示唆される。

## 3pH03

ラン藻*Synechococcus* PCC7942 の *nirA* オペロン上流域に位置する ＣＲＰ型転写因子 と ＡＢＣ型膜輸送体サブユニットをコードする遺伝子の構造と機能の解析

堀江宣行，菊地裕之，鈴木石根，杉山達夫，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

*Synechococcus* PCC7942 の *nirA* オペロンは、硝酸イオンの取り込みと還元に関わる６つの遺伝子から成るが、その上流にも硝酸同化系の最大活性の発現に必要な２つの遺伝子*nirB* (ORF1)と*ntcB* (ORF2)が *nirA* と逆向きに存在している（堀江他、1993年度年会）。本研究ではさらに *ntcB* の 365bp 下流に位置する ORF3(696bp)と ORF3 から 248bp 離れて存在する ORF4 について構造と機能を調べた。ORF3 のコードするタンパク質は大腸菌の CRP(cAMP receptor protein)と27%の相同性をもつことから転写調節因子であると推定されたが、これを破壊しても顕著な変異形質は得られず、その生理機能を特定することはできなかった。一方、ORF4のコードするタンパク質は細菌のABC型輸送体のうち、特に細胞表層のタンパク質や多糖の分泌に関与する輸送体の ATP結合性サブユニットと高い相同性を示した。ORF4の欠失株は乾燥したコロニーをつくり、リゾチームに対する感受性が高いので、細胞表層の性質に変化が起きているものと結論された。これらの事から ORF4 は細胞表層へのタンパク質あるいは多糖の輸送に関わるものであると推定された。

## 3pH04

ラン藻*Plectonema boryanum* の*chlL*－*chlN*（プロトクロロフィリド還元酵素遺伝子）周辺の遺伝子解析

三上亜希,藤田祐一[1],高橋康弘,長谷俊治[1],松原央（大阪大 理 生物,[1]大阪大 蛋白研）

クロロフィル生合成の一過程、プロトクロロフィリド(Pchlide)からクロロフィリドへの還元反応には、光依存性と非依存性の２種の系がある。私達は、完全暗所でも従属栄養的に生育できるラン藻*P. boryanum*を用いて光非依存性Pchlide還元系の分子遺伝学的解析を進めており、既に*chlL(frxC)*、*chlN*(ORF467)両遺伝子がこの反応に関与することを明らかにしている。一方、光合成細菌*Rhodobacter capsulatus*では相同な遺伝子として*bchL*、*N*、加えて第３の遺伝子*bchB*が報告されている。そこで今回、*P. boryanum*の*chlL*、*N*周辺に関連遺伝子が存在するのではないかと考え、その解析を行なった。

全長7.6kbのDNA断片について塩基配列を決定したところ、*chlL*、*N*周辺にいくつかのORFが見出された。(ORF451-ORF147-*chlL*-ORF133-*chlN*-ORF288-ORF303；矢印は転写方向を示す) ORF303産物は酵母のビス（５'－アデノシル）四リン酸ホスホリラーゼIおよびIIと約20％の相同性を示す。またORF451産物は、N末端側とC末端側が各々細菌の情報伝達系である二成分系のresponse regulator、sensor kinaseに類似性を示した。いくつかのORFについては、その機能を明らかにするため、カナマイシン耐性遺伝子カートリッジを挿入した遺伝子破壊株を作成し、それら変異株の解析を行なっている。また、遺伝子の転写単位、転写制御についてもNorthern hybridizationによる解析を進めているので、その結果も併せて報告する。

## 3pH05

単細胞緑藻クロレラC-27株(*Chlorella ellipsoidea* C-27)葉緑体ゲノムの物理地図と遺伝子構成

永井俊幸、Meenu Kapoor、若杉達也、杉浦昌弘、伊藤万里[1]、續順子[1]、中島けい子[1]、堀畑真希[2]、佐藤公行[2]、岩崎真幸[3]、浜田玲[3]、井戸由樹[3]、稲村篤[3]、北脇靖子[3]、吉永光一[3]（名古屋大・遺伝子、[1]椙山女学園大・生活科学、[2]岡山大・理・生物、[3]静岡大・理・化学）

我々は単細胞緑藻クロレラC-27株(*Chlorella ellipsoidea* C-27)葉緑体ゲノムの全構造解析のために、その物理地図と遺伝子地図を作成した。まずクロレラC-27株の葉緑体DNAの *Bgl*Ⅱ および *Eco*RⅠの部分分解断片をシャロミドベクターを用いてクローン化し、クローンバンクを構築した。そしてこれらのクローンの配置および物理地図を決定することにより葉緑体ゲノム全体の物理地図を作成した。さらに各クローン内の塩基配列を部分的に決定し遺伝子の存在を調べた。その結果、クロレラC-27株の葉緑体ゲノムは全長約154kbpで、クロレラC-87株の場合とは大きく異なり逆位反復配列が存在せずrRNAオペロンは１コピーしかなかった。また16S rRNA、23S rRNA遺伝子は多くの植物の場合と同様タンデムに並んでいることが分かった。遺伝子構成については多くの遺伝子は陸上植物のものと共通であったが、高等植物の葉緑体ゲノム上には存在しない遺伝子もいくつか見つかった。

## 3pI01

植物ミトコンドリア$F_1$-ＡＴＰase核支配サブユニット遺伝子の発現制御の解析

前尾健一郎、森上敦、中村研三（名大・農・生化）

ミトコンドリア（Mt.）は植物体の全ての細胞に存在するが、篩部伴細胞やタペート細胞などには著しく多量のMt.が存在する事が知られている。Mt.内膜の酵素$F_1$-ＡＴＰaseは核とMt.の２つのゲノムの遺伝子により支配される６つのサブユニットからなる。この酵素複合体の形成には各サブユニット遺伝子間に何らかの協調的な発現制御機構が存在すると考えられ、我々はこの発現制御機構の解明を目的に、これまでにこの酵素の４つの核支配サブユニットγ、δ、δ'、εのｃＤＮＡとMt.支配のα-サブユニット遺伝子を単離してきた。

今回、$F_1$-ＡＴＰaseのδ-サブユニットｃＤＮＡを用いてサツマイモゲノミックライブラリーから２つの異なる核遺伝子を単離した。この２つの遺伝子の転写開始点の５'上流域は約２kbに及んで相同な配列を持つが、片方には他方にはない挿入配列が存在していた。この２つの遺伝子の５'上流転写制御領域とＧＵＳレポーターとの融合遺伝子をタバコ及びタバコ培養細胞ＢＹ-２に導入してその発現を比較した。その結果、２つの融合遺伝子の形質転換タバコでの発現は茎・葉ではほぼ同じレベルの発現を示したが、根において両者に明かな違いがみられた。また、形質転換ＢＹ-２細胞での植え継ぎ後の発現の経時的変化にも２つの融合遺伝子の間で明かな違いがみられた。形質転換タバコのＧＵＳ組織染色の結果、いずれの融合遺伝子の場合にも茎の内部篩部や根端において最も強い染色がみられた。

## 3pI02

*tmr*遺伝子プロモーター発現に対する植物ホルモンの影響

亀田卓二、猪口雅彦、加藤次郎（岡山理科大・理・生物化学）

*Agrobacterium tumefaciens*の病原因子であるTiプラスミドにコードされているT-DNA遺伝子には、植物ホルモン合成酵素遺伝子*tms1, tms2*（オーキシン合成）及び*tmr*（サイトカイニン合成）が存在する。我々はこれらの遺伝子のうち、*tmr* 遺伝子(T-cyt, iptなどとも呼ばれる)のプロモーター領域をGUS遺伝子に結合した融合遺伝子（P*tmr*-GUS）を作成し、タバコ及びその他の植物に導入して発現特性を解析している。タバコ形質転換体を用いた組織化学的解析の結果、組織非特異的に強い活性が観察された。又、組織形態の変化（カルス等）に関わらず発現することも示された。一方、*tmr*遺伝子と*tms*遺伝子が、両方とも導入された植物よりも、*tmr*遺伝子が単独で導入された植物の方が、内生サイトカイニン含量が高い。この様な知見から、今回、このP*tmr*-GUS融合遺伝子を導入したタバコ形質転換体を用いて、外生的に各種植物ホルモンを添加した場合の、*tmr*遺伝子プロモーター発現に与える影響を調べた。その結果、オーキシン, サイトカイニン, アブシジン酸, ジベレリンの各ホルモンのうち、サイトカイニンのみが多少抑制的に働き、その他はいずれも促進的であった。特に、オーキシン（2,4-D）による促進が観察された。このことから、*tmr*, *tms*遺伝子が共存するときの、内性サイトカイニン含量の低下は、*tms*遺伝子によるオーキシン含量の増加が、*tmr*遺伝子発現を抑制した為ではないことを示唆するものと思われる。

## 3pI03

Riアグロピン合成酵素遺伝子の組織特異的発現の解析

岡真理子、猪口雅彦、加藤次郎（岡山理科大・理・生物化学）

*Agrobacterium*が感染して生じる腫瘍組織で産生されるオパインのうち、アグロピンの産生はTiプラスミドにもRiプラスミドにもコードされている。しかし、両者による形質転換体のアグロピン産生は、組織特異性に差異のあることがオパインアッセイの結果により示唆された。Tiプラスミド由来のアグロピン合成酵素遺伝子(*ags*)の発現特性については、カルス組織及び再分化植物体の生長点で特異的に発現することを既に報告した。そこで、今回Ri我々はプラスミド由来の*ags*遺伝子の発現特性について解析した。まず、*A. rhizogenes* A4株をタバコに感染させて得た毛状根から再分化植物体及びカルスを誘導し、各器官・組織でのアグロピン産生を濾紙電気泳動法により調べた。その結果、毛状根、再分化植物体の根及びカルスで産生量が多く、次いで、葉、茎の順であった。Ti形質転換体がカルスのみで多く産生されたのに対して　Ri形質転換体では根でも多く産生されることが特徴的であった。現在、更に、ノーザン法により、転写量の変化についても解析を進めている。次に、プロモーターレベルでの発現特性をRi解析するためにRiプラスミドから*ags*遺伝子のプロモーター領域を単離し、GUS遺伝子と融合遺伝子を作成して、タバコに導入した。形質転換植物体におけるGUS活性を組織化学的に観察した結果、Ti-*ags*プロモーターではGUS活性が生長点に局在していたのに対して、Ri-*ags*プロモーターでは根で強い活性が見られ、特に伸長帯部分での活性が強かった。

## 3pI04

ニンジン組織培養系を用いた不定胚形成過程における*rolC*プロモーターの発現調節領域の解析

藤井伸治、横山隆亮、内宮博文（東大・分生研、'北大・理）

ニンジンの培養細胞系では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、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の発現が不定胚発生の進行に依存して上昇することを明らかにした。さらに不定胚発生に伴う発現活性の増大を担う*cis*領域の解析を試みた。*rolC*プロモーターの-255bpより上流を欠失した場合、及び-255bpより+2bpを欠失させた場合において不定胚発生に伴うGUS活性の上昇は認められた。また、*rolC*プロモーターの-848bpから-94bpを35Sコア領域の上流に組み込んだ場合は上記の発現パターンが検出されたが、-255bpから-94bp、及び-848bpから-255bpの領域を35Sコア領域の上流に組み込んだ場合は消失した。これらの結果より不定胚における遺伝子発現の活性化には、*rolC*プロモーター上の複数の領域が関与している可能性が示唆された。

上記の発現活性が検出された最小領域である-255bpまでを含む領域に注目し、この領域に結合する因子の検出をゲル移動度シフト法により行った。-271bp/-174bp、-203bp/-92bp、-94bp/+23bpそれぞれの領域には、poly(dA-dT)·poly(dA-dT)により競合阻害される因子のDNA結合活性が検出された。また-271bp/-174bpの領域にはpoly(dA-dT)·poly(dA-dT)によっては競合阻害されず、-271bp/-174bpのDNA断片により競合阻害を受ける因子のDNA結合活性が検出された。

## 3pI05

タバコ遺伝的腫瘍誘導過程におけるNg *rolB*-GUSの発現様式

永田典子，古園さおり'，関根政実'，新名惇彦'，庄野邦彦（東大・教養・基礎科，'阪大・工・応用生物工学）

*Nicotiana glauca* のゲノム中には、Ri プラスミドのTL-DNA領域と相同性のあるcT-DNAが存在する。我々は既に、*N. glauca*と*N. langsdorffii* の交雑で生じるF1植物の遺伝的腫瘍組織において、cT-DNA内のNg *rolB*、*C*が発現していることを示した。今回さらにNg *rolB*-GUS 融合遺伝子を用いたトランスジェニックF1植物で、腫瘍化・脱腫瘍化に伴うNg *rolB*の発現パターンの変動をGUSの酵素活性及び組織化学的染色により解析した。正常型F1植物においてはどの器官（根・葉・茎）でも全体的にGUS活性は低く、発現部位は根端細胞や維管束組織等に限られていた。遺伝的腫瘍はこの正常型F1植物が老化した場合、または傷害を受けることにより種々の組織に生じるが、どちらの場合でも腫瘍化組織においてGUSの強い発現がみられた。特に葉の cutting 処理による腫瘍誘導では cutting 後3日で分裂細胞部位にGUSの発色が観察され、腫瘍化の早い段階からNg *rolB*が発現することが明らかになった。cutting 後10日頃になると、GUSの発現は形成され始めたばかりの芽原基様構造に集中し、その後の継代培養下の shooty teratoma 型の腫瘍組織でも芽原基様構造に局在した。また遺伝的腫瘍組織をNAA添加MS固形培地で培養したところ、発現部位の組織特異性は維持されたまま発現量が上昇することが確認された。なお以上のNg-*rolB*で得られた発現の時間経過及び発現部位の局在性の結果は、Ri *rolB*-GUS 融合遺伝子を用いた場合においてもほぼ同様であった。

## 3pI06

アブラナ科植物の形質転換とS糖タンパク質に関する研究

柴博史，山川清栄，真鍋麻里，塩沢秀幸，磯貝彰，鳥山欽也'，渡辺正夫'，日向康吉'，鈴木昭憲　（東大農化，I. 東北大農）

アブラナ科植物の自家不和合性に関わる物質として、柱頭特異的な発現を示すS糖タンパク質(SLG)およびS糖タンパク質を細胞外ドメインとしてもつレセプタープロテインキナーゼ(SRK)の存在が挙げられているが、それらの具体的な機能は明らかでない。演者らはこれらの物質の機能を明らかにするためにアンチセンスSLG遺伝子をアブラナ科植物に導入することにした。それに伴いアブラナ科植物B.campestrisの形質転換系の確立も並行しておこなった。本報では、これまでの実験の経緯と結果について報告する。

アブラナ科植物B.campestrisのS⁹ホモ系統株の柱頭より単離したS糖タンパク質をコードするcDNA (SLG⁹)を、SLGのプロモーターの影響下でアンチセンスに発現するようにSLGプロモーターの下流にSLG⁹を逆向きに連結して、pBIベクターに導入した植物導入用ベクターを作成した。これをAgrobacterium tumefaciens EHA101株を用いて数種のB.campestrisあるいはB.oleraceaの子葉または胚軸にバイナリーベクター法によって導入した。現在いくつかのshootの形成がみられている。またB.campestrisの1系統では毛状根からの再分化個体の獲得を目的としてRiプラスミドを持つR1000株を用いてバイナリーベクター法によって導入し、毛状根を得ることができた。今後これらのshootあるいは、毛状根について詳細な解析を行う予定である。

