日本植物生理学会1996年度年会
および
第36回シンポジウム

講　演　要　旨　集

1996年 3 月27日（水）～ 3 月29日（金）

鹿児島大学　教養部・理学部・稲盛会館

日本植物生理学会

Calanthe oblanceolata

絶滅したと思われていたサクラジマエビネ *Calanthe oblanceolata* Ohwi et Koyama（鹿児島大学理学部　堀田　満）

日本植物生理学会1996年度年会

お よ び

第36回シンポジウム

シンポジウム

Ⅰ. Improvement of Proteins Involved in Photosynthesis and Regulation of Expression of Their Genes

(NEDO/RITE Super-Rubisco Program 共催)

Ⅱ. 器官・組織・細胞形態の構築制御

(重点領域研究「植物ホルモン機構」「植物器官プラン」共催)

Ⅲ. The Use of Mutants in the Study of Photoreception and Signal Transduction in Plants and Microorganisms

Ⅳ. Cellulose Biosynthesis—There is Light at the End of the Tunnel!

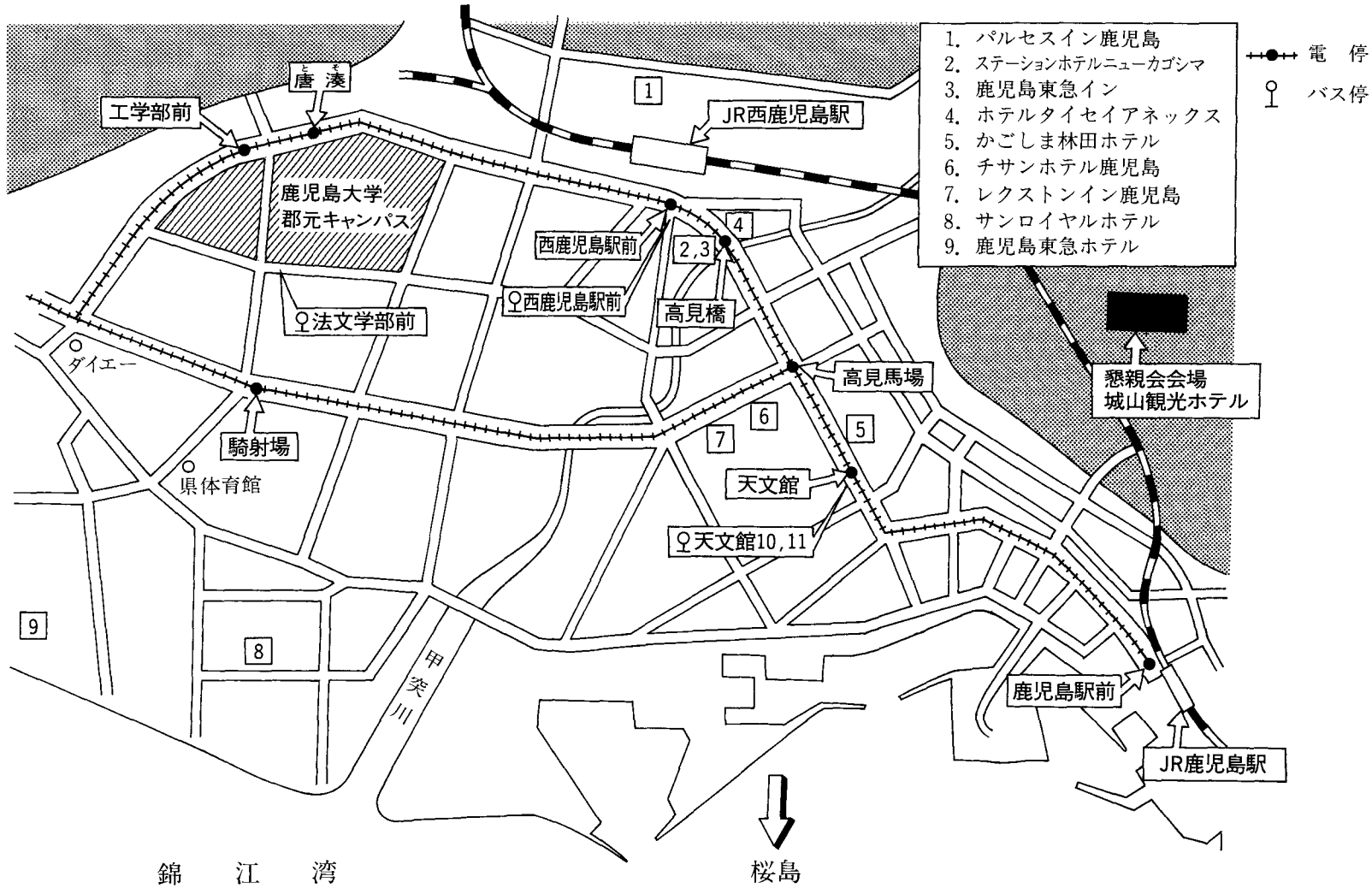
Ⅴ. ジャスモン酸：生理学から分子生物学へ

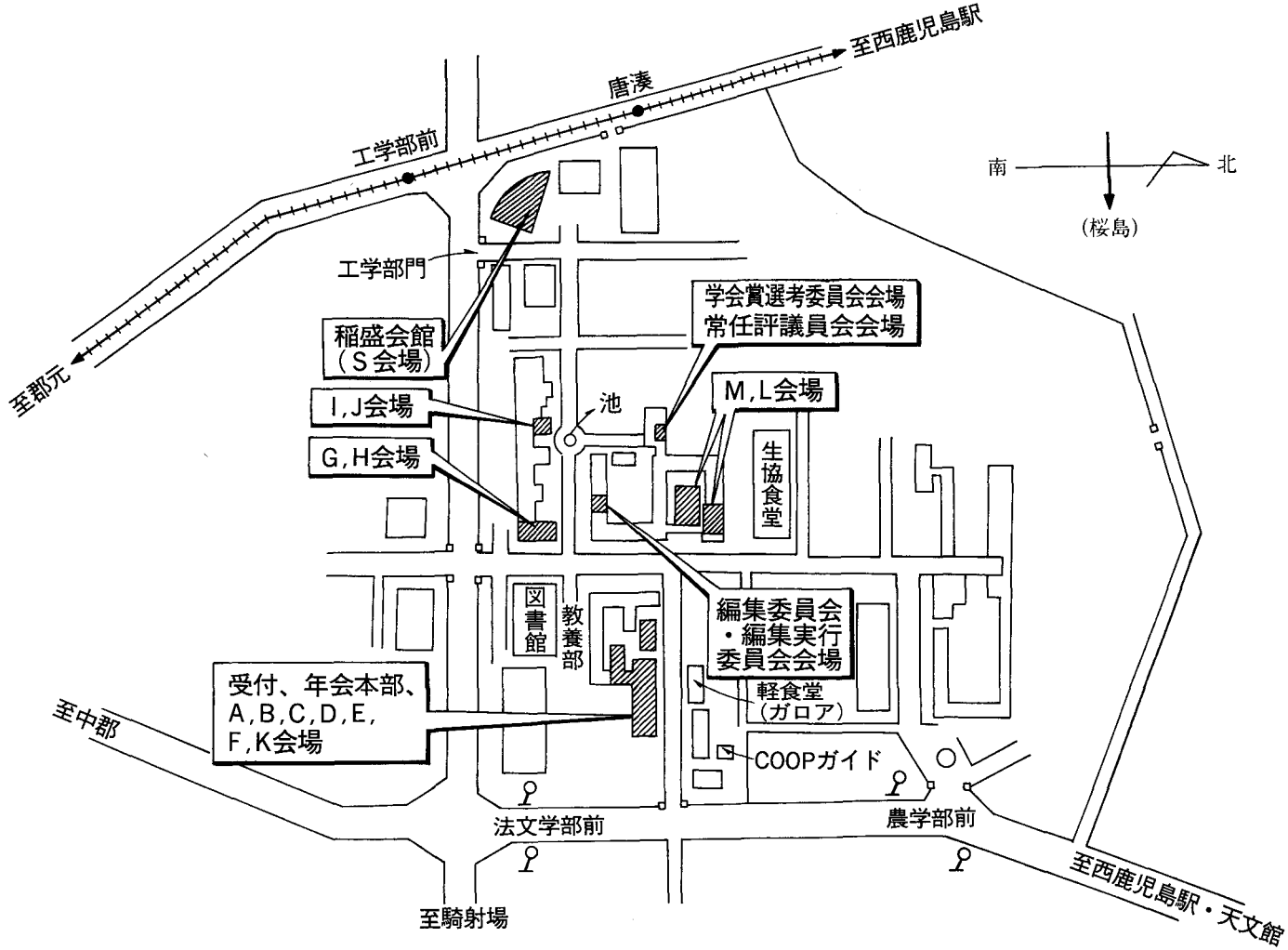
会期：1996年3月27日(水)～3月29日(金)