# 発表者名簿

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| Aguan, K. | 秋田農短大 | 3aD01 |
| Aspuria, E. T. | 東京大・分生研 | 2pG05 |
| Beachy, R. N. | Scripps研 | 1pI12 |
| Berberich, T. | 秋田農短大 | 3aD01 |
| Bray, E. A. | カリフォルニア大 | 2pD02 |
| Brown, M. | Botany Dept., Univ. Guelph | 3pG07 |
| Cogdell, R. J. | Dept. Botany, Univ. Glasgow | 3pA03 |
| Cox, R. | Odense大 | 3aA07 |
| De Ruiter, G. A. | 農水省・果樹試 | 2aG06 |
| Deshnium, P. | 基生研 | 1aD10 |
| Ding, B. | UCD | 2pG06 |
| Dismukes, G. C. | Princeton大・化 | 1pH11 |
| Douce, R. | CENG・フランス | 2aE05 |
| Dutton, P. L. | ペンシルバニア大 | 3aA04 |
| Dzuba, S. A. | ロシア科学アカデミー | 2aH05 |
| Efremov, I. P. | Yakutsk Inst. Biol. | 3aD06 |
| Fan, H. | 名古屋大・遺伝子 | 1aI08 |
| Giesman-Cookmeyer, D. | NCSU | 2pG06 |
| Goh, C. J. | Bot. Dept., Natl. Univ. Singapore | 3pG07 |
| Guyer, D. | Ciba-Geigy Corp., USA | 2pC07 |
| Hormann, H. | Würzburg Univ. | 2pA05 |
| Huber, S. C. | North Carolina State Univ. | 1pI11 |
| Hyun, L. B. | 名古屋大・生物応答センター | 2pA01, 2pA02 |
| Jacques, J. | CENG・フランス | 2aE05 |
| Kang, B. G. | Dept. Biol. Sci., Yonsei Univ. | 3aF04 |
| Kapoor, M. | 名古屋大・遺伝子 | 3pH05 |
| Kapoor, S. | 名古屋大・遺伝子 | 3aH02 |
| Keith, K. | トロント大・植物 | 3aF02 |
| Kendrick, R. E. | 理研・フロンティア | 1pA12 |
| Kossel, H. | フライブルグ大・生物研 | 2aE09, 2aE10 |
| Kumar, P. P. | Bot. Dept., Natl. Univ. Singapore | 3pG07 |
| Le Van, H. | 広島大・総科 | 3aB07 |
| Lessard, P. A. | Monsanto | 1pI12 |
| Limantara, L. | 関西学院大・理 | 3aA12, 3pA03 |
| Loewus, F. A. | ワシントン州立大・生物化学研 | 1aF10 |
| Lommel, S. | NCSU | 2pG06 |
| Lopez-Juez, E. | 理研・フロンティア | 1pA12 |
| Los, D. A. | 基生研 | 2aI01 |
| Lucas, W. J. | UCD | 2pG06 |
| Marco, E. | Faculty Sci., Univ. Autonoma de Madrid | 2aB11 |
| McCourt, P. | トロント大・植物 | 3aF02 |
| Melis, A. | カリフォ・バークレー | 1pB09 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| Miller, M. | Odense大 | 3aA07 |
| Moon, B. Y. | 基生研 | 1pH04 |
| Moser, C. C. | ペンシルバニア大 | 3aA04 |
| Moses, M. S. | カリフォルニア大 | 2pD02 |
| Nemson, J. A. | カリフォ・バークレイ | 1pB09 |
| Nevins, D. J. | カリフォルニア大・デイビス校 | 2aF09 |
| Oates, C. G. | Dept of Bot., Natl. Univ. Singapore | 3pG06 |
| Orus, I. | Faculty Sci., Univ. Autonoma de Madrid | 2aB11 |
| Perata, P. | ピザ大・植物生理 | 1aD03 |
| Pilet, P. E. | ローザンヌ大 | 2pF01 |
| Pomprasirt, S. | 早稲田大・教育 | 2aD10 |
| Powell, A. D. | Dept. of Bot., Natl. Univ. Singapore | 3pG06, 3pG07 |
| Reid, J. B. | Dept. Plant Science, Univ. Tasmania | 3pF02 |
| Rodriguez, R. L. | カリフォルニア大・デイビス校 | 3aI12 |
| Ross, J. J. | Dept. Plant Science, Univ. Tasmania | 3pF02 |
| Ryals, J. | Ciba-Geigy Corp., USA | 2pC07 |
| Samarajewa, P. K. | 東京大・分生研 | 1pI08 |
| Scheidegger, A. | 日本チバガイギー・国際科研 | 2pC07 |
| Schreiber, U. | Würzburg大 | 2aD04, 2pA05, 2pA06, 2pA07, 2pA08 |
| Setiady, Y. Y. | 広島大・総科 | 3aI02 |
| Sun, T.-p. | Dept. Bot., Duke Univ. | 3pF01 |
| Swain, S. M. | Dept. Plant Science, Univ. Tasmania, 理研 | 3pF02 |
| Vera, A. | 名古屋大・遺伝子 | 3aH03 |
| Vermass, W. F. J. | アリゾナ州立大 | 1aH07 |
| Vigh, L. | 基生研 | 2aI01 |
| Volrath, S. | Ciba-Geigy Corp., USA | 2pC07, 2pC08 |
| Walden, R. | Max-Planck-Institute | 3pD06 |
| Wang, W. J. | Dept. Biochem., Natl. Univ. Singapore | 3pG06 |
| Ward, E. | Ciba-Geigy Corp., USA | 2aI08, 2pC07, 2pC08 |
| Wunsch, C. | 東京都立大・理 | 1pE10 |
| Yoon, I. S. | 名古屋大・農 | 3aF04 |
| Youssefian, S. | 秋田農短大・生工研 | 2aG12, 2aI05, 2pG04 |
| 徐 本美 | 北京植物園 | 1aA02 |

## あ

| | | |
|---|---|---|
| 相澤 克則 | 基生研・細胞生物 | 1pB09, 1pB10, 1pB11 |
| 青木 考 | 金沢大・理・生物 | 3aG09 |
| 青木 摂之 | 京都大・生態研 | 3pE04 |
| 青木 俊夫 | 岩手生物工学研究センター | 2aF12 |
| 青木 直大 | 埼玉大・理・生化 | 2aB07 |
| 青木 秀之 | 京都大・食研 | 2aA10 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 青野 光子 | 国立環境研・生物 | 2aD01 |
| 赤池 美紀子 | 名古屋大・農・生化 | 3aI06 |
| 赤沢 堯 | 名古屋大・農・生化学制御 | 1aD03 |
| 明石 哲行 | 大阪大・蛋白研 | 1pI14 |
| 赤星 英一 | 東京大・農・農化 | 2aI04 |
| 秋月 岳 | 京都大・農・農化 | 2aE07 |
| 秋山 高 | 農水省・北海道農試 | 3pB04 |
| 浅田 起代蔵 | 宝酒造・バイオ研 | 3pB08 |
| 浅田 浩二 | 京都大・食研 | 1pH11, 1pH12, 2aD02, 2aD04, 2aD05, 2pA05, 2pA06, 2pA07, 2pA08, 3aG10, 3aG11 |
| 浅田 哲弘 | 大阪大・理・生物 | 1aE10 |
| 浅野 正寛 | 東京理科大・基礎工・生物工 | 2aA06 |
| 朝山 宗彦 | 茨城大・農 | 1aF04 |
| 芦刈 俊彦 | サントリー基礎研 | 1pI14 |
| 芦田 裕之 | 島根大・遺伝子 | 2aA02 |
| 東 順一 | 京都大・農 | 1aB02 |
| 足立 香織 | 日本女大・理 | 2aF07, 3aB05 |
| 安達 浩司 | 島根大・農・応生 | 3pC05 |
| 足立 堯 | 明治製菓・生科研 | 1aF04 |
| 安積 良隆 | 神奈川大・理・応生 | 2aI12 |
| 穴井 豊昭 | 北海道大・理・植物 | 2pG05 |
| 阿部 二朗 | 農水省・北海道農試 | 3aD07 |
| 阿部 知子 | 理研・植物機能 | 1aG03 |
| 安部 久 | 北海道大・農・森林科 | 2pI06 |
| 安部 弘 | 理研・植物生活環制御 | 1aG07 |
| 阿部 浩人 | 筑波大 | 1aF01 |
| 阿部 美紀子 | 鹿児島大・理・生物 | 1aF02 |
| 尼子 克己 | 京都大・食研 | 3aG10 |
| 天野 悦夫 | 農水省・生物研 | 1aA07 |
| 荒井 建之 | 東京工大・生命理工 | 1pF13 |
| 荒井 嘉貴 | 東京理科大・基礎工 | 3aF12 |
| 荒川 圭太 | 北海道大・低温研 | 3aD03 |
| 荒見 真一郎 | 岡山大・農 | 3pC04 |
| 有井 康博 | 甲南大・理・生物 | 1pB03 |
| 安東 郁男 | 農水省・農研センター | 1aF05 |
| 安藤 俊哉 | 金沢大・理・生物 | 1aD08 |
| 安藤 由香 | 名古屋大・農・園芸 | 3pC01 |


## い


| | | |
|---|---|---|
| 飯田 滋 | 東京理科大・基礎工 | 2aA05, 2aA06, 2aA07 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 飯野 盛利 | 大阪市大・理・植物園 | 2aF11, 3aF10, 3pG04 |
| 猪川 倫好 | 筑波大・生物 | 1aA09 |
| 五十嵐 隆夫 | 国立環境研・生物 | 2aD01 |
| 生田 安喜良 | 東京理科大・基礎工 | 3aF12 |
| 生田 和江 | 広島大・理・生物 | 2aE06 |
| 池内 昌彦 | 東京大・教養・生物 | 1aH07, 2aH11 |
| 池上 勇 | 帝京大・薬 | 1aH08, 1pH02 |
| 池澤 泰成 | 立教大・理・化 | 1pG14 |
| 池田 篤治 | 京都大・農・農化 | 1pG07 |
| 池原 規勝 | 琉球大・理・生物 | 1pA14 |
| 諫山 俊之 | 広島大・理・遺伝子科 | 1pD12 |
| 石井 忠 | 農水省・森林総研 | 3aB06, 3aB09, 3aB10 |
| 石井 龍一 | 東京大・農 | 2aB12 |
| 石浦 正寛 | 基生研 | 3pE03, 3pE04 |
| 石川 鉱 | 北海道大・地球環境・環境分子生物 | 2pI07 |
| 石川 孝博 | 近畿大・農・食栄 | 2aB03 |
| 石川 隆之 | 農水省・国際農研 | 1aD05 |
| 石川 雅之 | 北海道大 | 2pC05 |
| 石垣 賢一 | 京都大・農・農化 | 1aB05 |
| 石木 康史 | 千葉大・園芸 | 3aF03 |
| 石黒 澄衛 | 基生研・遺伝子第1 | S1pC1 |
| 石沢 公明 | 東北大・理・生物 | 2pF05 |
| 石谷 学 | 名古屋大・分子応答センター | 1pD01, 1pD02 |
| 石田 さらみ | 東京大大学院・理 | 2pI02 |
| 石塚 皓造 | 筑波大・応生 | 2pG04 |
| 石原 邦 | 東京農工大・農 | 3aH07 |
| 石橋 百枝 | 東京大・理・植物 | 2pB07 |
| 石丸 明恵 | 東北大・農・園芸 | 1aG06 |
| 石渡 裕 | 東京大・農・農化 | 3aG05 |
| 泉井 桂 | 京都大・農・農生 | 3aG08, 3aH10, 3aH11 |
| 伊関 峰生 | 静岡県立大・国際関係・教養 | 3pE02 |
| 磯貝 彰 | 東京大・農・農化 | 3pI06 |
| 井田 和子 | 大阪女大・基礎工 | 1pB08 |
| 井田 正二 | 京都大・食研 | 1aA01, 2aA10, 2aA11 |
| 市川 久詞 | 埼玉大・理・生化 | 2pD04 |
| 一瀬 勇規 | 岡山大・農 | 1aF09 |
| 市村 一雄 | 農水省・野菜茶試 | 3pF03 |
| 市村 和也 | 横浜市大・木原生研 | 2aG07 |
| 井手口 隆司 | 大阪大・蛋白研 | 1pI14 |
| 伊藤 一弥 | 新王子製紙・林木育種研 | 2pC04 |
| 伊藤 繁 | 基生研 | 1aH08, 1aH09 |
| 伊東 隆夫 | 京都大・木研 | 3aB05 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 伊藤 卓也 | 京都大・理・植物 | 1aI03 |
| 伊藤 寿 | 京都大・理・植物 | 1pB06, 1pB07 |
| 伊藤 正樹 | 名古屋大・生物応答センター | 3aI05 |
| 伊藤 万里 | 椙山女学園大・生活科学 | 3pH05 |
| 稲垣 純子 | 岡山大・理・生物 | 1pB02 |
| 稲垣 言要 | 基生研 | 2pH05 |
| 稲垣 善茂 | 東京大・薬 | 2aA06, 2aA07, 2aA05 |
| 稲場 久美子 | 東京大・遺伝子 | 1aG09 |
| 稲村 篤 | 静岡大・理・化 | 3pH05 |
| 犬丸 久美子 | 大阪女大・基礎理 | 1pB08 |
| 井上 英子 | 京都大・農・応植 | 1aG05 |
| 井上 香織 | 基生研・細胞生物，総研大・生命科 | 2pE03 |
| 井上 和仁 | 神奈川大・理・応生 | 3aA02 |
| 井上 千晶 | 神戸大・理・生物 | 1aH01 |
| 井上 弘 | 富山大・理・生物 | 1pH10 |
| 井上 雅裕 | 愛媛大・理・生物 | 2aF09 |
| 井上 眞理 | 九州大・教養・生物 | 1pD10 |
| 井上 康則 | 東京理科大・理工・応生 | 1pA01, 1pA11, 3pC02 |
| 井上 頼直 | 理研・太陽光科学 | 1aH07, 2aH01, 2aH02, 2aH12 |
| 井口 八郎 | 京都大・理・生物物理 | 2aA08 |
| 猪口 雅彦 | 岡山理大・理・生化 | 1aG04, 3pI02, 3pI03 |
| 居原 秀 | 大阪府大・総科 | 2pF03 |
| 射場 厚 | 九州大・理・生物 | 1pF07, 1pF08, 1pF09, S1pC3 |
| 今井 宏 | 早稲田大・教育・生物 | 1pG06 |
| 今井 亮三 | 東京大・農 | 2pD02 |
| 今泉 和光 | ＰＬ学園女子短大付属植物研 | 3pC08 |
| 今泉 信之 | ジャパンターフグラス | 2aB05, 3aH07, 3aH08, 3aH09 |
| 今関 英雅 | 名古屋大・農・分化遺伝 | 1aI05, 1aI06, 1aI07, 3aF04 |
| 今西 俊介 | 名古屋大・農 | 2aA03 |
| 入船 浩平 | 広島大・理・遺伝子科 | 1pD14, 1pD15, 2pC02, 2pC03 |
| 岩川 洋隆 | 九州大・理・生物 | 1pF09 |
| 岩城 雅代 | 基生研 | 1aH08, 1aH09 |
| 岩崎 郁子 | 九州大・教養・生物 | 1pH03 |
| 岩崎 俊介 | 理研・植物分子 | 2aI06 |
| 岩崎 尚彦 | 大阪医大・教養・生物 | 1pG10 |
| 岩崎 真幸 | 静岡大・理・化 | 3pH05 |
| 岩淵 雅樹 | 京都大・理・植物，基生研・発生生物 | 1aI02, 1aI03, 1aI04, 2pI05 |


## う


| | | |
|---|---|---|
| 鄔 偉男 | 大阪市大・理・生物 | 3aB01 |
| 上口(田中)美弥子 | 名古屋大・農・生化学制御 | 2aI11 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 上田 健治 | 横浜市大・文理・生物 | 3pD07 |
| 上田 純一 | 大阪府大・総科 | 2pF03 |
| 上田 寛子 | 金沢大・理 | 1aD09 |
| 植村 康一 | 京都大・農 | 2pB03 |
| 宇佐美 昭二 | 名古屋大・理・生物 | 2aG11 |
| 牛ノ浜 孝 | 鹿児島大・教養 | 3pB08 |
| 丑丸 敬史 | 京都大・理・植物 | 1aA04, 2aD06, 2aD07 |
| 宇治家 武史 | 広島大・理・生物 | 3pA08 |
| 臼田 秀明 | 帝京大・医 | 1pG02, 2aB04 |
| 内海 俊樹 | 鹿児島大・理・生物 | 1aF02 |
| 内田 英伸 | 東京大・理 | 1pE12 |
| 内野 彰 | 東京大・農 | 2aB12 |
| 内宮 博文 | 東京大・分生研 | 1pI07, 1pI08, 2pG05, 3aE03, 3pI04 |
| 内海 恵一郎 | 岡山大・自然科 | 2pH02 |
| 梅田 正明 | 東京大・分生研 | 1pI07 |
| 梅本 貴之 | 農水省・東北農試 | 1aA07, 1aA08 |
| 浦尾 剛 | 理研・植物分子, 大同ほくさん | 2aI07, 2pG01 |


## え


| | | |
|---|---|---|
| 江崎 文一 | 岡山大・資生研 | 1pD05 |
| 江尻 成美 | 富山大・理・生物 | 2aE08 |
| 枝重 有祐 | 農水省・森林総研 | 3aB06, 3aB09, 3aB10 |
| 榎並 勲 | 東京理科大・理・生物 | 2aH03, 2aH04, 3pC02 |
| 榎本 聡堤 | 弘前大・理・生物 | 2pB04 |
| 江原 友子 | 東京医大・微生物 | 1pE06, 2aI02 |
| 恵飛須 則明 | 沖縄県・農試 | 1aF07 |
| 江盛 浩司 | 甲南大・理・生物 | 1aG02 |
| 撰 達夫 | 鳥取大・工・物質工 | 1pH01 |
| 遠藤 織太郎 | 筑波大・農林 | 2pG01 |
| 遠藤 剛 | 京都大・食研 | 2pA06, 2pA07 |
| 遠藤 斗志也 | 名古屋大・理・化 | 2aE03 |


## お


| | | |
|---|---|---|
| 大岡 宏造 | 大阪大・理・生物 | 1aH09 |
| 大川 和秋 | 大阪大・教養・生物 | 1pG12 |
| 大川原 良次 | ジャパンターフグラス | 3aD08 |
| 大潟 直樹 | 農水省・生物研 | 1aA08 |
| 大城 香 | 東海大・海洋 | 1pB09 |
| 大堺 利行 | 神戸大・理・化 | 3pF07 |
| 大島 朗伸 | 島根大・理・生物 | 2aG03 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 大島 正弘 | 農水省・生物研 | 2pG04 |
| 王子 善清 | 神戸大・農・植物栄養 | 1aA05, 2aD11 |
| 大杉 立 | 農水省・生物研 | 2aB05 |
| 大隅 良典 | 東京大・教養・生物 | 2pE07, 2pE08, 3aE11 |
| 太田 英二 | 慶応大・理工 | 3pG05 |
| 太田 大策 | 日本チバガイギー・国際科研 | 2aI08, 2pC07, 2pC08 |
| 太田 にじ | 早稲田大・人間科 | 1pE11 |
| 太田 尚孝 | 東京理科大・理・生物 | 2aH04 |
| 太田 啓之 | 東京工大・生命理工 | 1pB04, 1pF12,1pB05, 1pF13, 3pA06 |
| 太田 保夫 | 東京農大・農 | 3aG01 |
| 大平 万里 | 北海道大・低温研 | 1pE09 |
| 大塚 達之 | 京都大・理・植物 | 1pB06, 1pB07 |
| 大槻 健蔵 | 北里大・衛生・遺生化 | 2pG02 |
| 大藤 雅章 | 名古屋大・農・生化 | 3aI07, 3aI08, 3aI09 |
| 大西 純一 | 埼玉大・理・生化 | 2aB07 |
| 大西 武雄 | 奈良県立医大 | 3pC08 |
| 大野 哮司 | 北海道大 | 2pC05 |
| 大野 広道 | 栗田工業 | 3pD06 |
| 大橋 伸一 | 帯広畜大・生資化 | 3aE06 |
| 大橋 直人 | 関西学院大・理 | 3aA10 |
| 大橋 美保 | 姫路工大・理・生命科 | 2pH08 |
| 大橋 祐子 | 農水省・生物研 | 1aI01, 2pG04 |
| 大羽 和子 | 名古屋女大・家政 | 3aG04 |
| 大宮 泰徳 | 京都大・木研 | 3pB01 |
| 大本 実穂 | 静岡大・農 | 1pD06 |
| 大森 健司 | 京都大・食研 | 2aA11 |
| 大森 正之 | 東京大・教養 | 1pF11, 2aG05 |
| 大柳 宏之 | 工技院・電総研 | 2aH02 |
| 大山 莞爾 | 京都大・農 | 2pB03 |
| 岡 真理子 | 岡山理大・理・生化 | 3pI03 |
| 岡崎 芳次 | 大阪医大・教養・生物 | 1pG10 |
| 岡澤 一秀 | 宝酒造・バイオ研 | 3pB08 |
| 岡田 清孝 | 基生研・遺伝子 1 | 1aI04, S1pC1 |
| 岡田 孝 | 関西学院大・情報センター | 3pA04 |
| 岡田 輝之 | 鳥取大・工・物質工 | 1pH01 |
| 岡村 圭造 | 京都大・農 | 1aB02 |
| 岡村 信幸 | 福山大・薬 | 1pA15 |
| 岡村 幸治 | トヨタ自動車・研究部バイオ・ラボ | 1pD13 |
| 岡本 朱根 | 横浜市大・総合理・分子認識 | 3aB11, 3aB12 |
| 岡本 潔 | 農水省・生物研 | 3pD05 |
| 岡本 元一 | 東レリサーチセンター | 2aH10 |
| 岡本 繁久 | 鹿児島大・教養 | 3pB07, 3pB08, 3pB09 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 岡本 剛 | 近畿大・農・食栄 | 2aB03 |
| 岡本 尚 | 横浜市大・文理・生物 | 2aF06, 3aB11, 3aB12 |
| 岡本 富美 | 甲南大・理・生物 | 1aG02 |
| 岡山 繁樹 | 九州大・教養・生物 | 1pH03, 3aA01 |
| 小方 久美子 | 東レリサーチセンター | 2aH10 |
| 小川 京子 | 日本女大・理・物質生物 | 1aA01 |
| 小川 健一 | 京都大・理・植物 | 2aD02, 2pA08 |
| 小川 晃男 | 理研・太陽光科学, 現：名古屋大・生物応答センター | 2aB11, 2pA06 |
| 小川 紀之 | 京都大・農・農生 | 3aG08 |
| 小川 幹弘 | 横浜市大・文理・生物 | 2aF06 |
| 小川 健一郎 | 茨城大・農 | 1aF04 |
| 沖原 清司 | 農水省・生物研 | 1pG03, 1pG04 |
| 荻原 恵美子 | 日本女大・理 | 2aF07 |
| 奥 達雄 | 九州大・農・林 | 1pF05, 2aH09 |
| 奥村 剛一 | 京都府大・農・生化 | S1aC5 |
| 小河 亜紀子 | 福岡女大・生物 | 2aH08 |
| 長舩 哲齊 | 東京医大・微生物 | 1pE06, 2aI02 |
| 小澤 真一郎 | 京都大・人間環境 | 1pH01, 2aH13 |
| 小島 邦彦 | 東北大・農・農化 | 2pB05 |
| 小関 良宏 | 東京大・教養・生物 | 3pC07 |
| 小田 和司 | 横浜市大・木原生研 | 2aG07 |
| 小田 茂 | ＰＬ学園女子短大付属植物研 | 3pC08 |
| 小田 雅行 | 農水省・野菜茶試 | 3pF03 |
| 落合 英夫 | 島根大・農・応生 | 2aA02 |
| 小野 高明 | 理研・太陽光科学 | 2aH01, 2aH02, 2aH12 |
| 小野 英俊 | 福山大・工 | 1pA15 |
| 小野田 哲夫 | 島根大・理・生物 | 2aG03 |
| 小幡 茂裕 | キシダ化学・研究開発グループ | 1aH01 |
| 小尾 一郎 | 京都大・農・農化 | 1pG07 |
| 小保方 潤一 | 北海道大・地球環境・生態遺伝 | 3aH04, 3aH05, 3aH06 |
| 小俣 達男 | 名古屋大・農・応生 | 1pG01, 2aD09, 3pH03 |
| 尾見 知子 | 日本女大・理 | 2aF07 |
| 小山 時隆 | 基生研・遺伝子第１ | S1pC1 |
| 恩田 祥子 | 神戸大・理 | 1pA04 |


## か


| | | |
|---|---|---|
| 貝原 純子 | 京都生物研 | 1aG01 |
| 加川 貴俊 | 東京都立大・理・生物 | 1pA06 |
| 柿本 辰男 | 大阪大・理・生物 | 3aE04, 3aI04 |
| 賀来 章輔 | | 1pD10 |
| 賀来 華江 | 農水省・生物研 | 1aF07 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 角谷 佐紀 | 大阪大・理・生物 | 1aH09 |
| 角谷 忠昭 | 京都大・農・農化 | 1pG07 |
| 角野 冨三郎 | M and S technosystem | 3pA03 |
| 掛川 弘一 | 農水省・森林総研 | 3aB06 |
| 葛西 身延 | 弘前大・理・生物 | 2pB04 |
| 笠毛 邦弘 | 農水省・食総研 | 1pF01, 1pF02, 1pF03, 3pG05, S3aC5 |
| 風間 晴子 | 国際基督教大 | 1aE03 |
| 菓子野 康浩 | 姫路工大・理・生命科 | 1aH02, 2pH08 |
| 加嶋 睦之 | 関西学院大・理 | 3aA11 |
| 梶原 忠彦 | 山口大・農・応生化 | 3aG02 |
| 梶原 寛之 | 京都大・食研 | 2aA11 |
| 忰山 博之 | 岡山大・理・生物 | 2pH06 |
| 片岡 博尚 | 東北大・遺生研 | 1pA13 |
| 片桐 健 | 理研・植物分子 | 1aD09, 2pG01 |
| 片山 光徳 | 東京大・教養・生物 | 2aG05 |
| 且原 真木 | 農水省・蚕糸昆虫研 | 3aF01 |
| 勝見 允行 | 国際基督教大・生物 | 1aE05 |
| 桂 真昭 | 京都大・理・分子植物 | 1aI04 |
| 加藤 彰 | 名古屋大・生物応答センター | 2pA04 |
| 加藤 朗 | 基生研・細胞生物 | 3pD08 |
| 加藤 郁之進 | 宝酒造・バイオ研 | 3pB08, 3pB09 |
| 加藤 潔 | 名古屋大・情報文化・自然情報 | 2aF05 |
| 加藤 栄 | 東邦大・理・生物 | 1pB14, 2aH03, 2aH04, 2aH10 |
| 加藤 真司 | 埼玉大・理・生体制御 | 1pA10 |
| 加藤 次郎 | 岡山理大・理・生化 | 1aG04, 3pI02, 3pI03 |
| 加藤 忠司 | 農水省・東北農試 | 1pF01 |
| 加藤 秀明 | 埼玉大・理・生化 | 1aB10 |
| 門田 明雄 | 東京都立大・理・生物 | 1aE02 |
| 金井 正三 | 東レリサーチセンター | 2aH10 |
| 金井 龍二 | 埼玉大・理・生化 | 2aB07 |
| 金澤 健二 | 東京大・農・農化 | 1pD08, 1pD09 |
| 金谷 潔 | 東京農工大・一般教育 | 3aE10 |
| 金山 喜則 | 名古屋大・農・園芸 | 1aB11, 3pG03 |
| 金勝 一樹 | 北里大・教養・遺生化 | 2pG02 |
| 金子 誠二 | ジャパンターフグラス | 2aB05, 3aD08 |
| 金子 貴一 | かずさディー・エヌ・エー研究所 | 3pH02 |
| 金松 澄雄 | 南九州大・食品工 | 2aD02 |
| 蕪城 博 | 富山医薬大・薬 | 2aG04 |
| 鎌田 堯 | 岡山大・理・生物 | 1aE06 |
| 鎌田 博 | 筑波大・生物 | 2pG03, 3aE08, 3aE09 |
| 鎌田 芳明 | ジョンズホプキンス大 | 1aF07 |
| 蒲地 一成 | 厚生省・予研 | 1aA06 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 蒲池 浩之 | 九州大・農・林 | 2aH09 |
| 神阪 盛一郎 | 大阪市大・理・生物 | 2pF03, 3aB01, 3aB02, 3aB03, 3pB06 |
| 上舞 哲也 | 鹿児島大・教養 | 3pB09 |
| 上村 保麿 | 東邦大・理・生物 | 1pB14 |
| 神谷 明男 | 帝京大・薬・化 | 1pA08 |
| 神谷 勇治 | 理研・フロンティア | 1pA12, 2pF04, 3aF10, 3pF01, 3pF02 |
| 亀井 正一郎 | 大阪大・理・生物 | 1aH09 |
| 亀田 卓二 | 岡山理大・理・生化 | 3pI02 |
| 亀谷 七七子 | 岩手生物工学研究センター | 2aF12 |
| 賀屋 秀隆 | 島根大・理・生物 | 2aG03 |
| 萱野 暁明 | 農水省・生物研 | 3pD05 |
| 川上 一茂 | 北里大・衛生・遺生化 | 2pG02 |
| 川上 茂樹 | 広島大・理・遺伝子科 | 2pC02, 2pC03 |
| 川上 直人 | 横浜市大・木原生研 | 1pF09, 2aF01 |
| 川口 健太郎 | 農水省・北海道農試 | 1aB03 |
| 川口 正代司 | 東京大・教養・基礎科 | 3aF12 |
| 川崎 信二 | 農水省・生物研 | 1aB06, 1aF05 |
| 河津 維 | 東京大・理 | 1pE08, 1pE12 |
| 河津 哲 | 新王子製紙・林木育種研 | 2pC04 |
| 河野 重行 | 東京大・理・広域理学 | 1pE07, 1pE08, 1pE12, 1pE13, 1pE14, 1pI05 |
| 川原 良一 | 東北大・理・生物 | 1pI02 |
| 川辺 晶子 | 名古屋大・理・生物 | 1aD01 |
| 河部 暹 | 農水省・蚕糸昆虫研 | 3aF01 |
| 川向 誠 | 島根大・農・応生 | 2aA02 |
| 河村 幸男 | 大阪市大・理・生物 | 3aB03 |
| 川本 邦男 | 京都大・食研 | 1pH11, 1pH12 |
| 川本 伸一 | 北海道大 | 2pC05 |
| 河盛 阿佐子 | 関西学院大・理 | 1pH13, 2aH05 |
| 神取 秀樹 | 分子研 | 1aH08, 1aH10 |