会場：鹿児島大学　郡元キャンパス

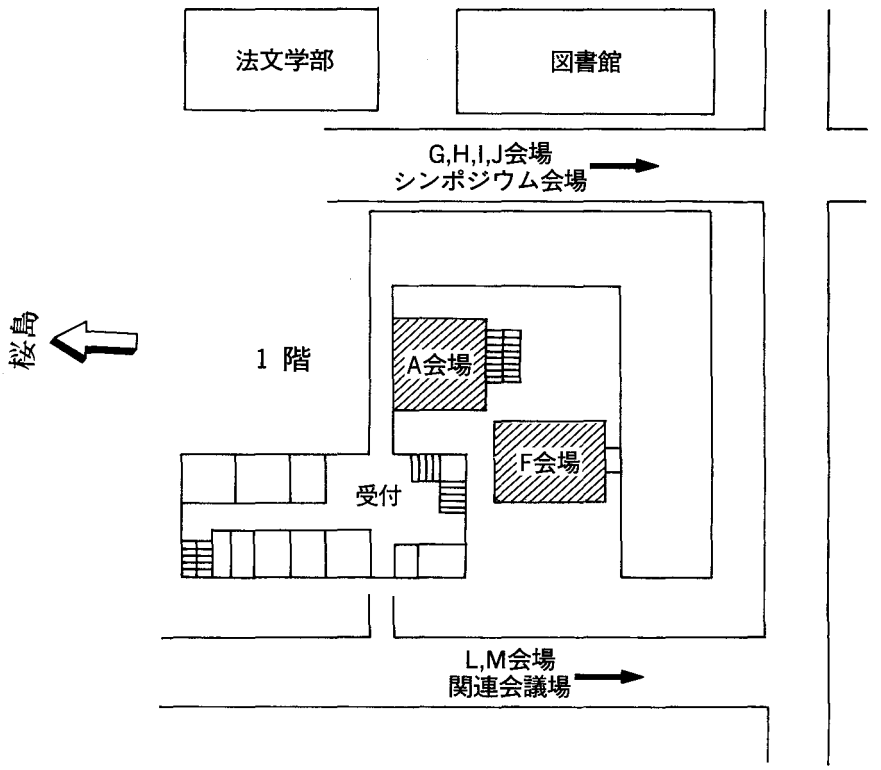
教養部，理学部，稲盛会館

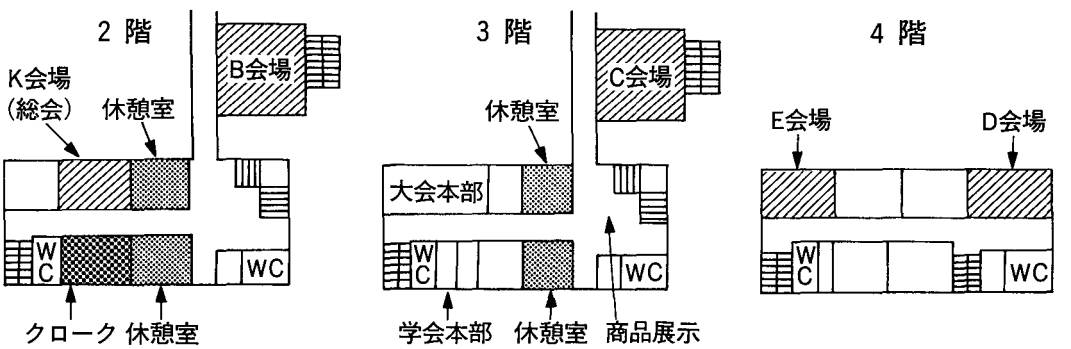
日本植物生理学会


1. パルセスイン鹿児島
2. ステーションホテルニューカゴシマ
3. 鹿児島東急イン
4. ホテルタイセイアネックス
5. かごしま林田ホテル
6. チサンホテル鹿児島
7. レクストンイン鹿児島
8. サンロイヤルホテル
9. 鹿児島東急ホテル
電　停
バス停
唐湊
工学部前
JR西鹿児島駅
鹿児島大学
郡元キャンパス
西鹿児島駅前
西鹿児島駅前
高見橋
法文学部前
ダイエー
高見馬場
懇親会会場
城山観光ホテル
騎射場
県体育館
天文館
天文館10,11
甲突川
鹿児島駅前
JR鹿児島駅
錦　江　湾
桜島

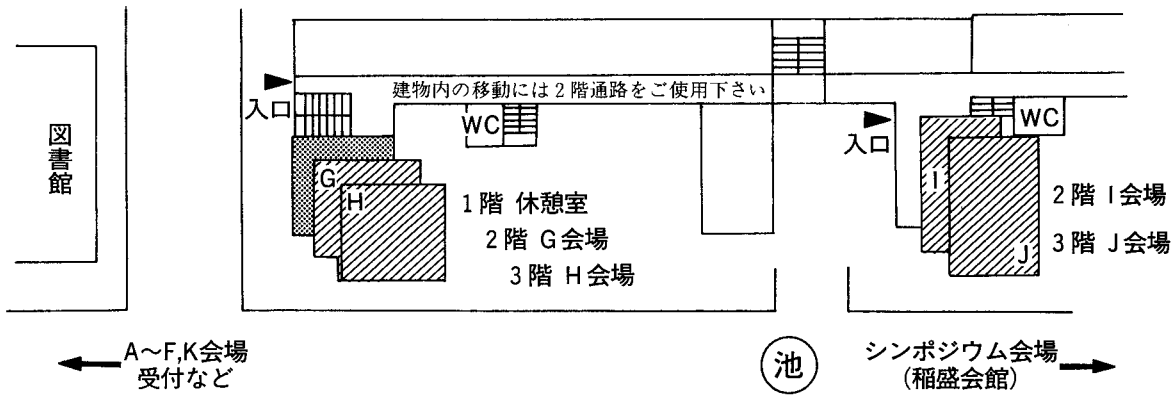

至西鹿児島駅
唐湊
工学部前
至郡元
南
北
(桜島)
工学部門
稲盛会館
(S会場)
学会賞選考委員会会場
常任評議員会会場
M,L会場
I,J会場
池
G,H会場
生協食堂
図書館
教養部
編集委員会
・編集実行
委員会会場
受付、年会本部、
A,B,C,D,E,
F,K会場
軽食堂
(ガロア)
至中郡
COOPガイド
法文学部前
農学部前
至西鹿児島駅・天文館
至騎射場

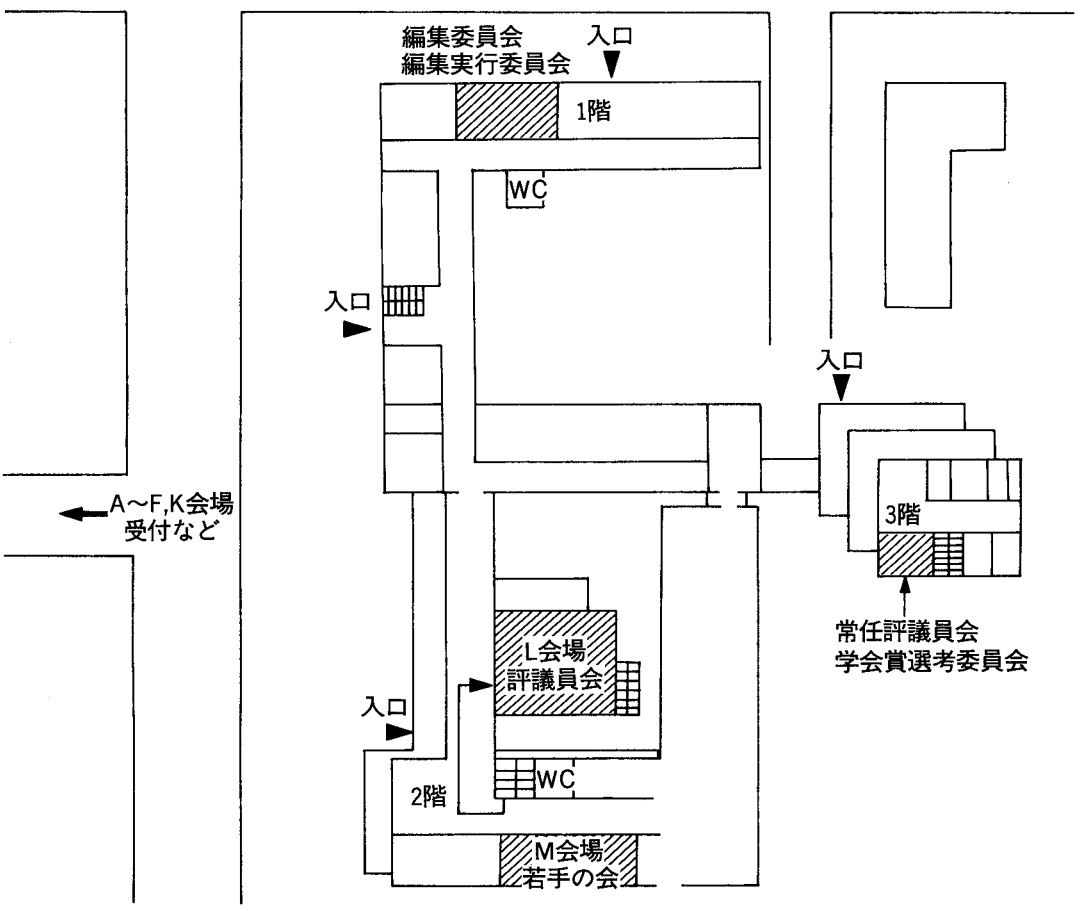
A,B,C,D,E,F,K・大会本部(教養部1号棟)





G,H,I,J会場(教養部3号棟)





L,M会場・関連会議場(理学部棟)

□交通のご案内

1) 鹿児島市内までは……

(1) 飛行機を利用する場合

鹿児島空港から鹿児島市街地までは，空港リムジンバス（10分おきに運行）を御利用ください。市内まで約50分，料金は1,200円です。市内に入りますと，吉野，朝日通り，天文館，西鹿児島駅構内（または駅前の日生ビル），鴨池港に停車します。