## き


| | | |
|---|---|---|
| 喜久田 嘉郎 | 北海道大・農・植物 | 2aF02, 3pF04 |
| 菊池 彰 | 筑波大・生物 | 3aB10 |
| 菊地 裕之 | 名古屋大・農・応生 | 3pH03 |
| 菊池 洋 | 三菱化成・生命研 | 2pC06 |
| 菊山 宗弘 | 農水省・生物研 | 1aF06 |
| 菊山 宗弘 | 放送大・生物 | 1pG11, 2aG01 |
| 木下 剛 | 鹿児島大・教養 | 3pB09 |
| 岸本 直己 | 農水省・生物研・分子育種 | 2aA09 |
| 北川 峰丈 | 筑波大・生物 | 3aF13 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 北島 サキト | 京都大・農・農化 | 2pD01 |
| 木谷 重和 | トヨタ自動車・研究部バイオ・ラボ | 1pD13 |
| 北村 晃司 | 京都大・人間環境 | 2aH13 |
| 北脇 靖子 | 静岡大・理・化 | 3pH05 |
| 木立 真敏 | 東京理科大・理工・応生 | 3pC02 |
| 木下 浩司 | 北海道大・農・植物 | 2aF02 |
| 木下 俊則 | 九州大・理・生物 | 1pF06 |
| 木原 淳一 | 東北大・遺生研 | 1pA09 |
| 木場 章範 | 岡山大・農 | 1aF09 |
| 金 成俊 | 基生研・細胞生物 | 1pB11 |
| 木村 貴志 | 農水省・九州農試 | 1pI04 |
| 姜 月順 | 関西学院大・理 | 3aA10, 3aA11 |
| 清沢 桂太郎 | 大阪大・基礎工・生物工 | 1pG08 |
| 清末 知宏 | 理研・植物分子 | 1aD09, 2pD03 |
| 清田 誠一郎 | 農水省・生物研 | 1pG03, 1pG04, 3aG12 |
| 九鬼 導隆 | 神戸高専・応化 | 3aA10 |
| 草野 友延 | 秋田農短大・生工研 | 3aD01 |
| 草野 元 | 広島大・理・生物 | 3pA07 |
| 楠 正美 | 明治大・理工 | 2aH02 |
| 久住 高章 | サントリー基礎研 | 1pI14 |
| 楠元 範明 | 早稲田大・教育・生物 | 3aA02 |
| 朽津 和幸 | 農水省・生物研 | 1aF06, 1aF07, 2aG08, 2pE08 |
| 工藤 俊之 | 東邦大・理・生物 | 1pB14 |
| 工藤 まり子 | 秋田農短大・生工研 | 2aG12 |
| 久保 明弘 | 国立環境研・生物 | 2aD01 |
| 久保 浩義 | 信州大・理・生物 | 2pE02 |
| 久保 稔 | 大阪大・理・生物 | 3aE04 |
| 久保田 守 | 基生研 | 1pA07 |
| 熊谷 忠 | 東北大・遺生研 | 1pA09 |
| 熊谷 史 | 東京大・理 | 1pE03 |
| 熊崎 茂一 | 分子研 | 1aH08 |
| 倉屋 芳樹 | 東京工大・生命理工 | 3aA03 |
| 栗本 宜孝 | コベルコ科研 | 3aA12 |
| 黒岩 常祥 | 東京大大学院・理・植物 | 1pE04, 1pE07, 1pE08, 1pE11, 1pE12, 1pE13, 1pE14, 1pI05 |
| 黒岩 晴子 | 共立女子短大・生物 | 1pE04, 1pE07, 1pE12 |
| 黒田 華織 | 広島大・総科・自然環境 | 3aB08 |
| 黒田 洋詩 | 岡山大・自然科 | 2pH06 |
| 黒田 浩文 | 東京工大・生命理工 | 1pB05 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 黒崎 文也 | 富山医薬大・薬 | 2aG04 |
| 桑原 朋彦 | 筑波大・生物 | 1pH07, 1pH08, 1pH09 |

## け

| | | |
|---|---|---|
| 下司 直美 | 名古屋大・農・生化学制御 | 1aD02, 1aD03 |

## こ

| | | |
|---|---|---|
| 小池 説夫 | 農水省・生物研 | 1aD05, 1aD06 |
| 小池 裕幸 | 姫路工大・理・生命科 | 1aH02, 2pH08 |
| 小池 倫也 | 北海道大・低温研 | 3aD03 |
| 小岩 尚志 | 京都大・農・農化 | 2pD01 |
| 小岩井 晃 | 日本たばこ・生命研 | 2aI02 |
| 幸田 泰則 | 北海道大・農・植物 | 2aF02, 3pF04 |
| 河内 直美 | 関西学院大・理 | 3aA10 |
| 河内 宏 | 農水省・生物研 | 1aF03, 3aI01 |
| 上妻 道成 | 日立・計測器 | 1pA05 |
| 河野 泰久 | 島根大・医・細菌 | 2aD08 |
| 甲村 浩之 | 広島農試 | 1aG03 |
| 郡 佳世子 | お茶の水女大・理・生物 | 1aF08 |
| 古賀 仁一郎 | 茨城大・農 | 1aF04 |
| 古金谷 敏之 | 京都大・理・植物 | 1pI01 |
| 小塩 海平 | 東京農大・農 | 3aG01 |
| 小柴 共一 | 東京都立大・理・生物 | 2aD06, 3aF10 |
| 小島 道子 | 神戸大・農・植物栄養 | 2aD11 |
| 小杉 俊一 | 農水省・生物研 | 1aI01 |
| 小瀬村 誠治 | 慶応大・理工・化 | 3pF08 |
| 古園 さおり | 大阪大・工・応用生物工 | 3pI05 |
| 児玉 浩明 | 九州大・理・生物 | 1pF07, 1pF08, 1pF09 |
| 小寺 義男 | 関西学院大・理 | 2aH05 |
| 小西 茂毅 | 静岡大・農 | 1pD06 |
| 小西 智一 | 京都大・農 | 3pG02 |
| 小林 香子 | 名古屋大・農・応生 | 1pI09 |
| 小林 正樹 | 名古屋大・農・応生 | 1pG01 |
| 小林 正智 | 理研 | 1pA12 |
| 小林 優 | 京都大・農・農化 | 1aD07 |
| 小林 善親 | 九州大・農・林 | 1pB12, 1pB13 |
| 小松 節子 | 農水省・生物研 | 2aG08 |
| 駒嶺 穆 | 日本女大・理 | 1aA01, 1pI02, 3pD01 |
| 米田 好文 | 東京大・遺伝子 | 1aG09, 1aG10 |
| 小山 泰 | 関西学院大・理 | 3aA10, 3aA11, 3aA12, 3pA01, 3pA02, 3pA03, 3pA04 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 近藤 孝男 | 基生研 | 3pE03, 3pE04 |
| 近藤 矩朗 | 国立環境研 | 1aE04, 1pH07 |
| 近藤 真紀 | 基生研・細胞生物 | 2pE02 |
| 近藤 由希子 | 北海道大・地球環境・生態遺伝 | 3aH04, 3aH05, 3aH06 |
| 高 暢孝 | 九州大・農・林 | 1pF05 |
| 五島 直樹 | 京都薬大・生命研 | 2pC02 |
| 後藤 伸治 | 宮城教育大・生物 | 3aE01 |
| 後藤 康成 | 筑波大・生物 | 1aB01 |


## さ


| | | |
|---|---|---|
| 西條 由見子 | 甲南大・理・生物 | 1pB03 |
| 斎藤 彰 | 農水省・九州農試・作物開発 | 2aA09 |
| 斉藤 和実 | 京都大・ＲＩセンター | 1aF10 |
| 斉藤 孝之 | 埼玉大・理・生体制御 | 3aD02 |
| 斉藤 武 | 島根大・農・応生 | 2aA02 |
| 斎藤 臣雄 | Frontier Research Program, RIKEN | 3pF01 |
| 斉藤 美佳子 | 東京農工大・工・応生 | 1pG13 |
| 佐伯 和彦 | 大阪大・理・生物 | 1aA10, 3aG13 |
| 早乙女 真紀 | 日本女大・理 | 2aF07, 2aF08 |
| 酒井 敦 | 東京大大学院・理・植物 | 1pE13, 1pE14 |
| 酒井 慎吾 | 筑波大・生物 | 3aF13 |
| 酒井 達也 | 東京大大学院・理 | 2pI03 |
| 酒井 富久美 | 京都大・木質研 | 3pB01, 3pB02, 3pB05 |
| 榊 剛 | 北海道東海大・工・生物工 | 2aI02 |
| 榊原 均 | 名古屋大・農・応生 | 1pI09, 1pI10, 1pI11 |
| 榊原 祥清 | 農水省・食総研 | 1pF02 |
| 坂口 圭美 | 東京大・農・農化 | 1pD07 |
| 坂田 朋子 | 神戸大・農・植物栄養 | 1aA05 |
| 坂田 洋一 | 北海道大・農・応生 | 2pI06 |
| 坂野 勝啓 | 農水省・生物研 | 1aD04, 1pG03, 1pG04, 2pE08, 3aG12 |
| 坂本 敦 | 京都府大・農・生化 | S1aC5 |
| 坂本 敏夫 | 総合大学院大 | 1pF11 |
| 坂本 光 | 北里大・薬 | 2aG02 |
| 先浜 直子 | 神戸大・理・生物 | 1aH01 |
| 作田 正明 | お茶の水女大・理・生物 | 1aF08, 3aG06 |
| 桜井 成 | 理研・植物生活環制御 | 1aG07, 1pA12 |
| 桜井 直樹 | 広島大・総科 | 3aB07, 3aB08, 3aF11, 3pB03 |
| 桜井 英博 | 早稲田大・教育・生物 | 1pG05, 1pG06, 2aD10, 3aA02 |
| 佐々木 和生 | 筑波大・生物 | 3aE08 |
| 佐々木 幸子 | 京都大・農・食品工 | 3pG01, 3pG02, S3aC2 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 笹田 直樹 | 岡山大・資生研 | 1pD03 |
| 雀部 博之 | 理研 | 1aH10 |
| 佐島 徳武 | 関西学院大・理 | 3pA01 |
| 定金 豊 | 岡山大・理・生物 | 3pE01 |
| 佐藤 一志 | 東北大・遺生研 | 2pB05 |
| 佐藤 和彦 | 姫路工大・理・生命科 | 1aH02, 2pH08 |
| 佐藤 公行 | 岡山大・理・生物，基生研 | 2pH02，2pH03，2pH04，2pH05，2pH06, 3pH05 |
| 佐藤 久美 | 東北大・理・生物 | 1pE05 |
| 佐藤 圭祐 | 大阪大・理・生物 | 3aE04 |
| 佐藤 茂 | 東北大・農・生物生産 | 3aF05 |
| 佐藤 忍 | 筑波大・生物 | 1aB01, 3aB10, S2aC3 |
| 佐藤 隆英 | 千葉大・園芸 | 3aF03 |
| 佐藤 敏生 | 広島大・理・生物 | 2aD03, 2aE06, 3pA07, 3pA08, 3pH01 |
| 佐藤 直樹 | 東京学芸大・物質生命 | 2aE05 |
| 佐藤 光 | 九州大・農 | 1aA07 |
| 佐藤 文彦 | 京都大・農・農化 | 2aE07, 2pD01 |
| 佐藤 征弥 | 農水省・生物研，新技術事業団 | 1aF05 |
| 佐藤 守 | 農水省・蚕糸昆虫研 | 3aF01 |
| 佐藤 康 | 東北大・理・生物 | 1aB07 |
| 佐藤 康之 | 早稲田大・教育・生物 | 1pG06 |
| 佐藤 豊 | 名古屋大・農・生化 | 2pE01 |
| 佐藤 了 | 日本チバガイギー・国際科研 | 2aI08 |
| 佐藤 良平 | 大阪府大・農・農化 | 2aB02 |
| 真田 幸香 | 金沢大・理・生物 | 1aD08 |
| 佐野 智 | 京都大・食研 | 3aG10, 3aG11 |
| 佐野 浩 | 秋田農短大・生工研 | 2aG12, 2aI05, 2pG04 |
| 鮫島 宗明 | 農水省・生物研 | 2aB05, 3aH07 |
| 澤木 弘道 | 名古屋大・農・応生 | 1pG01 |
| 澤崎 達也 | 広島大・理・遺伝子科 | 1pD14, 1pD15 |
| 沢田 信一 | 弘前大・理・生物 | 2pB04 |
| 山藤 誠司 | 宮城教育大・生物 | 3aE01 |


## し


| | | |
|---|---|---|
| 椎名 隆 | 京都大・人間環境 | 3aH01 |
| 塩井 祐三 | 東京工大・生命理工 | 1pB04, 1pB05, 1pF12, 1pF13, 3aA03, 3pA06 |
| 塩沢 秀幸 | 東京大・農・農化 | 3pI06 |
| 塩家 仙子 | 筑波大・バイシス | 3pF08 |
| 重岡 成 | 近畿大・農・食栄 | 2aB03 |
| 重森 康司 | 岡山大・理・生物 | 1pB01 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 七條 千津子 | 神戸大・理・生物 | 1pA04 |
| 篠崎 一雄 | 理研・植物分子 | 1aD09, 2aA01, 2aI06, 2aI07, 2pD03, 2pG01, 2pG03, S1pC4 |
| 篠崎 和子 | 理研・植物分子，農水省・国際農研 | 1aD09, 2aI06, 2aI07, 2pD03, 2pG01, 2pG03 |
| 篠崎 眞輝 | 京都大・農・応種 | 1aG05, 1aG06 |
| 篠原 健司 | 農水省・森林総研 | 1pI06 |
| 柴 博史 | 東京大・農・農化 | 3pI06 |
| 柴岡 弘郎 | 大阪大・理・生物 | 1aE07, 1aE08, 1aE10, 3aE04, 3aI04 |
| 柴田 和恵 | 神戸大・理・生物 | 3pF07 |
| 柴田 幸子 | 北里大・薬 | 2aG02 |
| 柴田 大輔 | 三井植物バイオ研 | 3aG03, S2aC5 |
| 柴田 均 | 島根大・農・応生 | 2aD08, 3pC05, 3pC09 |
| 柴田 勝 | 新王子製紙・林木育種研 | 2pC04 |
| 柴田 優 | 富山大・理・生物 | 2pB06 |
| 渋谷 直人 | 農水省・北海道農試 | 1aB03, 1aF06, 1aF07, 2aG08, S2aC4 |
| 島崎 研一郎 | 九州大・教養・生物 | 1pF05, 1pF06 |
| 島田 希代 | 放送大・生物 | 1pG11, 2aG01 |
| 島田 敬子 | 東京大・遺伝子 | 1aG09 |
| 嶋田 敬三 | 東京都立大・理・生物 | 3aA05, 3aA06, 3aA08, 3aA09 |
| 島田 裕士 | 東京工大・生命理工 | 3aA03, 3pA06 |
| 島津 一樹 | 甲南大・理・生物 | 2aB09 |
| 志水 佐江 | 名古屋大・農・分化遺伝 | 1aI07 |
| 清水 克哉 | 広島大・理・遺伝子科 | 2pC02, 2pC03 |
| 清水 碩 | お茶の水女大・理・生物 | 1aF08, 3aG06 |
| 清水 紀男 | 東京農工大・工・応生 | 2aE01 |
| 志村 令郎 | 京都大・理・生物物理 | 1aI04, S1pC1 |
| 下河原 浩介 | 帝京大・医・化 | 1pG02, 2aB04 |
| 下嶋 美恵 | 東京工大・生命理工 | 1pF12, 1pF13 |
| 下西 康嗣 | 大阪大・蛋白研 | 2pA03 |
| 下村 講一郎 | 国立衛試・筑波 | 3aE08 |
| 下村 正二 | 農水省・生物研 | S3aC4 |
| 首藤 紘一 | 東京大・薬 | 3aF08 |
| 庄司 雄一 | 東北電力・応技研 | 3pD01 |
| 庄野 邦彦 | 東京大・教養・基礎科 | 3pI05, 3aF12 |
| 白石 達哉 | 東京農工大・工・応生 | 2aE02 |
| 白石 友紀 | 岡山大・農 | 1aF09 |
| 白石 斉聖 | ミシガン工科大・生物 | 1aA01 |
| 白岩 善博 | 新潟大・理・生物 | 2aB08 |
| 白野 由美子 | 三井植物バイオ研 | 3aG03 |
| 白浜 佳苗 | 東京大・教養・生物 | 2pE08 |
| 沈 建仁 | 理研・太陽光科学 | 1aH07 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 新 勝光 | 神戸大・理・生物 | 1aH01 |
| 進士 秀明 | 工技院・生命研 | 2aG09 |
| 新名 惇彦 | 大阪大・工・応生 | 3aI03, 3pI05, 3aI02 |
| 新免 輝男 | 姫路工大・理・生命科 | 1pG11 |
| 新家 勝 | 九州大・農・林 | 1pB12, 1pB13 |
| 姜 昌杰 | 国立環境研 | 1aE04 |
| 城市 篤 | 早稲田大・教育・生物 | 1pG06 |
| 神 幸男 | 広島大・理・遺伝子科 | 1pD12, 1pD15 |