(2) JR を利用する場合

西鹿児島駅で下車となります。表口に出ると桜島が望めます。

2) 市内から会場（鹿児島大学郡元キャンパス）までは……

(1) 市電を利用する場合

西鹿児島駅あるいは天文館近辺に宿泊する方は，市電２番系統（郡元行き）が便利です。料金は160円です。工学部前あるいは唐湊（とそ）で下車し，工学部門より入れば，すぐ稲盛会館です。教養部・理学部の会場へは，桜島に向かって広い道路（大学道路）に沿って歩き，図書館の門からお入り下さい。市電１番系統（谷山行き）を利用する場合は，騎射場（きしゃば）で下車，徒歩15分位です。料金は同じく160円です。

(2) バスを利用する場合

西鹿児島駅あるいは天文館近辺に宿泊する方は，市バス10番線（鴨池港行き），11番線（三和町行き）も利用できます。法文学部前で下車し，道路を渡ると教養部会場です。料金は170円です。天文館近辺に宿泊する方は，10番・11番以外にも市バス15番（紫原行き・普通），17番（広木農協行き），18番（大学病院経由桜ヶ丘行き），鹿児島交通の動物園行きが利用できます。何れも騎射場で下車，徒歩15分位となります。

(3) タクシーは，市中心部より会場まで1,000円程度です。

3) 懇親会会場（城山観光ホテル）へは……

受賞講演後に懇親会会場までの送迎バスを用意致しますのでご利用下さい。タクシーを利用される方は，市内中心部より1,000円程度です。

4) 航空券等について

会場内に JTB のブースを設けております。航空券の予約変更，観光案内などお気軽にご相談ください。

5) 駐車場について

大学構内には十分な駐車スペースがありません。車でのお越しは御遠慮下さい。

□参加登録受付

1) A～F 会場の建物（教養部１号棟）１階ロビーで，27日午前8：30より参加登録の受付を始めます。
2) すでに参加申込をされている方は「予約参加受付」で講演要旨と名札をお受け取りください。
3) まだ，参加申込をされていない方（参加費を納入されていない方）は，「当日参加受付」で手続きをお取り下さい。
4) 会場内では常時，名札をご着用下さい。

□クローク

教養部１号棟２階，K 会場の近くにクロークを開設します。お預りする時間帯は次の通りです。

3月27日　8：30～18：00

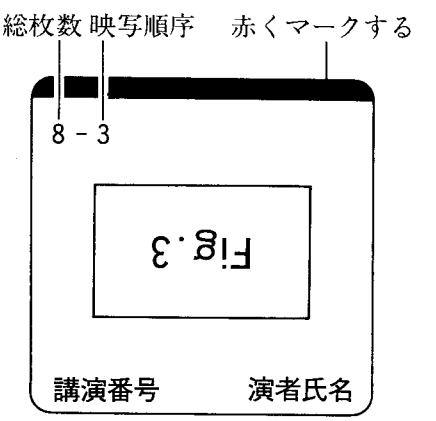
3月28日　8：00～18：00

3月29日　8：00～13：00

夜間は管理できませんので，2日にわたるお預かりは致しません。預けたお荷物は必ずその日の中にお受け取り下さい。

□講演発表される方へ

日本植物生理学会会則第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，演者が本会に未加入の場合は，発表に先だって学会本部にて入会手続きをお取りいただくようお願いします。



1) スライドは35 mm 判の通常のものに限ります。スライド枠には下図のようにマークし，講演番号，演者氏名，総枚数，映写順序をお書き下さい。
2) ご講演の30分前までに各会場入り口の「スライド受付」にて，各自でスライドホルダーにスライドを入れて下さい。
3) 一つ前の講演が始まるときには「次演者席」に着席してください。
4) 一般講演は講演時間12分，討論時間3分です。講演開始後10分後に第一鈴，12分後に第二鈴（講演時間終了）15分後に第三鈴の順に時間経過をお知らせします。座長の指示に従い，時間を厳守して下さるようお願いします。
5) シンポジウム会場 (S) ではスライドプロジェクターの他に OHP を用意しておりますので，ご使用になる方はスライド受付の際に予めその旨を係員にお知らせ下さい。
6) 講演終了後，その日の中にスライド受付にてスライドをお受け取り下さい。

□年会参加者への連絡方法

1) 会期中（26日～29日），年会本部へのお問い合わせや年会参加者への伝言には下記の電話または Fax をお使い下さい。

Tel 030-01-55242（年会本部内設置）

Fax 099-285-8172（理学部生物学科気付）

2) 年会本部で受け取った伝言は教養部1号棟受付ロビー付近の「伝言板」に掲示します。会場内での呼び出しは致しません。
3) また，「伝言板」は年会参加者相互の連絡にも自由にご利用下さい。

□年会およびシンポジウムについてのお問い合わせ

3月26日までの年会およびシンポジウムについてのお問い合わせは下記にお願いします。

〒890 鹿児島市郡元1-21-35

鹿児島大学理学部生物学科

JSPP 準備委員会　総務係（阿部，内海）
Tel 099-285-8163，8165　Fax 099-285-8172

□関連会議

学会賞選考委員会	3月26日（火）（大会前日）	14：00～15：00	理学部生物学科セミナー室
編集実行委員会	3月26日（火）（大会前日）	15：30～16：30	理学部会議室
編集委員会	3月26日（火）（大会前日）	17：00～21：00	理学部会議室
常任評議委員会	3月27日（水）	12：00～13：00	理学部生物学科セミナー室
評議員会	3月27日（水）	18：00～21：00	L 会場（理学部棟2階）
総会	3月28日（木）	12：00～13：00	K 会場（教養部1号棟）

□懇 親 会

日　　時：3月28日（木）　18：45～
場　　所：城山観光ホテル
　　鹿児島市新照院町4-1-1
　　Tel 099-224-2211
受賞講演後に懇親会会場までの送迎バスを用意致しますのでご利用下さい。

□関連集会　　第1日　3月27日（水）午後6時～　M 会場（理学部棟2階）

「植物生理若い研究者の会」

オーガナイザー　中島信美（国立環境研）

18：00　はじめに
18：05　シロイヌナズナを用いた種子休眠の遺伝学的解析
　　南原英司（北海道大・農）
18：50　葉緑体核様体中の新規 DNA 結合タンパク質・CND41 の構造と機能
　　中野雄司（理研・植物機能・基礎科学特別研究員）
19：35　おわりに

19：50　親睦会

□**授賞式・受賞講演**　　第2日　3月28日（木）16：30～17：45　S会場（稲盛会館）

〔授賞式〕

16：30　選考経過報告
賞状授与

〔受賞講演〕

日本植物生理学会奨励賞

16：45　園部　誠司（姫路工業大学・理学部・生命科学科）
タバコ培養細胞 BY-2 における植物細胞骨格実験系の開発

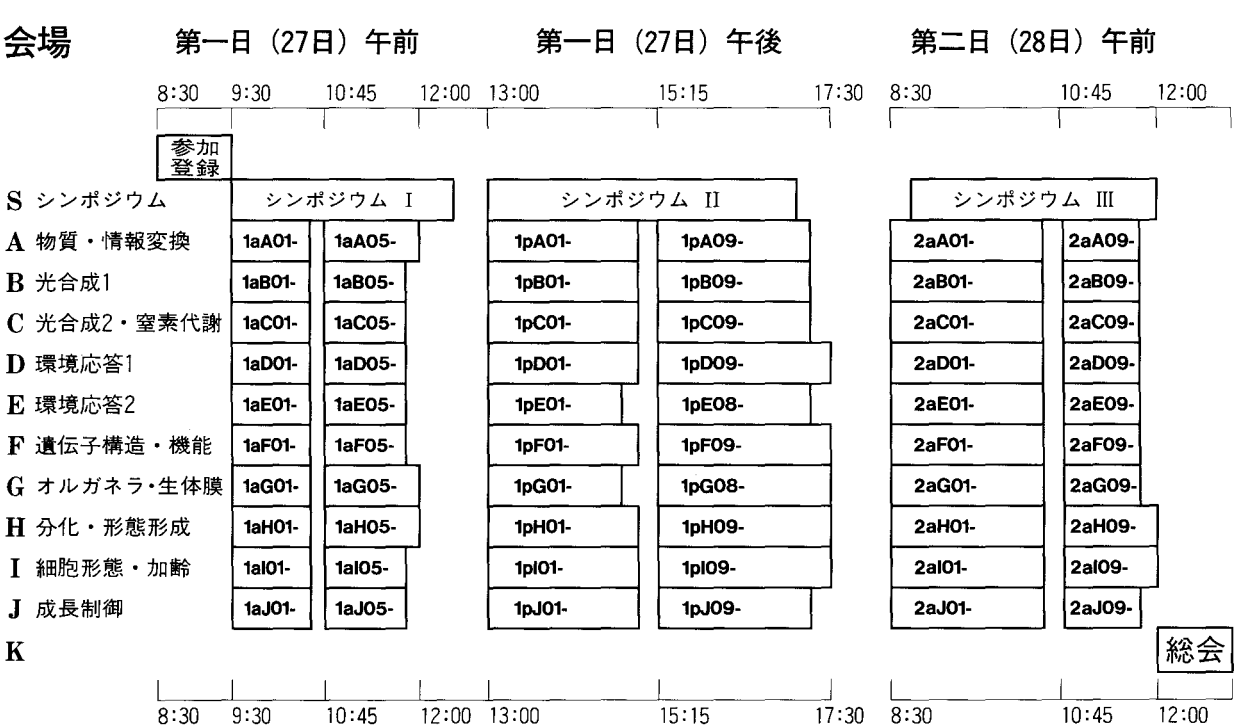
17：05　徳富（宮尾）光恵　（農林水産省・農業生物資源研究所）
光合成光化学系Ⅱ複合体の構造と機能の解析