## す

| | | |
|---|---|---|
| 須天 由貴子 | 京都大・農 | 3pG01 |
| 末次 由実 | 大阪大・理・生物 | 3aG13 |
| 菅井 道三 | 富山大・理・生物 | 1pA07 |
| 菅沼 教生 | 愛知教育大・生命科 | 1aF03 |
| 菅原 和幸 | 秋田農短大 | 3aD01 |
| 菅原 康剛 | 埼玉大・理・生体制御 | 1pA10, 3aD02 |
| 杉浦 昌弘 | 名古屋大・遺伝子 | 1aI08, 1aI09, 1aI10, 2aE09, 2aE10, 3aF09, 3aH02, 3aH03, 3pH02, 3pH05 |
| 杉田 大悟 | 名古屋大・理・化 | 2aE03 |
| 杉田 千恵子 | 名古屋大・遺伝子 | 3pH02 |
| 杉田 護 | 名古屋大・遺伝子 | 1aI09, 1aI10, 3pH02 |
| 杉野 守 | 近畿大・農・種生 | 1aG02 |
| 杉村 康知 | 東邦大・理・生物 | 1aH03 |
| 杉本 慶子 | 大阪大・教養 | 1aE03 |
| 杉本 敏男 | 神戸大・農・植物栄養 | 2aD11, 1aA05 |
| 椙谷 康一 | 埼玉大・理・生化 | 2pD04 |
| 杉山 達夫 | 名古屋大・農・応生 | 1pI09, 1pI10, 1pI11, 2aD09, 3pH03 |
| 杉山 宗隆 | 東北大・理・生物 | 1aB07, 3aE02, 3pD01 |
| 菅 洋 | 東北大・遺生研 | 2aF10 |
| 鈴鹿 巌 | 農水省・生物研 | 1aI01 |
| 鈴木 昭憲 | 東京大・農・農化 | 3pI06 |
| 鈴木 石根 | 名古屋大・農・応生 | 1pG01, 1pI11, 2aD09, 3pH03 |
| 鈴木 英治 | 茨城大・理・生物 | 2pB01 |
| 鈴木 馨 | 工技院・生命研 | 2aG09 |
| 鈴木 邦律 | 東京大大学院・理・植物 | 1pE04 |
| 鈴木 健策 | 農水省・東北農試・生理生態 | 2aB06 |
| 鈴木 恒平 | 筑波大・生物 | 1pH08, 1pH09 |
| 鈴木 さくら | 岡山大・理・生物 | 3pE01 |
| 鈴木 晋一郎 | 大阪大・教養 | 3pA05 |
| 鈴木 健史 | 東京大大学院・理・植物 | 1pE13, 1pE14 |
| 鈴木 菜穂 | お茶の水大・理・生物 | 3aG06 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 鈴木 信弘 | 秋田農短大 | 3aD01 |
| 鈴木 英明 | 理研・植物生活環制御 | 1aG07 |
| 鈴木 秀穂 | 神奈川大・理・応生 | 2aI12 |
| 鈴木 美夏 | 日本女大 | 2pF02 |
| 鈴木 理恵 | 国際基督教大 | 1aE03 |
| 鈴村 麻理子 | 日本女大・家政 | 1pF02 |
| 寿永 七月男 | 北海道大 | 2pC05 |
| 角 一彦 | 京都府大・農・生化 | S1aC5 |
| 鷲見 芳輝 | 東京工大・生命理工 | 2aA01 |

## せ

| | | |
|---|---|---|
| 清野 豁 | 農水省・農環研 | S1aC2 |
| 瀬尾 茂美 | 筑波大・応生 | 2pG04 |
| 関 真紀子 | 国際基督教大・生物 | 1aE05 |
| 関根 政実 | 大阪大・工 | 3aI01, 3aI02, 3aI03, 3pI05 |
| 関野 景介 | 新潟大・理・生物 | 2aB08 |
| 関本 弘之 | 筑波大・生物 | 3pF05, 3pF06 |
| 關谷 次郎 | 京都大・農・農化 | 1aB05, 1aD07 |
| 瀬下 智子 | 杏林大大学院・保健 | 1aG09 |

## そ

| | | |
|---|---|---|
| 惣田 昱夫 | 神奈川県環境科学センター | 1pD06 |
| 曽根 裕 | 筑波大・生物 | 3pF05 |
| 園池 公毅 | 東京大・理・植物 | 1pH05, 1pH06 |
| 其木 茂則 | 麻布大・環境保健 | 2pC06 |
| 園田 哲也 | 新王子製紙・林木育種研 | 2pC04 |
| 園部 誠司 | 大阪大・理・生物 | 1aE07, 1aE08, 1aE09 |

## た

| | | |
|---|---|---|
| 平 知明 | 大阪府大・農・園農 | 2pI08 |
| 高市 真一 | 日本医大・生物 | 3aA05, 3aA08 |
| 高尾 敏文 | 大阪大・蛋白研 | 2pA03 |
| 高木 慎吾 | 大阪大・教養・生物 | 1pA05, 1pG09 |
| 高木 尚 | 東北大・理・生物 | 1aB07 |
| 高木 規子 | 名古屋大・農・生化学制御 | 2aI10, 2pE01 |
| 高木 正道 | 東京大・農 | 2pD02 |
| 高桑 進 | 京都女大・家政 | 3pA05 |
| 高城 陽子 | 日本女大 | 2pF02 |
| 高野 篤生 | 富山大・理・生物 | 1pH10 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 高野 博嘉 | 東京大・理・植物 | 1pI05 |
| 高野 守 | 東北大・遺生研 | 2aF10 |
| 高橋 一恵 | 京都府大・農 | 2aE12 |
| 高橋 淳 | 北海道大・農・植物 | 3pF04 |
| 高橋 啓史郎 | 東京大・農・農化 | 2aI03, 2aI04 |
| 高橋 浩一郎 | 大阪大・工・応生 | 3aI03 |
| 高橋 宏二 | 東京大大学院・理，名古屋大大学院・農 | 2aG10 |
| 高橋 咲子 | 東京理科大・基礎工・生物工 | 2aA06 |
| 高橋 肇 | 北海道大・農・植物 | 2aF02 |
| 高橋 哲郎 | 北陸先端科学技術大学院大 | 1pA07 |
| 高橋 久光 | 東京農大・農 | 3aG01 |
| 高橋 秀幸 | 東北大・遺生研 | 2aF10 |
| 高橋 正昭 | 甲南大・理・生物 | 1pB03, 2aB09 |
| 高橋 真人 | 東北大・理・生物 | 2pI01 |
| 高橋 康弘 | 大阪大・理・生物 | 3pH04 |
| 高橋 裕一郎 | 岡山大・自然科，岡山大・理・生物 | 2pH02 |
| 高橋 陽介 | 東京大・理 | 1pE03, 2aE01, 2pI02, 2pI03, 2pI04 |
| 高橋 良二 | 農水省・北海道農試 | 3aD09 |
| 高畑 康浩 | 農水省・九州農試 | 1aA07 |
| 高浜 有明夫 | 九州歯大 | 1aB08 |
| 高部 圭司 | 京都大・農・林産工 | 1pB04 |
| 高倍 鉄子 | 名古屋大・分子応答センター | 1pD01, 1pD02, 2pA04 |
| 高倍 昭洋 | 名城大・理工・化 | 1pD02, 2pA01, 2pA02, 2pA04 |
| 高宮 建一郎 | 東京工大・生命理工 | 1pB04, 1pB05, 1pF12, 1pF13, 3aA03, 3pA06 |
| 高村 勉 | 立教大・理・化 | 1pG14 |
| 滝尾 進 | 広島大・理・生物 | 2aD03, 2aE06 |
| 瀧本 敦 | 京都生物研 | 1aG01 |
| 田口 富美子 | 岡山大・理・生物 | 2pH04 |
| 武 輝美 | 日本女大・理 | 2aF07, 3aB05 |
| 武市 哲郎 | 農水省・生物研 | 1aB06 |
| 竹内 敦子 | 農水省・野菜茶試 | 3aI11 |
| 竹内 賢 | 立教大・理・化 | 1pG14 |
| 竹内 麻里子 | 筑波大・生物 | 1pH07 |
| 竹内 裕一 | 北海道東海大・工・生物工 | S1aC4 |
| 武内 由佳 | 基生研・細胞機構 | 2pE01, 2pE03, 3pD08 |
| 武居 郁 | 大阪大・理・生物 | 1pE02 |
| 武田 幸作 | 東京学芸大・生物 | 3pC06 |
| 竹田 恵美 | 大阪女大・基礎理 | 1pB08 |
| 武田 真 | 名古屋大・農・生化 | 3aI09 |
| 竹田 淳子 | 京都大・農・農化 | 3pC07 |
| 竹田 匠 | 京都大・木質研 | 3pB05 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 武田 徹 | 近畿大・農・食栄 | 2aB03 |
| 武田 裕一 | 慶応大・理工 | 3pG05 |
| 竹能 清俊 | 東北大・農・園芸 | 1aG06 |
| 竹葉 剛 | 京都府大・生活科学・応生 | 3aF06, 3aF07 |
| 田坂 昌生 | 京都大・理・植物 | 1pI01, 2aD07, 2pF07, 2pF08 |
| 田崎 清 | 農水省・森林総研 | 2aA04 |
| 田沢 仁 | 福井工大・応用理化 | 2aG01 |
| 多田 幸代 | 日本チバガイギー・国際科研 | 2pC07, 2pC08 |
| 多田 孝清 | 京都大 | 2aD04 |
| 多田 幹郎 | 岡山大・農・細胞 | 3pC03, 3pC04 |
| 立石 亮 | 名古屋大・農・園芸 | 1aB11 |
| 舘野 栄司 | 茨城大・農 | 1aF04 |
| 田中 歩 | 京都大・理・植物 | 1pB06, 1pB07, 2aE11 |
| 田中 一朗 | 横浜市大・文理・生物 | 3pD07 |
| 田中 修 | 甲南大・理・生物 | 1aG02 |
| 田中 克幸 | 広島大・理・生物 | 2aD03 |
| 田中 浄 | 国立環境研・生物 | 2aD01 |
| 田中 國介 | 京都府大・農・農化 | 2aA10, 2aA11, 2aE12, S1aC5 |
| 田中 敬一 | 農水省・果樹試 | 2aG06 |
| 田中 俊憲 | 広島大・理・遺伝子科 | 1pD14, 2pC02, 2pC03 |
| 田中 直樹 | 埼玉大・理・生化 | 2pD05 |
| 田中 正美 | 熊本農研センター | 1pI04 |
| 田中 芳実 | 名古屋大・農・生化 | 3aI10 |
| 田中 喜之 | 農水省・生物研 | 1aD05, 1aD06 |
| 田中 良征 | 東京理科大・理工・応生 | 1pA01 |
| 田中 亮一 | 京都大・理・植物 | 2aA08 |
| 田部 茂 | 岡山大・理・生物 | 1aE06 |
| 田辺 稔明 | 日本製紙 | 1pD12 |
| 種山 正登志 | 東京都立大・理・生物 | 1aA03 |
| 田渕 彰 | 大阪市大・理・生物 | 3pB06 |
| 田部井 豊 | 農水省・生物研 | 3pD05 |
| 玉井 直人 | 金沢大・理・生物 | 1aD08 |
| 玉置 雅紀 | 愛知教育大・生命科 | 1aF03 |
| 田村 典明 | 福岡女大・生物 | 1pH03, 2aH08, 2aH09 |
| 樽井 裕 | 大阪市大・理・植物園 | 3pG04 |
| タン・センキー | 筑波大・生物 | 3aE09 |

## ち

| | | |
|---|---|---|
| 茅野 充男 | 東京大・農・農化 | 1pD07, 1pD08, 1pD09, 1pI12, 1pI13, 2aI03, 2aI04, 3aG05, 3pD06 |
| 張 藝潔 | 岡山大・資生研 | 1pD04 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| **つ** | | |
| 曹 婉紅 | 京都大・食研 | 3aG10 |
| 塚谷 裕一 | 東京大・分生研 | 3aE03 |
| 柘植 知彦 | 東京大・分生研 | 3aE03 |
| 辻 公博 | 東京都立大・理・生物 | 3aA08 |
| 辻 英夫 | 京都大・理・植物 | 1aA04, 1pB06, 1pB07, 2aA08, 2aD06, 2aD07, 2aE11, 3aF06, 3aF07, 3aH05 |
| 辻 真理子 | 新王子製紙・林木育種研 | 2pC04 |
| 辻野 義雄 | 神戸大・自然科 | 3pF07 |
| 筒井 泉雄 | 生理研・生体膜 | 1pG12 |
| 堤 伸浩 | 東京大・農 | 2aA12 |
| 續 順子 | 椙山女学園大・生活科学 | 3pH05 |
| 續 伯彦 | 愛知学院大 | 2aE09, 2aE10 |
| 角山 雄一 | 京都大・人間環境 | 3aH01 |
| 壷井 基夫 | 福山大・工・生物工 | 2pC01 |
| 円谷 陽一 | 埼玉大・理・生化 | 1aB09, 1aB10 |
| 津山 孝人 | 九州大・農・林 | 1pB12, 1pB13 |
| 津留 英治 | 山口大・農・応生化 | 3aG02 |
| 鶴崎 健一 | 広島大・総科・自然環境 | 3aF11 |
| 鶴見 誠二 | 神戸大・自然科 | 3pF07 |
| **て** | | |
| 手塚 修文 | 名古屋大・情報文化・自然情報 | 3pC01 |
| 寺島 一郎 | 東京大・理・植物 | 1pH05, 1pH06, 2pB07 |
| 寺田 智子 | 三重大・遺伝子 | S1pC5 |
| 寺本 陽彦 | 京都大・理・植物 | 3aF06, 3aF07 |
| 輝吉 栄治 | 関西学院大・理 | 3aA11 |
| 出路 篤 | 名古屋大・農 | 1pI11 |
| 出村 拓 | 東北大・理・生物 | 2pI01, 3pD03, 3pD04 |
| **と** | | |
| 東近 由紀子 | 東京学芸大・生物 | 3pC06 |
| 遠山 知子 | 京都大・理・植物 | 3aF06, 3aF07 |
| 得字 圭彦 | 帯広畜大・生資化 | 3aE07 |
| 徳富 光恵 | 農水省・生物研 | 2pH07 |
| 戸塚 良宣 | ＰＬ学園女子短大付属植物研 | 3pC08 |
| 戸津 高明 | 弘前大・理・生物 | 2pB04 |
| 富岡 厚 | 早稲田大・教育・生物 | 3aA02 |
| 冨田 英津子 | 鹿児島大・教養 | 3pB07, 3pB08 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 富田 香織 | 昭和薬大 | 2pF02 |
| 鞆 達也 | 基生研 | 2pH03 |
| 豊島 喜則 | 京都大・人間環境 | 2aH13, 2pH01, 3aH01 |
| 豊田 和弘 | 岡山大・農 | 1aF09 |
| 鳥居 啓子 | 東京大・遺伝子 | 1aG10 |
| 鳥山 欽也 | 東京大・農・農化 | 3pI06 |
| 土肥 敬悟 | 新王子製紙・林木育種研 | 2pC04 |
| 土井 道生 | 九州大・教養・生物 | 3aA01 |
| 道家 健二郎 | 北里大・教養・生物 | 2pG02 |
| 土山 直美 | 京都大・食研 | 2aA10, 2aA11 |