日本植物生理学会論文賞

17：25　川口正代司（東京大学・教養学部・基礎科学科）
カラタチの果実におけるインドールアセトアミドを経由する
オーキシン生合成経路の存在

—受賞論文—
Masayoshi Kawaguchi, Shozo Fujioka, Akira Sakurai,
Yoshikazu T. Yamaki and Kunihiko Syōno
Presence of a pathway for the biosynthesis of auxin via
indole-3-acetamide in trifoliata orange.
Plant Cell Physiol. **34** (**1**) : 121–128 (1993)

日 程 表

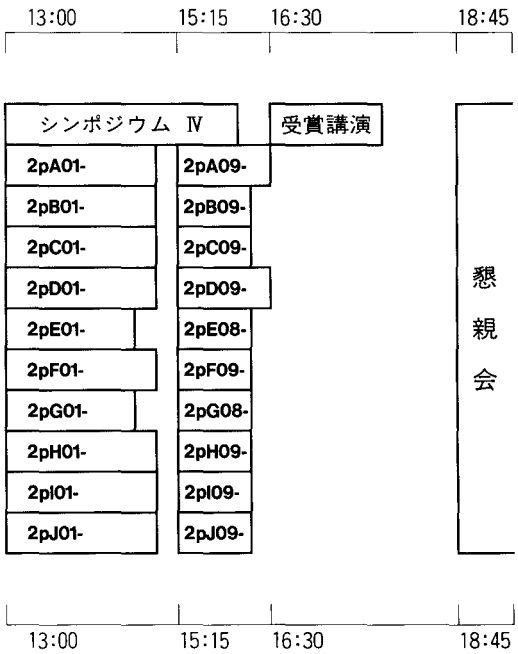


シンポジウム・一般講演各セッションのキーワード表

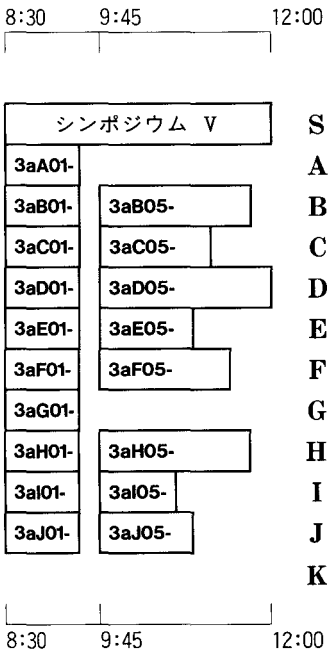
S シンポジウム	photosynthesis		形態構築機構		photoreception signal transduction
A 物質・情報変換	植物ホルモン代謝 酵素		蛋白質	糖質関連酵素 遺伝子	情報伝達	情報伝達
B 光合成1	光化学系 I 光化学系 II		光化学系 II	光化学系 II	光化学系 II らん藻	光化学系 II
C 光合成2・窒素代謝	窒素代謝 窒素代謝		炭酸同化	炭酸同化	炭酸同化 らん藻	らん藻 光合成細菌
D 環境応答1	傷害	傷害	病害抵抗性	病害抵抗性	温度応答	温度障害
E 環境応答2	水分・浸透圧 水ストレス		塩ストレス	塩ストレス 窒素代謝	窒素代謝 イオン・金属	イオン・金属
F 遺伝子構造・機能	遺伝子構造		遺伝子構造	遺伝子発現	遺伝子発現	遺伝子発現
G オルガネラ・生体膜	脂質	生体膜	オルガネラ	オルガネラ	生体膜 イオン輸送	細胞内輸送
H 分化・形態形成	生殖器官	生殖機構	種子形成・休眠 光形態形成	光形態形成	生殖機構 細胞分化	細胞分化 形態形成
I 細胞形態・加齢	細胞壁	細胞壁	細胞壁	細胞壁	加齢・老化 細胞死	細胞壁
J 成長制御	植物ホルモン		植物ホルモン	植物ホルモン	成長制御 植物ホルモン	植物ホルモン

日 程 表

第二日（28日）午後



第三日（29日）午前



S シンポジウム
A 物質・情報変換
B 光合成1
C 光合成2・窒素代謝
D 環境応答1
E 環境応答2
F 遺伝子構造・機能
G オルガネラ・生体膜
H 分化・形態形成
I 細胞形態・加齢
J 成長制御
K

シンポジウム・一般講演各セッションのキーワード表

cellulose	ジャスモン酸	S シンポジウム
情報伝達 病害抵抗性	病害抵抗性 根粒菌	
	生物時計	A 物質・情報変換
光化学系II 電子伝達	光化学系II 電子伝達	
	水分解　光合成装置 酸素発生	B 光合成1
らん藻 光合成細菌	らん藻 光合成細菌	
	らん藻　らん藻 光合成細菌　光合成細菌	C 光合成2・窒素代謝
光応答	光応答	
	光応答　光応答	D 環境応答1
イオン・金属	酸素障害	
	光ストレス 光ストレス	E 環境応答2
遺伝子発現	遺伝子発現	
	遺伝子操作 遺伝子操作	F 遺伝子構造・機能
イオン輸送 吸収・転流	栄養	
	代謝	G オルガネラ・生体膜
形態形成	形態形成	
	形態形成　形態形成	H 分化・形態形成
細胞周期 細胞分裂	細胞骨格	
	細胞骨格 細胞骨格	I 細胞形態・加齢
植物ホルモン 成長促進物質	成長抑制物質	
	植物ホルモン 開花・生殖制御物質	J 成長制御

シンポジウムI　第1日　3月27日（水）9：30～12：30　S会場（稲盛会館）

Improvement of Proteins Involved in Photosynthesis and Regulation of Expression of Their Genes

(NEDO/RITE Super-Rubisco Program 共催)

オーガナイザー　小林裕和（静岡県大・基生研）
横田明穂 (RITE)

9：30　Introductory remarks　Hirokazu Kobayashi (University of Shizuoka)

Session I　Protein designing and *in vitro* mutagenesis

Chair; Kimiyuki Satoh (Okayama University)
and Teruo Ogawa (Nagoya University)

9：35　1aS1　A strategy to create Super-Rubisco: Study on structure-function relationship in fallover of Rubisco

Akiho Yokota[1] and Yasushi Kai[2] ([1]RITE and [2]Osaka University)

10：05　1aS2　Functional analysis of PEP carboxylase by site-directed mutagenesis and structural features of a heat-stable enzyme

Katsura Izui (Kyoto University)

10：30　1aS3　A powerful strategy with *in vitro* random mutagenesis of genes and subsequent selection of their transformants: Its application to conferring photo-tolerance on D1 protein

Hirokazu Kobayashi[1,2], Yoshihiro Narusaka[2] and Kimiyuki Satoh[2,3]
([1]University of Shizuoka, [2]National Institute for Basic Biology and [3]Okayama University)

Session II　Regulation of gene expression

Chair; Shigetoh Miyachi
(Marine Biotechnology Institute)

10：55　1aS4　Cyanobacterial mutants impaired in ability to grow under changing CO_2 concentration

Michal Ronen-Tarazi, David Bonfil, Judy Lieman-Hurwitz and Aaron Kaplan (The Hebrew University)

11 : 20 1aS5 How is the expression of ribulose bisphosphate carboxylase controlled ?

Lawrence Bogorad, Steven R. Rodermel, Jean Haley and Marc Purcell (Harvard University)

11 : 45 1aS6 Abolish feedback repression of photosynthetic gene expression by sugar sensor manipulation

Jyan-Chyun Jang and Jen Sheen (Harvard Medical School)

Session III Gene resources

Chair; Tadashi Matsunaga (Tokyo University of Agriculture and Technology)

12 : 10 1aS7 Marine organisms as gene resources

Hisato Ikemoto and Shigetoh Miyachi (Marine Biotechnology Institute)

12 : 25 General discussion and concluding remarks

Aaron Kaplan (The Hebrew University)

シンポジウム II　　第1日　3月27日（水）13：00〜17：15　S 会場（稲盛会館）

器官・組織・細胞形態の構築制御

（重点領域研究「植物ホルモン機構」「植物器官プラン」共催）

オーガナイザー　柴岡弘郎（大阪大・理）

13：00　はじめに　今関英雅（日本たばこ・遺伝育種研）

座長　柴岡弘郎（大阪大・理）

13：10　1pS1　植物微小管の機能制御とキネシン様モーター蛋白質
浅田哲弘（大阪大・理）

13：45　1pS2　植物の成長制御におけるエンド型キシログルカン転移酵素遺伝子群 (EXGTs) の役割
西谷和彦（鹿児島大・教養）

14：20　1pS3　増殖と細胞構築の接点　長田敏行（東京大・院・理）

14：55　ブレイク

座長　町田泰則（名古屋大・理・生物）

15：15　1pS4　植物の器官形成に関与するジンクフィンガー転写調節因子の逆行性遺伝学的機能解析
高辻博志，小林　晃，坂本綾子（農水省・生物研）

15：50　1pS5　タバコホメオボックス遺伝子の細胞特異的発現と形態形成との関わり
玉置雅紀，佐藤　豊，松岡　信（名古屋大・生物分子応答）

16：25　1pS6　根における細胞分化の制御機構
岡田清孝，和田拓治，小山時隆，久保深雪，橘　達彦，宇佐美隆二，石黒澄衛（京都大・院・理）

17：00　おわりに　中村研三（名古屋大・農）

シンポジウム III　第2日　3月28日（木）9：00～12：00　S会場（稲盛会館）

The Use of Mutants in the Study of Photoreception and Signal Transduction in Plants and Microorganisms