## な


| | | |
|---|---|---|
| 内藤 哲 | 北海道大・農・応生 | 1pI13, 2pC05, 2pI06, 3aF02 |
| 直井 由紀 | 早稲田大・教育・生物 | 1pG05 |
| 中井 正人 | 名古屋大・理・化 | 2aE03 |
| 中氏 恵美 | 京都府大・農 | 2aE12 |
| 中川 強 | 島根大・遺伝子 | 2aA02 |
| 中川 直樹 | 広島大・総科・自然環境 | 3pB03 |
| 中川 仁 | 三重大・遺伝子 | S1pC5 |
| 中川 弘毅 | 千葉大・園芸・農化 | 1aA01, 3aF03 |
| 中川 博之 | 関西学院大・理 | 3pA04 |
| 中澤 美紀 | 横浜市大・文理・生物 | 1pA03 |
| 中島 けい子 | 椙山女学園大・生活科学 | 3pH05 |
| 中島 秀明 | 岡山大・理・生物 | 3pE01 |
| 中嶋 信美 | 国立環境研 | 1aE04, 1pH07 |
| 中嶋 祐二 | 三菱重工・基盤研 | 1pB09 |
| 中島 芳浩 | 埼玉大大学院・理工 | 2aH12 |
| 中園 幹生 | 東京大・農 | 2aA12 |
| 中西 啓仁 | 東京大・農・農化 | 1pD07 |
| 中野 明正 | 京都大・農・農化 | 1aD07 |
| 中野 淳子 | 名古屋女大・家政 | 3aG04 |
| 中野 雄司 | 京都大・農・農化 | 2aE07 |
| 中林 一彦 | 東京大・農・農化 | 3pD06 |
| 中平 洋一 | 東北大・理・生物 | 2pI01 |
| 中平 洋一 | 京都大・人間環境 | 3aH01 |
| 仲村 亮正 | 東京大・生産研 | 1pH02 |
| 中村 郁郎 | 岩手生物工学研究センター | 2aF12 |
| 中村 研三 | 名古屋大・農 | 2aA03, 2pE01, 3aI06, 3aI07, 3aI08, 3aI09, 3aI10, 3pI01 |
| 中村 進一 | 東京大・農・農化 | 3aG05 |
| 中村 信吾 | 京都大・木研 | 3pB01, 3pB02 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 中村 卓造 | 昭和薬大 | 2pF02 |
| 中村 貞二 | 東北大・農・作物 | 3aG07 |
| 中村 輝子 | 日本女大・理 | 2aF07, 2aF08, 2pF02, 3aB05 |
| 中村 敏英 | 名古屋大・分子応答センター | 1pD01 |
| 中村 真樹 | 東邦大・理・生物 | 1aH03 |
| 中邨 真之 | 北海道大・地球環境・生態遺伝 | 3aH04, 3aH06 |
| 中村 道美 | 秋田農短大・生工研 | 2aI05 |
| 中村 保典 | 農水省・生物研 | 1aA07, 1aA08 |
| 中村 義男 | 北海道大・理・液体化 | 3aD07 |
| 中村 良子 | 筑波大・生物 | 1aA09 |
| 仲本 準 | 埼玉大・理・生化 | 1aH05, 1aH06, 2pD04, 2pD05 |
| 中屋敷 徹 | 京都大・理・生物物理 | 2aA08 |
| 中山 卓哉 | 京都大・理・植物 | 1aI02 |
| 中山 真義 | 帝京大・理工 | 3aF01 |
| 中山 善雄 | 近畿大・農・稙生 | 1aG02 |
| 永井 俊幸 | 名古屋大・遺伝子 | 3pH05 |
| 永井 玲子 | 大阪大・教養・生物 | 1pG09 |
| 永島 賢治 | 東京都立大・理・生物 | 3aA09 |
| 永田 俊文 | 農水省・九州農試 | 1pI04 |
| 長田 敏行 | 東京大・理 | 1pE03, 2aE01, 2pI02, 2pI03, 2pI04 |
| 永田 典子 | 東京大・教養・基礎科 | 3pI05 |
| 永田 龍二 | 東京大・薬 | 3aF08 |
| 長友 武彦 | 筑波大・生物 | 2aH07 |
| 永野 幸生 | 京都大・農・食品工 | 1pA02, 3pG01, S3aC2 |
| 南原 英司 | 名古屋大・農・生化学制御 | 3aF02 |
| 南森 隆司 | 神戸大・農・生物機能 | 2aD11 |

## に

| | | |
|---|---|---|
| 仁木 智哉 | 農水省・生物研 | 2pG04 |
| 西 荒介 | 富山医薬大・薬 | 2aG04 |
| 西井 晶子 | 大阪女大・基礎理 | 1pB08 |
| 西澤 榮一 | 関西学院大・理・化 | 3pA01, 3pA02 |
| 西澤 直子 | 東京大・農 | 1aB04, 1pD07, 1pD08, 1pD09 |
| 西島 隆明 | 農水省・野菜茶試 | 3aB06 |
| 西谷 和彦 | 鹿児島大・教養 | 3pB07, 3pB08, 3pB09, S2aC2 |
| 西田 生郎 | 基生研 | 1pF11 |
| 西尾 暁隆 | 姫路工大・理・生命科 | 1aH02 |
| 西村 いくこ | 基生研・細胞生物 | 2pE01, 2pE03, 2pE05, 2pE06 |
| 西村 繁夫 | 農水省・生物研 | 3pD05 |
| 西村 英世 | 岡山理大・理・生化 | 1aG04 |
| 西村 幹夫 | 基生研・細胞機構 | 2pE01, 2pE02, 2pE03, 2pE04, 2pE05, 2pE06, 3pD08 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 西村 光雄 | 九州大・理・生物 | 1pF06, 1pF07, 1pF08, 1pF09 |
| 西山 佳孝 | 基生研 | 2aH06 |

## ね

| | | |
|---|---|---|
| 根本 泰行 | 東京農工大・工・応生 | 1pG13, 2aE01, 2aE02 |

## の

| | | |
|---|---|---|
| 野内 勇 | 農水省・農環研 | S1aC3 |
| 野口 勝三 | 基生研，綜合研究大学院大・生命科 | 1pF10 |
| 野口 貴 | 東京農試 | 3aE10 |
| 野口 巧 | 理研・太陽光科学 | 2aH01, 2aH02 |
| 野坂 修一 | 滋賀医大・麻酔 | 1pG12 |
| 野尻 隆裕 | 筑波大・生物 | 1aB01, 3pF06 |
| 野末 一成 | 東京都立大・理・生物 | 2aF04 |
| 野末 雅之 | 信州大・理・生物 | 2pE02 |
| 野田 彰 | 気象庁・気象研 | S1aC1 |
| 野田 和彦 | 横浜市大・木原生研 | 2aF01 |
| 野田 哲治 | 島根大・農・応生 | 3pC09 |
| 野並 浩 | 愛媛大・農 | 1pD11 |
| 野原 哲矢 | 名古屋大・理・化 | 2aE03 |
| 野見山 香 | 福岡女大・生物 | 2aH08 |
| 野村 美加 | 名古屋大・分子応答センター | 1pD02 |

## は

| | | |
|---|---|---|
| 袴田 一彦 | 京都大・農 | 3pG01 |
| 橋本 研介 | 福山大・工 | 1pA15 |
| 橋本 徹 | 神戸女大・家政 | 1pA04 |
| 橋本 博支 | 北海道大・理・植物 | 2aF03 |
| 橋本 祐一 | 東京大・分生研 | 3aF08 |
| 橋本 洋一 | 埼玉大・理・生化 | 1aB09, 1aB10 |
| 蓮沼 仰嗣 | 横浜市大・木原生研 | 2aG07, S3aC1 |
| 長谷 榮二 | 帝京大・医・化 | 1pE06 |
| 長谷 俊治 | 大阪大・蛋白研 | 1pB02, 1pI14, 2aE04, 2pA03, 3aG02, 3pH04 |
| 長谷川 宏治 | 筑波大・応生 | 3pF08 |
| 長谷川 裕康 | 東京理科大・理工・応生 | 1pA11 |
| 馳澤 盛一郎 | 東京大・理 | 1pE03 |
| 畑 信吾 | 姫路工大・理 | 3aI01 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 畑中 顯和 | 山口大・農・応生化 | 3aG02 |
| 波多野 昌二 | 九州大・農・食化工 | 3aD10 |
| 波多野 美香 | 日本チバガイギー・国際科研 | 2pC08 |
| 秦 恵 | 神戸大・理・生物 | 3pC03, 3pC04 |
| 八田 洋 | 東京理科大・理工・応生 | 3pC02 |
| 服部 郁子 | 名古屋大・農・園芸 | 3pC01 |
| 服部 束穂 | 三重大・遺伝子 | 2aI09, S1pC5 |
| 初山 慶道 | 北海道大 | 2pC05 |
| 花田 智 | 東京都立大・理・生物 | 3aA06 |
| 花野 滋 | 名古屋大・遺伝子 | 1aI10 |
| 土生 芳樹 | 北海道大・農・応生 | 2pC05, 2pI06 |
| 濱砂 聡 | 三重大・遺伝子 | S1pC5 |
| 濱田 玲 | 静岡大・理・化 | 3pH05 |
| 濱田 達朗 | 九州大・理・生物 | 1pF07, 1pF08 |
| 浜田 徹 | 横浜市大・木原生研 | S3aC1 |
| 早川 俊彦 | 東北大・農・細胞生化学 | 3aG07 |
| 林 隆久 | 京都大・木質研 | 3pB01, 3pB02, 3pB05 |
| 林 秀則 | 基生研 | 1aD10, 2aH06, 2pD06 |
| 林 浩昭 | 東京大・農・農化 | 3aG05, 3pD06 |
| 林 誠 | 基生研・細胞生物 | 2pE02, 2pE04, 3pD08 |
| 林田 信明 | 理研・植物分子生物 | 2aA01, 2pG01, 2pG03, S1pC7 |
| 早津 雅仁 | 農水省・野菜茶試 | 3aI11 |
| 原 英之 | 関西学院大・理 | 2aH05 |
| 原 正之 | 工技院・生命研 | 3aA04 |
| 原口 博行 | 福山大・工 | 1pA15 |
| 原沢 泉 | 帝京大・理工 | 3aF01 |
| 原田 明子 | 大阪大・教養・生物 | 1pG09 |
| 原田 宏 | 筑波大・生物 | 3aE08, 3aE09 |
| 原田 義則 | 日立・基礎研 | 1aD09 |
| 半田 宏 | 東京工大・生命理工 | 2aA01, 3pA06 |
| 馬場 啓一 | 京都大・木研 | 3aB05 |
| 坂野 弘美 | 名古屋大・理・生物 | 2aG11 |


## ひ


| | | |
|---|---|---|
| 東 正一 | 基生研 | 1pH04 |
| 東 四郎 | 鹿児島大・理・生物 | 1aF02 |
| 樋口 恭子 | 東京大・農・農化 | 1pD08, 1pD09 |
| 肥後 健一 | 農水省・生物研・分子育種 | 2aA09 |
| 肥後 ひろみ | 農水省・生物研・分子育種 | 2aA09 |
| 久冨 泰資 | 福山大・工・生物工 | 2pC01 |
| 久富 恵世 | 東京理科大・基礎工 | 2aA05 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 久松 伸 | 麻布大・環境保健 | 2pC06 |
| 日出間 純 | 東北大・遺生研 | 2pB05 |
| 日向 康吉 | 東北大・農 | 3pI06 |
| 日比野 隆 | 名城大・理工・化 | 2pA01, 2pA02, 2pA04 |
| 姫野 道夫 | 大阪府大・農・農化 | 2aB02 |
| 檜山 哲夫 | 埼玉大・理・生化 | 1aH04, 1aH06, 2pD04, 2pD05 |
| 平井 篤志 | 東京大・農・農生 | 2aA12 |
| 平井(横田)優美 | 東京大・農・農化 | 1pI12, 1pI13 |
| 平石 明 | コニシ環境バイオ研 | 3aA06, 3aA09 |
| 平出 恒男 | 旭光学工業ＫＫ | 1aH04 |
| 平岩 呂子 | 基生研・細胞生物 | 2pE06 |
| 平澤 栄次 | 大阪市大・理・生物 | 1aG08 |
| 平田 豊 | 東京農工大・一般教育 | 3aE10 |
| 平野 久 | 農水省・生物研 | 1aB04, 2aG08 |
| 平野 昌彦 | 東レリサーチセンター | 2aH10 |
| 平林 哲夫 | 園芸生産研 | 3aF03 |
| 平山 修 | 近畿大・農・食栄 | 2aB03 |
| 平山 隆志 | 理研・植物分子 | 2pG01 |
| 廣瀬 哲也 | 横浜市大大学院・文理・生物 | 1pA03 |
| 広瀬 哲郎 | 名古屋大・遺伝子 | 2aE09, 2aE10 |
| 弘田 雅光 | 東京都立大・理・生物 | 3aA07 |
| 廣橋 利哉 | 大阪大・蛋白研 | 2aE04 |

## ふ

| | | |
|---|---|---|
| 深城 英弘 | 京都大・理・植物 | 2pF07, 2pF08 |
| 深沢 利江子 | 東京学芸大・生物 | 3pC06 |
| 府川 幹典 | 横浜市大・木原生研 | 2aG07 |
| 福澤 秀哉 | 京都大・農 | 2pB03 |
| 福島 久代 | 北海道大・農・応生 | 2pI06 |
| 福田 裕穂 | 東北大・理・生物 | 1aB07, 1pE05, 1pI02, 2pI01, 3pD02, 3pD03, 3pD04 |
| 福原 英之 | 茨城大・農 | 1aF04 |
| 伏谷 眞二 | 東北大・薬 | 1pD08 |
| 藤 正則 | 埼玉大・理・生化 | 2pD04 |
| 藤井 和俊 | 名古屋大・農・応生 | 1pI10 |
| 藤伊 正 | 筑波大・生物 | 3aB10, 3pF05, 3pF06 |
| 藤井 伸治 | 東京大・分生研 | 3pI04 |
| 藤井 康代 | 京都大・農 | 1aB02 |
| 藤江 誠 | 東京大・理・植物 | 1pE07 |
| 藤岡 昭三 | 理研・植物生活環制御 | 1aG07 |
| 藤澤 久雄 | 京都大・理・植物 | 1pI01, 2aD07, 2pF07, 2pF08 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 藤田 耕之輔 | 広島大・生物生産 | 1pD12 |
| 藤田 直子 | 大阪府大・農・園農 | 2pI08 |
| 藤田 祐一 | 大阪大・蛋白研 | 1pB02, 2aE04, 3pH04 |
| 藤田 善彦 | 基生研・細胞生物 | 1pB09, 1pB10, 1pB11 |
| 藤野 介延 | 北海道大・農・植物 | 3pF04 |
| 藤原 伸介 | 農研センター | 1aF01 |
| 藤巻 秀 | 東京大・農・農化 | 3pD06 |
| 藤原 武志 | 大阪大・理・生物 | 1aA10 |
| 藤原 徹 | 東京大・農・農化 | 1pI12, 1pI13, 2aI03, 2aI04, 2pG06 |
| 船田 良 | 北海道大・農・森林科 | 2pI06 |
| 舟山 幸子 | 東京大・理・植物 | 1pH05 |
| 降旗 敬 | 早稲田大・教育・生物 | 1pG05 |
| 古川 憲治 | コベルコ科研 | 3aA12 |
| 古沢 厳 | 京都大・農 | 3pG01 |
| 古庄 敏行 | 杏林大大学院・保健 | 1aG09 |
| 古橋 勝久 | 新潟大・理・生物 | 2pB06 |
| 古谷 雅樹 | 日立・基礎研 | 1pA05 |


## へ


| | | |
|---|---|---|
| 平敷 りか | 琉球大・理・生物 | 1pA14 |
| 別府 敏夫 | 西東京科学大 | 2aD01 |


## ほ


| | | |
|---|---|---|
| 星田 尚司 | 京都大・人間環境 | 2pH01 |
| 星野 敦 | 東京理科大・基礎工 | 2aA07 |
| 保尊 隆享 | 大阪市大・理・生物 | 2pF01, 3aB01, 3aB02, 3aB03, 3aB04, 3pB06 |
| 母坪 研巳 | 北海道大・低温研 | 3aD05 |
| 保浦 徳昇 | 三重大・遺伝子 | 2aI09 |
| 保谷 彰彦 | 名古屋大・農・分化遺伝 | 1aI05 |
| 堀 輝三 | 筑波大・生物 | 1pA07 |
| 堀江 宣行 | 名古屋大・農・応生 | 1pG01, 3pH03 |
| 堀口 吾朗 | 九州大・理・生物 | 1pF07, 1pF09 |
| 堀口 達矢 | 東京大・農・農化 | 2aI03 |
| 堀越 孝雄 | 広島大・総科・自然環境 | 3aB08 |
| 堀畑 真希 | 岡山大・理・生物 | 3pH05 |
| 本多 修三 | 筑波大・生物 | 1pH07 |
| 本間 知夫 | 東京農工大・工・応生 | 1pG13, 2aE01, 2aE02 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|