オーガナイザー　渡辺正勝（基生研）
長谷あきら（東京大・遺伝子）
大森正之（東京大・教養）

Chair; Akira Nagatani (Mol. Gen. Res. Lab., Univ. Tokyo)

9：00　2aS1　Different photoperception and gene expression for different phytochromes
Masaki Furuya, Norihito Kuno, Takamichi Muramatsu[1]
(Hitachi Advanced Res. Lab, [1]Hitachi DECO)

9：30　2aS2　Two dominant photomorphogenic mutations of *Arabidopsis thaliana* identified as suppressor mutations of HY2
Byung Chul Kim[1], Moon Soo Soh[1], Bong Joong Kang[1], Masaki Furuya[2] and Hong Gil Nam[1,3] ([1]Dept. Life Sci., Pohang Univ. Sci. Technol., [2]Adv. Res. Lab., Hitachi Ltd., [3]Plant Mol. Biol. Biotech. Res. Center)

Chair; Masakatsu Watanabe (Natl. Inst. Basic Biol.)

10：00　2aS3　Use of blind mutant strains and chromophore analogs for rhodopsin photosystems of halobacteria and *Chlamydomonas*
Tetsuo Takahashi
(School of Materials Sci., Japan Adv. Inst. Sci/Tech)

10：30　2aS4　DNA insertional mutation for the analysis of physiological events in *Chlamydomonas reinhardtii*
Kazuichi Yoshida, Hisashi Ito, Ayumi Tanaka
(Dept. Bot., Fac. Sci., Kyoto Univ.)

Chair; Masayuki Ohmori (Dept. Life Sci., Grad. School Arts and Sci., Univ. Tokyo)

11：00　2aS5　Circadian photobiology of photosynthetic organisms
Carl H. Johnson (Dept. Biol., Vanderbilt Univ.)

11：30　General discussion

シンポジウム IV　第2日　3月28日（木）13：00～16：00　S会場（稲盛会館）

Cellulose Biosynthesis — There is Light at the End of the Tunnel !

Organizer: Naoki Sakurai (Hiroshima University)
Takahisa Hayashi (Kyoto University)

13：00　Opening remarks　Takahisa Hayashi (Kyoto University)

Chair; Takao Itoh (Kyoto University)

13：05　2pS1　A search for catalytic and regulatory components in eukaryotic cellulose biosynthesis
Malcolm R. Brown, Jr. (University of Texas)

Chair; Kazuhiko Nishitani (Kagoshima University)

13：45　2pS2　Tubulin-containing granules in the plasma membranes of azuki bean epicotyls and their relationship to the synthesis of β-glucan
Koichi Mizuno (Osaka University)

Chair; Takayuki Hoson (Osaka City University)

14：25　2pS3　Subunit composition of cellulose and callose synthase complexes in cotton fibers
Deborah P. Delmer (Hebrew University)

Chair; Akira Watanabe (Tokyo University)

15：05　2pS4　Analysis of barley mutants with less cellulose production
Naoki Sakurai (Hiroshima University)

15：45　General Discussion　Takahisa Hayashi (Kyoto University)

シンポジウム V　　第3日　3月29日（金）8：30～12：00　S 会場（稲盛会館）

ジャスモン酸：生理学から分子生物学へ

オーガナイザー　柴田大輔（三井業際植物バイオ研）
上田純一（大阪府大・総合）

8：30　はじめに――現在に至るジャスモン酸研究の流れ――
上田純一（大阪府大・総合）

座長　上田純一（大阪府大・総合）

8：45　3aS1　植物の茎成長制御とジャスモン酸
宮本健助（大阪府大・総合）

9：15　3aS2　形態制御とジャスモン酸
幸田泰則[1]，高橋淳[2]，喜久田嘉郎[1]（[1]北海道大・農，[2]北海道薬大）

9：45　3aS3　ジャスモン酸の定性定量分析
山根久和（東京大・生物工学センター）

座長　柴田大輔（三井業際植物バイオ研）

10：15　3aS4　ジャスモン酸により誘導される遺伝子とその誘導機構の解析
太田啓之[1]，鈴木玄樹[1]，加藤友彦[2]，柴田大輔[2]，増田健[1]，塩井祐三[1]，
高宮建一郎[1]（[1]東工大・生命理工，[2]三井業際植物バイオ研）

10：45　3aS5　遺伝子発現でみたタバコ BY-2 細胞のジャスモン酸に対する初期応答
中村研三，今西俊介，村本伸彦，小島久恵（名古屋大・農）

11：15　3aS6　病傷害ストレス応答とジャスモン酸
大橋祐子[1]，瀬尾茂美[1]，佐野浩[2]（[1]農水省・生物研，[2]奈良先端大）

11：45　おわりに――これからのジャスモン酸研究の方向性――
柴田大輔（三井業際植物バイオ研）

A 会場　物質・情報変換

第 1 日（3 月27日）午前

9:30　1aA01　エンドウおよびアベナ幼芽のトリプトファンからトリプトアミン，インドールアセトアルデヒドそしてIAA への経路
平沢栄次，吉田泉，M. A. Awal Howlader，重友恵子，永山烈（大阪市大・理・生物）

9:45　1aA02　*Rhizoctonia* 属菌による IAA 産生とその生合成経路について
古川聡子，古賀仁一郎[1]，足立堯[1]，岸國平，庄野邦彦[2]（都立立川短大，[1]明治製菓・生物科学研，[2]東京大・教養・生命）

10:00　1aA03　日長と [2-^{14}C]ジャスモン酸の代謝移動
吉原照彦，大森史裕，市原耿民（北海道大・農・生物機能化学）

10:15　1aA04　ジャスモン酸メチルにより発現が誘導されるシトクロム P450 cDNA の単離
鈴木玄樹，太田啓之，加藤友彦[1]，柴田大輔[1]，増田建，塩井祐三，高宮建一郎（東京工大・生命理工・生体機構，[1]三井業際植物バイオ研）

10:30　休　憩

10:45　1aA05　キュウリ実生リポキシゲナーゼの多様性
松井健二，西岡美晴，田淵豊，梶原忠彦，長谷俊治[1]（山口大・農・応生化，[1]大阪大・蛋白研）

11:00　1aA06　ステビア植物での HMG-CoA レダクターゼ活性とステビオール合成酵素の特性
金勤堤，柴田均，山下寛，澤嘉弘（島根大・生物資源科学）

11:15　1aA07　抗菌性タバコオスモチン様タンパク質 (OLP) の結晶化
小岩尚志，加藤博章[1]，中津亨[1]，西岡孝明[1]，小田順一[1]，山田康之[2]，佐藤文彦（京都大・農・農化，[1]京都大・化研，[2]奈良先端大・バイオサイエンス）

11:30　1aA08　オオムギの細胞質リボソーム蛋白質の解析
牧泰史，和田明[1]，田中歩（京都大・理・植物，[1]京都大・理・物理）

11:45　1aA09　リン酸飢餓状態下で誘導される *Spirodera oligorrhiza* の低分子量ホスファターゼの精製と性質
一瀬信敏[1,2]，澤田美智子[2]，石川鑛[1]，奥山英登志[1,2]（[1]北海道大・院・地球環境，[2]工技院・北海道工技研）

第 1 日（3 月27日）午後

13:00　1pA01　リボース—ビスリン酸イソメラーゼの機能解析
毛利宏，山下寛，澤嘉弘，柴田均（島根大・生物資源科学）

13:15　1pA02　単細胞性紅藻 *Porphyridium purpureum* 炭酸脱水酵素ポリペプチドに二つ存在する活性部位のいずれかを破壊した変異酵素の CA 活性
三橋敏，藏野憲秀，宮地重遠（海洋バイオテクノロジー研・釜石研）

13:30　1pA03　SDS により活性化されるトウモロコシ成葉・プロテアーゼの SDS による活性発現と安定性に及ぼす影響
山田隆文，太田啓之，増田建，塩井祐三，高宮建一郎（東京工大・生命理工）

13:45　1pA04　キュウリ緑葉中に発現するプロテアーゼの精製
山内靖雄，大西道人[1]，杉本敏男[1]，末吉邦[1]，王子善清[1]（神戸大・自然科学，[1]神戸大・農・生物環境制御）

14:00　1pA05　イネ・カタラーゼ *CatA, CatB, CatC* 遺伝子のストレス応答
肥後健一，肥後ひろみ（農水省・生物資源研）

14:15　1pA06　アスコルビン酸ペルオキシダーゼのカタラーゼ様活性
尼子克己，浅田浩二[1]（大阪府大・農・応用生物化学，[1]京都大・食研）

14:30　1pA07　オオムギ糊粉層ヌクレアーゼ cDNA の単離
青柳滋美[1]，杉山宗隆[1]，福田裕穂[1,2]（[1]東北大・院・理・生物，[2]東京大・理・植物園）

14:45　1pA08　ニセアカシア内樹皮レクチンの 29 kDa サブユニットをコードする遺伝子の単離
吉田和正（農水省・森林総研）

15:00　休　憩

A 会場　物質・情報変換

15:15　1pA09　スクロース：スクロースフルクトシルトランスフェラーゼ (SST) と β-フルクトフラノシダーゼのアミノ酸配列の相同性について
伊勢島エリザ美智子，藤野介延，喜久田嘉郎（北海道大・農・作物生理）

15:30　1pA10　バレイショ塊茎 (*Solanum tuberosum* L. cv. Brodick) 由来 ATP 依存型ホスホフルクトキナーゼをコードする cDNA の単離と解析
日吉徹，Huw R. Tyson, Anthony J. Page, Nicholas J. Kruger[1], Brian J. Forde（ロザムステッド試験場・生理生化学部，[1]オックスフォード大・植物科学部）

15:45　1pA11　イネショ糖燐酸合成酵素のクローニングおよび発現パターンの解析
徳楽清孝，穴井豊昭，長谷川宏司，久島繁（筑波大・応生化）

16:00　1pA12　イネ種子 α-アミラーゼ／ズブチリシンインヒビターの遺伝子構造解析
山崎照之，赤松佳代子，山形裕士，岩崎照雄（神戸大・農・生物機能化学）

16:15　1pA13　倍数性の異なるコムギ未熟種子の DNA 量に基づく Wx 遺伝子数に対応する Wx タンパクの量とその酵素活性の変異の再評価
藤田直子，和田野晃[1]，平知明（大阪府立大・農・応用植物科学，[1]大阪府立大・応用生物化学）

16:30　1pA14　イネ *wx* 遺伝子座に存在する 2 つの対立遺伝子 (Wx^a, Wx^b) の発現制御の解析
平野博之，永口貢（国立遺伝研）

16:45　1pA15　イネ胚乳デンプンミュータント，シュガリーの解析と Starch debranching enzymes (DE) の性質
中村保典，久保亜希子[1]，原田久也[1]，中北真紀子，松田智明[2]，島宗知行[2]，高橋一典[2]，佐藤光[3]（農水省・生物研，[1]千葉大・園芸，[2]茨城大・農，[3]九州大・農）

17:00　1pA16　サツマイモのデンプン合成酵素遺伝子のクローニング
瀬戸山愛子，内海俊樹，阿部美紀子，東四郎（鹿児島大・理・生物）

第 2 日（3 月28日）午前

8:30　2aA01　エンドウ原形質膜画分から分離したコンカナバリン A 結合蛋白質複合体
豊田和弘，杉本恵，一瀬勇規，山田哲治，白石友紀（岡山大・農）

8:45　2aA02　ニセアカシア樹皮レクチンの糖鎖認識における Asp87, Phe130, Arg131 の機能
西口満，田崎清，吉田和正，角園敏郎（農水省・森林総研）

9:00　2aA03　イネ培養細胞の原形質膜に存在するキチンオリゴ糖エリシター結合タンパク質の可溶化と精製
賀来華江，伊藤ユキ，渋谷直人（農水省・生物研）

9:15　2aA04　N-アセチルキトオリゴ糖に応答するイネ遺伝子の活性化機構
賀道耀，渋谷直人，南栄一（農水省・農業生物資源研）

9:30　2aA05　シロイヌナズナ MAP kinase cascades の解析 (1)
溝口剛[1]，Peter Morris[2]，入江賢児[3]，市村和也[1,4]，松本邦弘[3]，Jérôme Giraudat[2]，篠崎一雄[1]（[1]理研・植物分子，[2]Inst. Sci. Vegetales, CNRS, France, [3]名古屋大・分子生物，[4]筑波大・生物）

9:45　2aA06　シロイヌナズナ MAPKK 関連遺伝子の解析
市村和也[1,2]，溝口剛[2]，Peter Morris[3]，Jérôme Giraudat[3]，篠崎一雄[2]（[1]筑波大・生物科学，[2]理研・植物分子，[3]Inst. Sci. Vegetales, CNRS, France）

10:00　2aA07　イネの SNF1 様プロテインキナーゼ
鐘ケ江弘美，菊池尚志，船附秀行[1]，高野誠（農水省・農業生物資源研，[1]北海道農業試験場）

10:15　2aA08　トウモロコシの Ca^{2+} 依存性プロテインキナーゼ (CDPK) cDNA の単離および遺伝子産物の解析
西條雄介，古本強，Jen Sheen[1]，畑信吾，泉井桂（京都大・農・農生，[1]Massachusetts General Hospital）

10:30　休　憩

10:45　2aA09　ゼンマイ胞子葉緑体におけるチラコイド膜プロテインキナーゼ PK68 の性質
蒲池浩之，森井環，井上弘（富山大・理・環境）

11:00　2aA10　タバコプロテインキナーゼ NPK5 は HMG-CoA リダクターゼをリン酸化するか？
村中俊哉，大江田憲治，町田泰則[1]（住友化学・生命研，[1]名古屋大・理・生物）

11:15　2aA11　イネカルス細胞再分化過程に関与するリン酸化蛋白質の解析
小松節子，浜田徹，苅部英寿，阿部啓輔（農水省・生物研）

A 会場　物質・情報変換

11:30　2aA12　CK-II によってリン酸化される葉緑体 DNA 結合性 56 kDa polypeptide (p56) の生理機能に関する解析
金勝一樹，道家建二郎，船山学[1]，中村崇裕[1]，大槻健蔵[1]（北里大・一般教育・生物，[1]北里大・衛生・遺伝生化学）

第 2 日（3 月28日）午後

13:00　2pA01　イネの三量体 G 蛋白質 β サブユニットの cDNA クローニング
石川敦司，岩崎行玄，旭正（福井県立大・生物資源）

13:15　2pA02　イネ 3 量体 G 蛋白質 α サブユニットの解析
岩崎行玄，石川敦司，旭正（福井県立大・生物資源）

13:30　2pA03　人為的誘導系を用いたプロテインフォスファターゼの機能解析
青木幹雄，青山卓史，岡穆宏（京都大・化研）

13:45　2pA04　アカパンカビ生物時計の光による位相変化過程でのカルシウムの関与
定金豊，片桐敏，中島秀明（岡山大・理・生物）

14:00　2pA05　イネの耐冷性とカフェイン感受性 Ca^{2+} チャネルの関係
北川良親，Nirmal Joshee，吉崎克明[1]（秋田農短大・生物工学研，[1]秋田医療短大）

14:15　2pA06　イネいもち病抵抗性遺伝子 *Pi-b, Pi-ta*[2] の BAC ライブラリーによるフィジカルマッピング
川崎信二，K. Rybka，中村信吾，秋山康紀，佐々木典子，[1]安東郁男（農水省・生物研，[1]農研センター）

14:30　2pA07　一酸化窒素 (NO) によるジャガイモファイトアレキシン生成誘導
則武智哉，川北一人，道家紀志（名古屋大・農・植物病理）

14:45　2pA08　オオムギの全身獲得抵抗性 (SAR) ——グラミンの関与について——
松尾広信，谷口久美子，平本忠浩，一瀬勇規，山田哲治，白石友紀（岡山大・農）

15:00　休　憩

15:15　2pA09　抗菌性ペプチドを融合タンパク質として植物に生産させる試み
光原一朗[1]，大島正弘[1]，岡本雅次[2]，村上高[1]，沢野定憲[1,3]，松古浩樹[1,3]，後藤洋子[1]，加来久敏[1]，名取俊二[4]，大橋祐子[1]（[1]農水省・生物研，[2]東亞合成筑波研，[3]岐阜農セ，[4]東京大・薬）

15:30　2pA10　根粒菌感染初期に宿主植物に及ぼす菌体 periplasma 物質の影響
山下広哲，阿部美紀子，内海俊樹，東四郎（鹿児島大・理・生物）

15:45　2pA11　根粒器官形成過程において異常を示すミヤコグサ菌 *Rhizobium loti* の菌体外多糖欠損変異株の単離と解析
今泉（安楽）温子[1]，川口正代司[1]，赤尾勝一郎[2]，庄野邦彦[1]（[1]東京大・教養，[2]農業生物資源研）

16:00　2pA12　培養根粒菌およびマメ科植物の器官における c-AMP
岡村昌道[1]，米山忠克[1,2]，大森正之[3]，藤原伸介[4]（[1]筑波大・応生系，[2]農業研究センター，[3]東京大・教養・生物，[4]四国農業試験場）

16:15　2pA13　エンドウ根粒におけるホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性調節
菅沼教生，岡田康志，鳥山可菜子，金山喜則[1]（愛知教育大・生命科学，[1]名古屋大・農）

第 3 日（3 月29日）午前

8:30　3aA01　藍色細菌 *Synechocystis* sp. PCC 6803 の Clock-controlled genes の解析
青木摂之，近藤孝男，石浦正寛（名古屋大・理・生物）

8:45　3aA02　藍色細菌の生物時計遺伝子群の同定
岩崎秀雄[1,2]，近藤孝男[2]，沓名伸介[2]，青木摂之[2]，Carol Andersson[3]，Susan S. Golden[3]，石浦正寛[2]（[1]名古屋大・院・人間情報，[2]名古屋大・理・生物，[3]Texas A&M 大・生物）