## ま


| | | |
|---|---|---|
| 前 忠彦 | 東北大・農・農化 | 2pB05 |
| 前尾 健一郎 | 名古屋大・農・生化 | 3pI01 |
| 前島 正義 | 北海道大・低温研 | 1pE09 |
| 前田 美紀 | 農水省・生物研 | 3aI01 |
| 前田 ゆり | 東京都立大・理・生物 | 1aA02 |
| 牧 泰史 | 京都大・理・植物 | 2aE11 |
| 牧野 周 | 東北大・遺生研 | 2pB05 |
| 桝井 秀雄 | 広島大・理・生物 | 3pA07 |
| 増田 税 | 日本たばこ・生命研 | 2aI02 |
| 増田 建 | 東京工大・生命理工 | 1pB04, 1pB05, 1pF12, 1pF13, 2aA08, 3pA06 |
| 増田 宏志 | 帯広畜大・生資化 | 3aE05, 3aE06, 3aE07 |
| 増田 芳雄 | 帝塚山短大・食品 | 2pF01, 3aB04 |
| 増田 亮一 | 農水省・食総研 | 1aA06 |
| 増村 健一 | 埼玉大・理・生化 | 1aH06 |
| 増村 威宏 | 京都府大・農 | 2aE12 |
| 町田 泰則 | 名古屋大・理・生物 | 2aG11 |
| 松井 章房 | 東京大・農・農化 | 1pI12 |
| 松井 邦夫 | トヨタ自動車 | 1pD12, 1pD13 |
| 松井 啓祐 | 大阪大・理・生物 | 1aE09 |
| 松井 健二 | 山口大・農・応生化 | 3aG02 |
| 松井 南 | Dept. Biol., Yale Univ. | 2pG05, S1pC2 |
| 松浦 克美 | 東京都立大・理・生物 | 3aA06, 3aA07, 3aA08, 3aA09 |
| 松岡 健 | 名古屋大・農・生化 | 2pE01 |
| 松岡 英明 | 東京農工大・工・応生 | 1pG13, 2aE01, 2aE02 |
| 松岡 信 | 農水省・生物研 | 1pI03, 2aB12, 3aH07, 3aH08, 3aH09 |
| 松川 治 | 九州大・農・食化工 | 3aD10 |
| 松島 好見 | 大阪府大・農・農化 | 2aB10 |
| 松田 英幸 | 島根大・農・応生 | 2aA02 |
| 松永 茂 | 筑波大・生物 | 1pA07 |
| 松野 隆一 | 京都大・農・食品工 | 1pA02, 3pG01 |
| 松葉 恭一 | ジャパンターフグラス | 2aB05 |
| 松林 徹 | かずさディー・エヌ・エー研究所 | 3pH02 |
| 松原 央 | 大阪大・理・生物 | 1aA10, 1aH09, 3aG13, 3pH04 |
| 松村 智裕 | 大阪大・蛋白研 | 2pA03 |
| 松本 哲 | 岡山大・理・生物 | 2pH05 |
| 松元 哲 | 農水省・野菜茶試 | 3aI11 |
| 松本 英明 | 岡山大・資生研 | 1pD03, 1pD04, 1pD05, 1pF04 |
| 松本 英樹 | 奈良県立医大 | 3pC08 |
| 間藤 徹 | 京都大・農・農化 | 1aB05, 1aD07 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 真鍋 勝司 | 横浜市大・文理・生物 | 1pA03 |
| 真鍋 麻里 | 東京大・農・農化 | 3pI06 |
| 真野 昌二 | 名古屋大・農・生化 | 3aI08, 3aI09 |
| 真野 純一 | 京都大・食研 | 1pH11, 1pH12 |

## み

| | | |
|---|---|---|
| 米 華玲 | 京都大・食研 | 2pA07, 2pA06 |
| 三浦 正明 | 神奈川大・理・応生 | 2aI12 |
| 三上 亜希 | 大阪大・理・生物 | 3pH04 |
| 三上 覚範 | 神戸大・理・生物 | 1aH01 |
| 三上 浩司 | 基生研・発生生物 | 1aI03, 1aI04 |
| 三沢 宏之 | 埼玉大・理・生化 | 1aB09 |
| 水江 由佳 | 帯広畜大・生資化 | 3aE05, 3aE06 |
| 水澤 直樹 | 筑波大・生物 | 2aH07 |
| 水谷 正治 | 日本チバガイギー・国際科研 | 2aI08 |
| 水野 暁子 | 日本福祉大 | 2aF05 |
| 水野 孝一 | 大阪大・理・生物 | 1pE01, 1pE02 |
| 溝口 正 | 関西学院大・理 | 3aA12 |
| 溝口 剛 | 理研・植物分子 | 1aD09, 2aI07, 2pG01, 2pG03 |
| 三田 悟 | 名古屋大・農・生化 | 3aI06 |
| 三田 高志 | 静岡県立大・食品栄養 | 2pF06 |
| 三井 真一 | 名古屋大・遺伝子 | 3aF09 |
| 三ツ井 敏明 | 新潟大・農・応生 | 1aD02 |
| 三石 安 | 工技院・生命研 | 3pB05 |
| 光永 伸一郎 | 上越教育大・生活健康 | 3aI12 |
| 三橋 敏 | 海洋バイオテクノロジー研 | 2pB02 |
| 三橋 渉 | 理研・フロンティア・ホルモン機能 | 2pF04 |
| 南 淳 | 東北大・理・生物 | 3pD02 |
| 南 昌宏 | 京都大・理・植物 | 2pI05 |
| 南川 隆雄 | 東京都立大・理・生物 | 1aA02, 1aA03 |
| 南沢 究 | 茨城大・農 | 1aF04 |
| 峰雪 芳宣 | 広島大・理・生物 | 1pA05 |
| 三野 広幸 | 関西学院大・理 | 1pH13 |
| 美濃部 侑三 | 農水省・生物研 | 3pD05, S1pC6 |
| 三村 徹郎 | 姫路工大・生命 | 1pG03, 1pG04 |
| 三室 守 | 基生研 | 1aH10, 3aA07 |
| 宮尾 安藝雄 | 農水省・生物研 | 3pD05 |
| 三宅 親弘 | 京都大 | 2aD04, 2aD05, 2pA05, 2pA08, 3aG10 |
| 三宅 博 | 名古屋大・農・生物資源 | 2pB06 |
| 宮地 重遠 | 海洋バイオテクノロジー研 | 2pB02 |
| 宮本 健助 | 大阪府大・総科 | 2pF03 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 宮本 勝 | 農水省・生物研，茨城大・農・農化 | 1aF05 |
| 三好 泰博 | 静岡県立大・国際関係 | 2pF06, 3pE02 |

## む

| | | |
|---|---|---|
| 向畑 恭男 | 名古屋大・理・生物 | 1aD01 |
| 武藤 尚志 | 名古屋大大学院・農，名古屋大・生物応答センター | 2aG10, S3aC3 |
| 宗像 浩 | 東北大・医化二 | 2pG02 |
| 村上 明男 | 基生研・細胞生物 | 1pB09, 1pB10 |
| 村上 邦睦 | 日本製紙 | 1pD12 |
| 村上(嘉納)ゆり子 | 農水省・果樹試 | 1pI03, 3aH09 |
| 村田 隆 | 東京大・教養・生物 | 1aE01 |
| 村田 紀夫 | 基生研 | 1aD10, 1pF10, 1pF11, 1pH04, 2aH06, 2aI01, 2pD06 |
| 村田 博 | 大阪大・蛋白研 | 2pA03 |
| 村田 靖雄 | 広島大・総科・自然環境 | 3aF11 |
| 村田 善則 | 甲南大・理・生物 | 1pB03 |
| 村田 芳行 | 岡山大・農・細胞生理 | 1pG07, 3pC04 |
| 村野 信仁 | 名古屋大・農・生化 | 3aI06 |
| 村山 寛 | 大阪府大・農化 | 2aB01 |

## め

| | | |
|---|---|---|
| 飯 哲夫 | 京都大・理・植物 | 2pI05 |

## も

| | | |
|---|---|---|
| 元木 章裕 | 東レリサーチセンター | 2aH10 |
| 森 敏 | 東京大・農 | 1aB04, 1pD07, 1pD08, 1pD09, 2aI03, 2aI04, 3aG05, 3pD06 |
| 森 仁志 | 名古屋大・農・分化遺伝 | 1aI05, 3aF04, 3pB02 |
| 森 昌樹 | 農水省・九州農試 | 1pI04 |
| 森 康夫 | 京都大・農・農林生物 | 3aH11 |
| 森上 敦 | 名古屋大・農・生化 | 2aI09, 3aI10, 3pI01 |
| 森川 弘道 | 広島大・理・遺伝子科 | 1pD12, 1pD13, 1pD14, 1pD15, 2pC02, 2pC03 |
| 守口 和基 | 名古屋大・遺伝子 | 1aI09 |
| 森島 明 | 京都大・農・農生 | 3aH10, 3aH11 |
| 森田 重人 | 京都大・理・植物 | 2aD07 |
| 森安 裕二 | 静岡県立大・国際関係・教養 | 3pE02 |
| 森山 真久 | 農水省・北海道農試 | 3aD07 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| **や** | | |
| 八木 晟 | 福山大・薬 | 1pA15 |
| 矢崎 芳明 | 農水省・生物研 | 1aD04, 1aD05, 2pE08, 1pG03 |
| 安田 斉 | 信州大・理・生物 | 2pE02 |
| 保田 浩 | 帯広畜大・生資化 | 3aE05 |
| 柳澤 修一 | 東京大・教養 | 3aH10 |
| 矢野 明 | 東京大・分生研 | 1pI08 |
| 薮 宏典 | 広島大・理・生物 | 3pH01 |
| 薮田 尚弘 | 京都大・農・農生 | 3aG08 |
| 山内 大輔 | 東京都立大・理・生物 | 1aA02, 1aA03 |
| 山内 靖雄 | 神戸大・農・自然科 | 1aA05 |
| 山川 清栄 | 東京大・農・農化 | 3pI06 |
| 山木 昭平 | 名古屋大・農・園芸 | 1aB11, 3pG03 |
| 山口 和也 | 大阪大・教養 | 3pA05 |
| 山口 淳二 | 名古屋大・生物応答センター | 1aD02, 1aD03, 3aI12 |
| 山口 秀明 | 名古屋大・農・園芸 | 3pG03 |
| 山口 博隆 | 工技院・電総研 | 2aH02 |
| 山口 文子 | 名古屋大・農・園芸 | 3pC01 |
| 山口 雄記 | 名古屋大・農・分化遺伝 | 1aI06, 1aI07 |
| 山崎 武信 | 東邦大・理・生物 | 1pB14 |
| 山崎 秀雄 | 琉球大・理・生物 | 1pA14 |
| 山崎 健一 | 名古屋大・農・分化遺伝 | 1aI05, 1aI06, 1aI07 |
| 山崎 素直 | 東京大・農・農化 | 3pA08 |
| 山下 光治 | 岡山大・理・生物 | 2pH04 |
| 山下 耕生 | 岡山大・資生研 | 1pF04 |
| 山下 澄子 | 島根大・農・応生 | 2aD08 |
| 山下 魏 | 筑波大・生物 | 2aH07 |
| 山下 博史 | 東京大・理・植物 | 1pI05 |
| 山田 恭司 | 富山大・理・生物 | 2aE08, 2pB06 |
| 山田 健志 | 信州大・理・生物 | 2pE02 |
| 山田 隆 | 広島大・工 | 2pC02 |
| 山田 哲治 | 岡山大・農 | 1aF09 |
| 山田 晃弘 | 北海道東海大・工・生物工 | 2aI02 |
| 山田 康之 | 京都大・農・農化 | 2aE07, 2pD01 |
| 大和 陽一 | 農水省・生物研 | 3aH08, 3aH09 |
| 山西 弘恭 | 農水省・東北農試 | 1pF01, S3aC5 |
| 山村 庄亮 | 慶応大・理工・化 | 3pF08 |
| 山本 勇 | 広島大・理・生物 | 3pA08, 3pH01 |
| 山本 興太朗 | 北海道大・地球環境・環境分子生物 | 2aF03, S2aC1 |
| 山本 周史 | 大阪大・理・生物 | 1aE07, 1aE08 |
| 山本 拓生 | 大阪大 | 3aI02 |

| 氏　名 | 所　属 | 講演番号 |
|---|---|---|
| 山本 直樹 | 農水省・生物研 | 3aH12 |
| 山本 光章 | 千葉大・園芸 | 3aF03 |
| 山本 泰 | 岡山大・理・生物 | 1pB01, 1pB02 |
| 山本 由弥子 | 岡山大・理・生物 | 2pH04, 2pH05 |
| 山本 洋子 | 岡山大・資生研 | 1pD03, 1pD04, 1pD05, 1pF04 |
| 山本 義治 | 北海道大・地球環境・生態遺伝 | 3aH04, 3aH05, 3aH06 |
| 山本 良一 | 帝塚山短大・食品 | 3aB13 |
| 山谷 知行 | 東北大・農・細胞生化学 | 3aG07 |

## ゆ

| | | |
|---|---|---|
| 湯淺 高志 | 東京大大学院・理，名古屋大・生物応答センター | 2aG10, S3aC3 |
| 湯本 健司 | 埼玉大・理・生化 | 1aH04 |

## よ

| | | |
|---|---|---|
| 横井 崇秀 | 大阪大・理・生物 | 3aI04 |
| 横田 明穂 | 地球環境研ＲＩＴＥ | 2aB01 |
| 横田 孝雄 | 帝京大・理工 | 3aF01 |
| 横山 敏孝 | 森林総研・多摩 | 2aF07 |
| 横山 峰幸 | 資生堂・基礎研 | 1aG01 |
| 横山 隆亮 | 北海道大・理 | 3pI04 |
| 吉崎 文則 | 東邦大・理・生物 | 1aH03 |
| 吉田 泉 | 大阪市大・理・生物 | 1aG08 |
| 吉田 和市 | 京都大・農・農林生物 | 3aH11, 3pC07 |
| 吉田 和正 | 農水省・森林総研 | 2aA04 |
| 吉田 達 | 帝京大 | 1aG03 |
| 吉田 茂男 | 理研・植物機能 | 1aG03, 2aH12 |
| 吉田 静夫 | 北海道大・低温研 | 3aD03, 3aD04, 3aD05, 3aD06 |
| 吉田 真琴 | 東京学芸大・物質生命 | 2aE05 |
| 吉田 みどり | 農水省・北海道農試 | 3aD07 |
| 吉永 光一 | 静岡大・理・化 | 3pH05 |
| 吉橋 学 | 京都大・農・農化 | 1pG07 |
| 吉原 經太郎 | 分子研 | 1aH08 |
| 吉羽 洋周 | 日立製作所・基礎研 | 1aD09 |
| 吉元 誠 | 九州大・農・食化工 | 3aD10 |
| 米倉 圭子 | サントリー基礎研 | 1pI14 |
| 米倉 博子 | ＰＬ学園女子短大付属植物研 | 3pC08 |
| 米山 忠克 | 筑波大 | 1aF01 |
| 頼藤 徹也 | 東京大・教養・生物 | 3aE11 |

| 氏　名 | 所　属 | 講 演 番 号 |
|---|---|---|
| **り** | | |
| 李 増周 | 国立環境研・生物 | 2aD01 |
| 力石 早苗 | 岡山大・資生研 | 1pD04 |
| **わ** | | |
| 若杉 達也 | 名古屋大・遺伝子 | 2aE09, 2aE10, 3aF09, 3pH05 |
| 若林 和幸 | 大阪市大・理・生物 | 3aB01, 3aB02, 3aB03 |
| 鷲尾 健司 | 北海道大・地球環境・環境分子生物 | 2pI07 |
| 渡辺 明夫 | 名古屋大・農・生化学制御 | 2aI10 |
| 渡辺 昭 | 名古屋大・生物応答センター，現：東京大・理・植物 | 2aI10, 2aI11, 3aI05 |
| 渡辺 正 | 東京大・生産研 | 1pH02, 2aH06 |
| 渡辺 奈津 | 東京大・農 | 2aA12 |
| 渡辺 正夫 | 東北大・農 | 3pI06 |
| 渡辺 正勝 | 基生研 | 1pA07, 1pF10 |
| 渡辺 誠幸 | 東北大・理・生物 | 3pD03, 3pD04 |
| 渡辺 泰堂 | 関西学院大・理 | 3aA11 |
| 渡邊 由美 | 立教大・理・化 | 1pG14 |
| 渡辺 佳宏 | 農水省・生物研 | 1aB04 |
| 渡辺 竜五 | 広島大・総科・自然環境 | 3pB03 |
| 和田 明 | 京都大・理・物理 | 2aE11 |
| 和田 敬四郎 | 金沢大・理・生物 | 1aD08, 1aD09, 3aG09 |
| 和田 拓治 | 基生研・遺伝子第1 | S1pC1 |
| 和田 忠士 | 東京工大・生命理工 | 2aA01, 3pA06 |
| 和田 元 | 九州大・教養 | 1pF11 |
| 和田 正徳 | 鳥取大・工・物質工 | 1pH01 |
| 和田 正三 | 東京都立大・理・生物 | 1aE01, 1aE02, 1pA06, 1pE10, 2aF04 |
| 和田 裕 | 福山大・工・生物工 | 2pC01 |
| 和田 洋 | 東京大・教養・生物 | 2aG05, 2pE07 |
| 和田野 晃 | 大阪府大・農化 | 2aB01, 2aB10, 2aB02, 2pI08 |