9:00　3aA03　藍色細菌 *Synechococcus* sp. PCC7942 の生物時計オペロンの発現の解析
沓名伸介，近藤孝男，岩崎秀雄，青木摂之，石浦正寛（名古屋大・理・生物）

9:15　3aA04　アカパンカビの硫黄代謝変異株の概日性リズムの性質
小内清，秋山正志，中島秀明（岡山大・理・生物）

B 会場　光合成 1

第 1 日（3 月27日）午前

9:30　1aB01　緑色硫黄細菌 *Chlorobium* の反応中心：クロロフィル-670の役割
岩城雅代，伊藤繁，大岡宏造[1]，亀井正一郎[1]，松原央[1]（基生研，[1]大阪大・理・生物）

9:45　1aB02　緑色イオウ細菌クロロビウムの光化学反応中心：(PscA/cytochrome c_{551})$_2$ 複合体の電荷分離
大岡宏造[1]，角谷佐紀[1]，亀井正一郎[1]，松原央[2]，岩城雅代[3]，伊藤繁[3]（[1]大阪大・理・生物，[2]岡山理科大・理・生化，[3]基生研）

10:00　1aB03　緑色硫黄細菌 *Chlorobium* の反応中心：キノンは存在するか？
伊藤繁，岩城雅代，大岡宏造[1]，亀井正一郎[1]，松原央[1]（基生研，[1]大阪大・理・生物）

10:15　1aB04　光還元される Fe-S センターを有する *Heliobacillus mobilis* の光化学反応中心複合体
赤池光博，楠元範明[1]，服部明彦，桜井英博[1]，井上和仁（神奈川大・理・応用生物，[1]早稲田大・教育・生物）

10:30　休　憩

10:45　1aB05　水銀処理によって特異的に破壊された鉄硫黄センター B の機能的再構成条件の再検討
篠崎忠治，楠元範明[1]，服部明彦，桜井英博[1]，井上和仁（神奈川大・理・応用生物，[1]早稲田大・教育・生物）

11:00　1aB06　葉緑体にコードされた新しい系 I サブユニット
高橋裕一郎，E. Boudreau[1]，M. Turmel[1]，J.-D. Rochaix[2]（岡山大・自然科学，[1]Laval 大・生化学，[2]Geneva 大・分子生物）

11:15　1aB07　光化学系 I 反応中心に結合した15シス-β-カロテンの検出
Grazyna Bialek-Bylka[1,2]，檜山哲夫[3]，湯本健司[3]，小山泰[1]（[1]関西学院大・理，[2]ポズナン工科大，[3]埼玉大・理・生化）

11:30　1aB08　光化学系 II 酸素発生系蛋白質の集合過程
橋本晶子，山本泰，Steven M. Theg[1]（岡山大・理・生物，[1]カリフォルニア大・生物科学）

第 1 日（3 月27日）午後

13:00　1pB01　光合成光阻害に伴う光化学系 II 蛋白質の分解，架橋および構造変化
山本泰，中谷悦子，森宏樹，張浩明[1]，T. Wydrzynski[1]（岡山大・理・生物，[1]School of Biol. Sci., Australian National Univ.）

13:15　1pB02　光化学系 II 複合体の電子線三次元構造解析
中里勝芳[1,2]，石川番[2]，真柳浩太[2]，米倉功治[3]，豊島近[4]，井上頼直[2]（[1]新技団さきがけ，[2]理研・光合成科学，[3]東京工大，[4]東京大・分生研）

13:30　1pB03　光化学系 II 複合体チューブ状結晶の作製と構造解析
中里勝芳[1,2]，真柳浩太[2]，石川尚[2]，榎並勲[3]，井上頼直[2]（[1]新技団さきがけ，[2]理研・光合成科学，[3]東京理大・理）

13:45　1pB04　シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の新規光化学系 II タンパク質 (11 kDa, 13 kDa) の遺伝子のクローニング
加藤浩，池内昌彦（東京大・教養・生物）

14:00　1pB05　H および L 蛋白質（光合成光化学系 II 複合体）の高収量迅速精製法
手島圭三，橋本信弘，赤堀興造（広島大・総合科学）

14:15　1pB06　ホウレンソウチラコイド膜のビオラキサンチンデエポキシダーゼの精製
桑原朋彦，高市真一[1]（筑波大・生物，[1]日医大・生物）

14:30　1pB07　ユーグレナ光化学系 II の光阻害と光化学系 II 蛋白質の挙動
石川靖夫，山本泰[1]（岡山大・自然，[1]岡山大・理・生物）

14:45　1pB08　大量発現系と再構成法を利用した PS II-L タンパク質 (*psbL*) の機能解析
小林徹，杉山立志，小澤真一郎，椎名隆，豊島喜則（京都大・人間・環境学）

15:00　休　憩

B 会場　光合成 1

15:15　1pB09　光化学系Ⅱ阻害剤 PNO8 による D1 タンパク質切断は光照射によりトリガーされる
中島芳浩[1,2]，吉田茂男[2]，井上頼直[1]，小野高明[1]（[1]理研・光合成科学，[2]理研・植物機能）

15:30　1pB10　通過ペプチドをもった D1 タンパク質の単離葉緑体への輸送と D1 部分の PSⅡ コア複合体への組み込み
呉国江，渡辺昭（東京大・院・理・生物科学）

15:45　1pB11　活性酸素による光化学系Ⅱ D1 蛋白質切断の温度依存性
岡田克彦，山本直樹，徳富（宮尾）光恵（農水省・生物研）

16:00　1pB12　*In vitro* 翻訳系を用いたエンドウ D1 蛋白質合成の光制御機構の解析
黒田洋詩，小橋久美子[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）

16:15　1pB13　D1-ポリペプチド cd-ヘリックス上のグルタミン酸-189における部位特異的変異体の解析
皆川純，小野高明，井上頼直，A. R. Crofts[1]（理研・光合成科学，[1]Illinois 大・生物物理）

16:30　1pB14　アスコルビン酸の光化学系Ⅱへの電子供与
真野純一，浅田浩二（京都大・食研）

16:45　1pB15　ヤブガラシの光合成器官の熱耐性に関する研究
羅烈紅，山下巍[1]（筑波大・バイオシステム，[1]筑波大・生物）

17:00　1pB16　光化学系Ⅱでのベンゾキノン誘導体の還元反応―― pH および温度依存性
岡本ゆう子，菓子野康浩，小池裕幸，佐藤和彦（姫路工大・理・生命）

第 2 日（3 月28日）午前

8:30　2aB01　光化学系Ⅱ反応中心よりカロチノイド色素の選択的抽出とその役割
鞆達也[1,2]，岩城雅代[1]，小林正美[3]，三室守[1]，伊藤繁[1]，佐藤公行[1,2]（[1]基生研，[2]岡山大・理，[3]筑波大）

8:45　2aB02　光合成アンテナ色素ケトカロテノイドの蛍光特性
三室守，山野由美子[1]，伊藤允好[1]，菊地浩人[2]，長岡伸一[3]（基生研，[1]神戸薬大，[2]日本医大・物理，[3]愛媛大・理）

9:00　2aB03　光合成光化学系Ⅱ光阻害初期過程における β-Car の役割
黒岩繁樹，勝原弘樹，手島圭三，赤堀興造（広島大・総合科学）

9:15　2aB04　光合成系Ⅱにおけるアクセサリクロロフィルの分子相互作用
野口巧，井上頼直（理研・光合成科学）

9:30　2aB05　光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* における *puf* オペロンのトランス因子 (SPB) 遺伝子近傍の塩基配列の決定と解析
溝口寛，増田建，西村浩二，島田裕士[1]，太田啓之，塩井祐三，高宮建一郎（東京工大・生命理工，[1]キリン基盤技術研究所）

9:45　2aB06　光合成細菌の DMSO 還元系遺伝子の転写活性化因子
宇治家武史，山本勇，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

10:00　2aB07　遺伝子タギングを利用したラン藻 *Plectonema boryanum* の変異導入系の構築
高橋康弘，道井貴子，明石哲行[1]，藤田祐一[1]（大阪大・理・生物，[1]大阪大・蛋白研）

10:15　2aB08　好酸性細菌 *Acidiphilium* 属における光合成遺伝子の検索
永島賢治，嶋田敬三，松浦克美，平石明[1]，若尾紀夫[2]（都立大・理・生物，[1]コニシ㈱環境バイオ研，[2]岩手大・農・応用生物）

10:30　休　憩

10:45　2aB09　クロロフィル *a* と *b* を持つ外洋性ピコ植物プランクトンの光化学系Ⅱ集光色素複合体の性質
本庄さおり，大城香（東海大・海洋・海洋科学）

11:00　2aB10　ホウレンソウのジチオスレイトール感受性プロテアーゼのタンパク質分解活性とポリフェノールオキシダーゼ活性
相澤幸子[1]，増田哲也[1]，桑原朋彦[1,2]（[1]筑波大・バイオシステム，[2]筑波大・生物）

11:15　2aB11　緑藻 *Chlorococcum littorale* の光化学系Ⅱの活性に及ぼす高 CO_2 ストレスの効果
岩崎郁子，藏野憲秀，宮地重遠（㈱海洋バイオテクノロジー研究所・釜石研究所）

B 会場　光合成 1

11:30　2aB12　セントポーリア葉の低温障害に伴う光合成失活と特異な蛍光挙動
加藤哲也，尹在吉[1]，安田ゐう子[2]，林孝洋[1]，矢沢進[1]（京都大・理・植物，[1]京都大・農・花卉園芸，[2]京都パストゥール研）