日本植物生理学会１９９４年度年会委員長

筑波大学・生物科学系　　原田　宏

日本植物生理学会１９９４年度年会準備委員会

| | |
|---|---|
| 筑波大学・生物科学系 | 藤伊　正 |
| 筑波大学・生物科学系 | 猪川　倫好 |
| 筑波大学・生物科学系 | 鎌田　博 |
| 筑波大学・生物科学系 | 酒井　愼吾 |
| 筑波大学・生物科学系 | 山下　巍 |
| 筑波大学・生物科学系 | 桑原　朋彦 |
| 筑波大学・生物科学系 | 佐藤　忍 |
| 筑波大学・農林学系 | 半田　高 |
| 筑波大学・農林学系 | 野村　港二 |
| 筑波大学・生物科学系 | 和田　雅人 |
| 筑波大学・生物科学系 | 斉藤　力 |
| 筑波大学・生物科学系 | 関本　弘之 |
| 筑波大学・生物科学系 | 小佐野　ひわ子 |
| 国立環境研究所・地域環境 | 近藤　矩朗 |
| 国立環境研究所・生物 | 田中　浄 |
| 国立環境研究所・生物 | 清水　英幸 |
| 国立環境研究所・地域環境 | 佐治　光 |
| 国立環境研究所・生物 | 久保　明弘 |
| 国立環境研究所・生物 | 中嶋　信美 |
| 国立環境研究所・生物 | 青野　光子 |
| 農水省・食品総合研究所 | 笠毛　邦宏 |
| 理化学研究所・ﾗｲﾌｻｲｴﾝｽｾﾝﾀｰ | 篠崎　一雄 |

日本植物生理学会１９９４年度年会および
第３４回シンポジウム講演要旨集

発行日：１９９４年３月２５日
発行者：日本植物生理学会１９９４年度年会準備委員会
〒３０５　つくば市天王台１－１－１　筑波大学・生物科学系
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１９９４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３日現在、順不同）

日本植物生理学会１９９４年度年会準備委員会

茨城県
つくば市
（株）トミー精工
キッコーマン（株）
ソフトウエア開発（株）
ローヌ・プーラン アグロ（株）
ハリマ化成（株）
日本エイドー（株）
タカノフーズ（株）
日本ゼオン（株）
中山商事（株）
宝酒造（株）
茨城半井化学（株）
（株）資生堂
（株）秀潤社
（株）池田理化
（有）小松屋
美津野商事（株）
日産化学工業（株）
岩井化学薬品（株）
アプライド・バイオシステムズ・ジャパン（株）
味の素（株）
中西印刷（株）
日本バイエルアグロケム（株）
理科研（株）
日本バイオ・ラッドラボラトリース（株）
旭光通商（株）
日産化学工業（株）
（株）アイシーエム
（有）アースサイエンス
（株）ニュートリノ
和光純薬工業（株）


営業内容

ＤＮＡ依頼合成
遺伝子関連機材
組織培養関連機材
生化学関連機材
画像解析装置
アイソトープ機材
限外濾過装置
純水製造装置
各種自動化装置
実験室用設備
その他研究用機材

最先端の技術の発信地

取扱メーカー

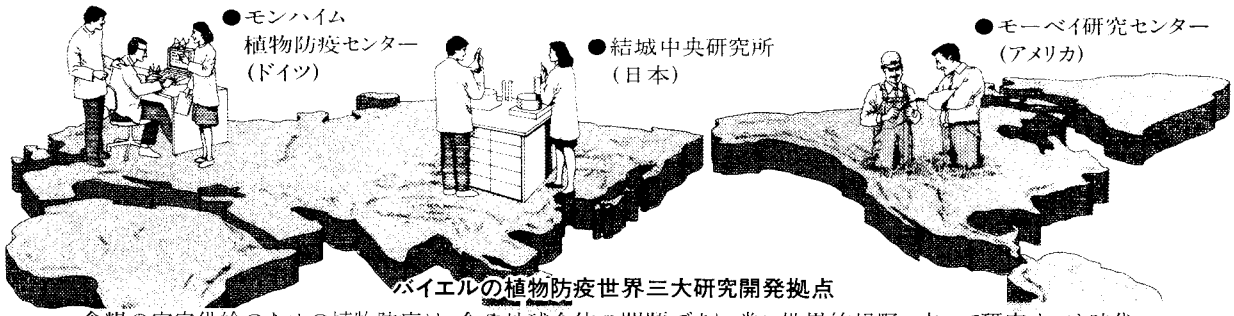
ベックマン
ファルマシア
ＡＢＩジャパン
宝酒造
エムエス機器
和研薬
富士フイルム
日本ミリポア
朝日ライフサイエンス
日本バイオラット
他国内外メーカー

RIKAKEN CO.,LTD.
理科研株式会社
本社／〒463 名古屋市守山区元郷二丁目107番地
TEL(052)798-6151　FAX(052)798-6157

►東　京／〒113 東京都文京区本郷二丁目6番10号
TEL(03)3815-8951　FAX(03)3818-0889
►神奈川／〒222 横浜市港北区新横浜一丁目28番9
新横浜葉山第6ビル5F
TEL(045)471-1251　FAX(045)471-0031
►つくば／〒305 つくば市二の宮三丁目23番地18号
TEL(0298)56-2151　FAX(0298)56-5071
岐　阜／〒500 岐阜市岩地二丁目25番2号
TEL(0582)40-0721　FAX(0582)40-1082
三　重／〒510-12 四日市市桜町三反田2129番1
TEL(0593)26-0231　FAX(0593)26-3577

# 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

●非選択性茎葉処理除草剤 ハヤブサ

Bayer BAYER

日本バイエルアグロケム株式会社
東京都港区高輪4−10−8 〒108

# 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 中西隆太郎

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 tel.東京03−3815−7465

# ペンタッチリカバリー

## NB-7000型　回収装置

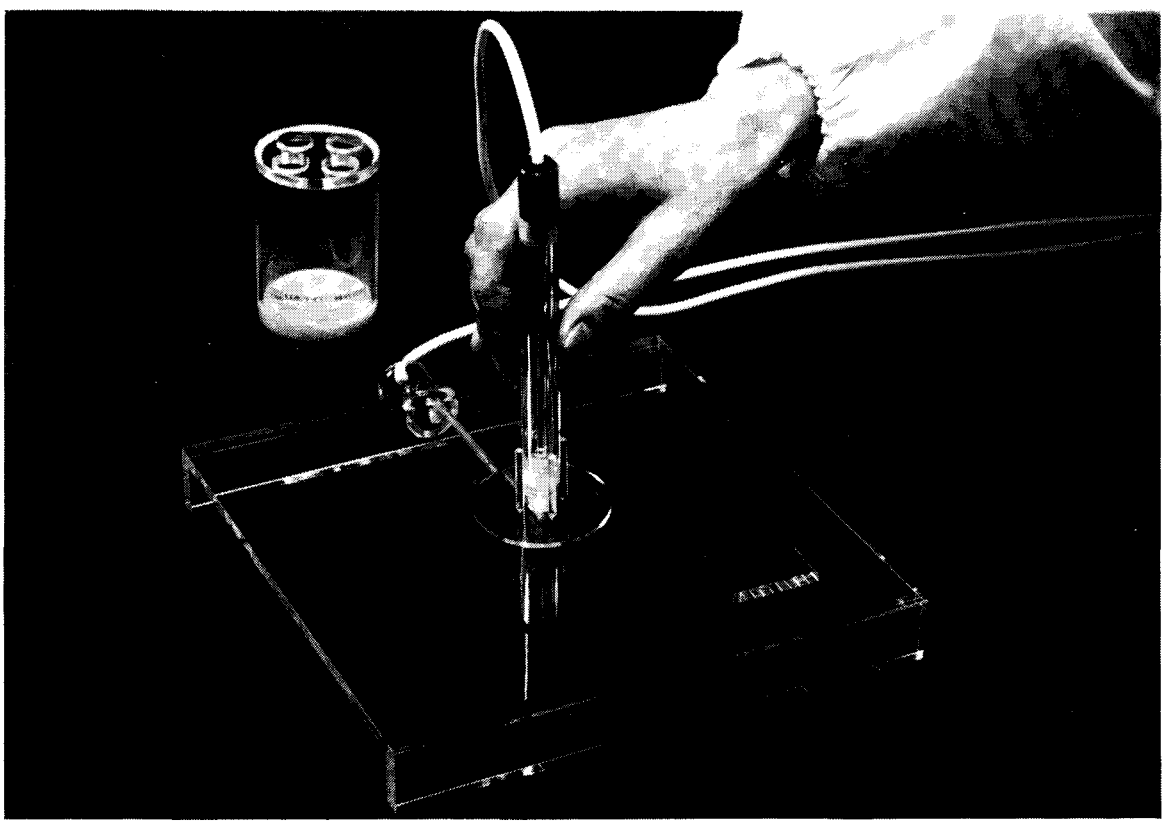
***クローニングスケールの***

***DNA断片回収に威力を発揮します！***

より簡単で
スピーディな
マニュアルに

- ゲルを切らずに直接に
- 20秒〜120秒で(1バンド回収時間・連続使用可)
- 簡単な操作で

6μℓのバッファーに
ViableDNAの回収が可能



**¥80,000**

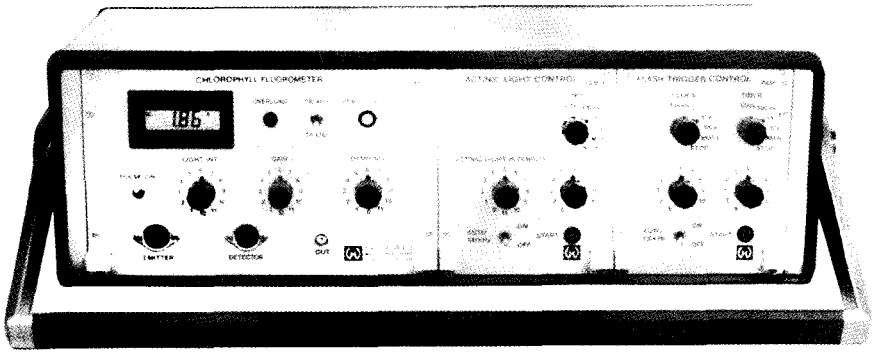
PAT.P 明治乳業ヘルスサイエンス研究所

### This DNA Recovery Method

We report a simple and ultrapid method that is very useful for cloning – scale preparative work. A mong the methods reported to date for recovery of "Viable" DNA fragments from gels, this is the most time – saving and labor – saving one.

日本エイドー株式会社
〒113 東京都文京区湯島2－7－9
TEL.03−3818−1691(代表)/FAX.03−3818−6967

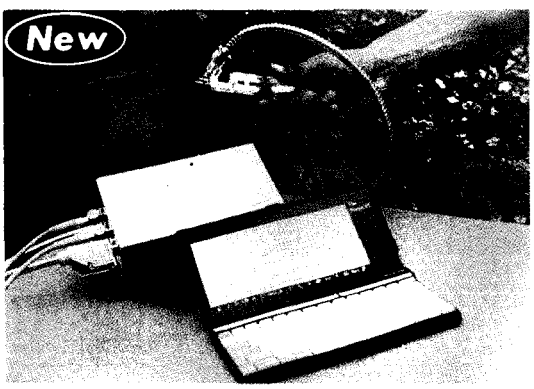
# PAM クロロフィル蛍光測定装置



- 変調原理の応用。
- 100Kz高分解能。
- 植物のストレス診断。
- ＰＳⅡの量子収率。
- 酸化還元型Qの分析。(qp, qn)
- ＰＳⅠ励起測定。
- P700の測定。

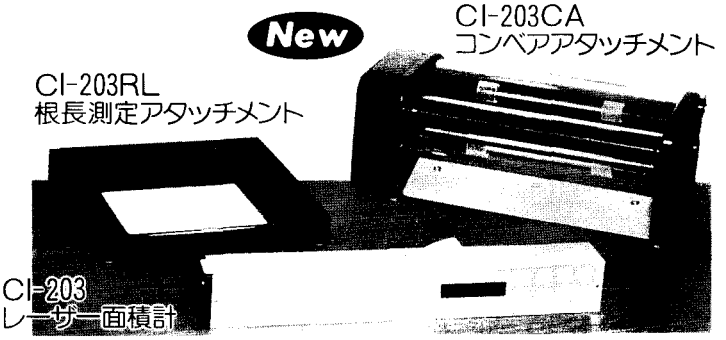
クロロフィル蛍光の測定により光合成測定情報を補足し、光合成作用の詳しい情報が得られます。急速な初期反応から、電子伝達率の測定まで、さまざまな応用が可能です。世界で数多くの研究者に応用されています。

# PAM2000 ポータブル蛍光測定器




- PAMシステムのポータブル化。
- 測定のオンライン化。
- キーボードの測定設定。
- 測定データの自動計算、メモリー。
- 種々光源とディテクター一体化、小型化。
- 葉温、光量子同時測定。

# CI-203 ポータブルレーザー面積計




CI-203仕様

| | |
|---|---|
| ● 分解能 | 幅0.1㎜、長さ0.1㎜ |
| ● 測定サイズ | 幅154㎜、長さ無制限 |
| ● 測定項目 | 面積、長さ、全周、長さ/幅の比、外観比率 |
| ● 測定スピード | MAX400㎜/秒 |
| ● メモリー容量 | 32Kバイト(5,400データ) |

CI-203CA
コンベアアタッチメント特徴

- 連続測定のオートコンベア。
- CI-203面積計と接続。
- ベルト交換不必要
- 254㎜の広い測定幅。
- 早いコンベアスピード（10㎝/秒）

# 6050X1 トレースシステム（TDR 土壌水分測定器）

- 任意地点でリアルタイムに測定できます。
- 校正の必要がありません。
- 多チャンネル化による自動測定ができます。（MAX256ch）
- 深さごとの測定ができます。
- 可搬型、ロガー機能、バッテリー駆動。

※関連品　泥床水分密度,樹木水分密度,雪中水分密度測定装置

# CI-301PS ポータブル光合成蒸散測定装置

- 絶対値／差動値$CO_2$アナライザー。
- さまざまな葉に対応するチャンバーヘッド。
- オープン/クローズドシステム両用での測定可。
- 赤外線による非接触葉温測定。
- 露点計による高精度な湿度測定。
- ディスプレイ上に光合成曲線の表示。
- ＩＣカードによるデータメモリー。
- $CO_2$、湿度コントロール可。
- 内蔵バッテリーで24時間以上使用可。
- 温度、大気圧自動補正。
- ゼロの自動補正。

ES 有限会社アースサイエンス
〒182 東京都調布市染地3-1-32・は13-202
TEL 0424(80)8001 FAX 0424(80)8008