第 2 日（3 月28日）午後

13:00　2pB01　ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002 の酸素発生複合体の高温耐性に関与する 13-kDa タンパク質
西山佳孝[1]，Dmitry A. Los[1]，林秀則[2]，村田紀夫[1]（[1]基生研，[2]愛媛大・理・化学）

13:15　2pB02　アジドラジカルによる PSII 活性の阻害機構
高梨寿，真野純一，浅田浩二（京都大・食研）

13:30　2pB03　生葉での光酸素ストレスのモノデヒドロアスコルビン酸による検出
大野千晶，真野純一，三宅親弘，Ulrich Heber[1]，浅田浩二（京都大・食研，[1]Würzburg 大）

13:45　2pB04　Active oxygen and monodehydroascorbate radical production in *Vicia faba* leaves and isolated thylakoid membranes upon UV-B irradiation
Éva Hideg[1,2], Junichi Mano[1], Kozi Asada[1] ([1]Res. Inst. Food Sci., Kyoto University, [2]Inst. Plant Biol., Biol. Res. Cent., Szeged, Hungary)

14:00　2pB05　真核・原核藻類の光化学系II量子収率制御の戦略
遠藤剛，浅田浩二（京都大・食研）

14:15　2pB06　トリス処理光化学系II膜の電子伝達反応による高電位型チトクロム *b*559 の回復
水澤直樹，宮尾（徳富）光恵[1]，山下巍（筑波大・生物，[1]農水省・生物研）

14:30　2pB07　ラット CYP1A1 およびその酵母 NADPH-P450 還元酵素融合酵素のタバコクロロプラストへの輸送と光化学系Ⅰとの相互作用
杉浦美羽[1]，村中俊哉[2]，薮崎義康[2]，大川秀郎[1,3]（[1]神戸大・自然科学，[2]住友化学・生命研，[3]神戸大・農）

14:45　2pB08　ラン藻におけるフェレドキシン遺伝子 (*petF*) 欠損株の解析
松村智裕，奥原宏明，藤田祐一，長谷俊治（大阪大・蛋白研）

15:00　休　憩

15:15　2pB09　光合成電子伝達系の最少要求プラストキノン数について
津山孝人，柴田勝，北川恭浩，小林善親（九州大・農・林）

15:30　2pB10　光合成エネルギー変換反応の性質とストイキオメトリーについて
小林善親，U. Heber[1]（九州大・農・林，[1]Würzburg Univ.）

15:45　2pB11　緑藻 *Pediastrum boryanum* におけるプラストシアニンの銅による発現制御
中村真樹，吉崎文則，杉村康知（東邦大・理・生物）

16:00　2pB12　緑藻オオハネモの光合成電子伝達系と集光性クロロフィルタンパク質の組成
鈴木孝尚，上村保麿，山崎淳也，山崎武信，加藤栄（東邦大・理・生物）

第 3 日（3 月29日）午前

8:30　3aB01　Parallel Polarization EPR で見た光化学系II水分解系
山内忠彦，三野広幸，河盛阿佐子（関西学院大・理）

8:45　3aB02　光合成 Mn 安定化蛋白質の構造解析（2）：アミノ酸置換体による構造，機能解析
元木章裕[1]，臼井美奈[1]，島津恒夫[1]，平野昌彦[1]，加藤栄[2]（[1]東レリサーチセンター，[2]東邦大・理・生物）

9:00　3aB03　光合成酸素発生系 Mn クラスターの機能における塩素イオンの役割 ── X 線吸収スペクトルによる解析 ──
小野高明[1]，野口巧[1]，井上頼直[1]，楠正美[2]，山口博隆[3]，大柳宏之[3]（[1]理研・光合成科学，[2]明大・理工，[3]電総研）

9:15　3aB04　Mn 安定化蛋白のリジンとアルギニンの化学修飾
三浦太郎[1,2]，高橋正太郎[1]，加茂政晴[1]，元木章裕[3]，平野昌彦[3]，太田尚孝[1]，井上康則[2]，榎並勲[1]（[1]東京理大・理・生物，[2]東京理大・理工・応生，[3]東レリサーチセンター）

B 会場　光合成 1

9:30　　休　憩

9:45　3aB05　キュウリ子葉からの 2 つの *hemA* cDNA の単離と解析
田中亮一，吉田和市，中屋敷徹[1]，増田建[2]，辻英夫，井口八郎[1]，田中歩（京都大・理・植物，[1]京都大・理・生物物理，[2]東京工大・生命理工・生体機構）

10:00　3aB06　原子間力顕微鏡による好熱性ラン色細菌のチラコイド膜標品の観察：大気中測定及び液中測定による比較検討
市村年昭（工技院・生命工研）

10:15　3aB07　好熱菌 F_1 由来 $\alpha \cdot \beta$ サブユニットと葉緑体 CF_1 由来 γ サブユニットによるキメラ複合体の性質
久堀徹，吉田賢右，天野豊己，P. Kroth[1]，H. Strotmann[1]（東京工大・資源研，[1]Heinrich-Heine Univ.）

10:30　3aB08　ゼンマイ緑色胞子のチラコイド膜内在 24-kDa 蛋白の単離とその性質
井上弘，関島聖子，藤田泰輔，蒲池浩之，星名哲[1]，和田敬四郎[1]（富山大・理・環境，[1]金沢大・理・生物）

10:45　3aB09　*Synechocystis* sp. PCC 6803 における 12 kDa 光化学系Ⅱ表在性蛋白質の検出とその遺伝子のクローニング，欠損変異株の作成及び性質
沈建仁，井上頼直（理研・光合成科学）

11:00　3aB10　クラミドモナスのクロロフィル *b* 欠損株の解析
伊藤寿，吉田和市，田中亮一，田中歩（京都大・理・植物）

11:15　3aB11　クロロフィル *b* からクロロフィル *a* への転換とクロロフィルと蛋白質の会合
大塚達之，伊藤寿，田中歩（京都大・理・植物）

11:30　3aB12　イネのクロロフィル *b* 欠損株における系Ⅰと系Ⅱの集光能と電子伝達能のバランス
山崎淳也，村上保麿，加藤栄，寺尾富夫[1]（東邦大・理・生物，[1]国際農水センター）

C 会場　光合成 2 ・窒素代謝

第 1 日（3 月27日）午前

9:30　1aC01　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の亜硝酸イオン特異的能動輸送系
岡村将人，前田真一，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

9:45　1aC02　ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC7942 の *nirB* 遺伝子の機能の解析
愛知真木子，鈴木石根，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

10:00　1aC03　ラン藻におけるグルタミン酸合成酵素の分子生物学的解析
奥原宏明，松村智裕，藤田祐一，長谷俊治（大阪大・蛋白研）

10:15　1aC04　ラン藻 *Synechocystis* PCC 6803 の光混合栄養下での生育におけるグルタミン酸合成酵素の必要性
寺内一姫，池内昌彦，大森正之（東京大・教養・生物）

10:30　休　憩

10:45　1aC05　亜硫酸の藻類による取り込みとその光合成，ATP レベルに対する影響
桜井英博，岸田宏幸，持丸真里，降旗敬（早稲田大・教育・生物）

11:00　1aC06　従属栄養硝化細菌 *Alcaligenes faecalis* によるヒドロキシルアミンの亜硝酸への酸化
大野泰史，牧野直純，星野芳子，庄子和夫，山中健生（日大・理工・工化）

11:15　1aC07　*Rhodobacter capsulatus* の *rnfABC* 産物への分子標識付加と局在性・配向性解析
熊谷浩高，佐伯和彦（大阪大・理・生物）

11:30　1aC08　*Rhodobacter capsulatus* の新規な窒素固定必須遺伝子 *rnfX* および *rnfY* 産物の諸性質
佐伯和彦（大阪大・理・生物）

第 1 日（3 月27日）午後

13:00　1pC01　CAM 型アイスプラント葉緑体のピルビン酸輸送に対する Na^+ の効果
是枝晋，山下卓，金井龍二（埼玉大・理・分子生物）

13:15　1pC02　ベンケイソウ型酸代謝のリンゴ酸輸送—脱炭酸系の概日リズム
荒田博行，森永由紀（九州大・理・生物）

13:30　1pC03　形質転換植物を用いた C_4 光合成関連遺伝子の発現解析
千徳直樹[1,3]，谷口光隆[2]，杉山達夫[2]，石丸健[3]，大杉立[3]，土岐精一[3]（[1]北海道大・理・生物，[2]名古屋大・農・応用生物，[3]農水省・生物研）

13:45　1pC04　*Eleocharis vivipara* における C3, C4 光合成特性の発現：ピルビン酸・正リン酸ジキナーゼ isogene の解析
東江栄[1]，甲斐元士[2]，高辻博志，上野修（農業生物資源研，[1]学術振興会特別研究員・九州大・農，[2]北海道警察科学捜査研）

14:00　1pC05　常緑樹の光合成速度が低いのは細胞間隙中の CO_2 拡散が悪いためではない
寺島一郎，彦坂幸毅[1]（筑波大・生物，[1]東北大・理・生物）

14:15　1pC06　高 CO_2 環境がイネの光合成特性に及ぼす影響
仲野廣美，牧野周，前忠彦（東北大・農・応生化）

14:30　1pC07　ゼニゴケ葉緑体遺伝子 *cemA* のラン藻を用いた機能解析：CO_2 濃縮機構における役割
依田尚文，李根植，福澤秀哉，大山莞爾（京都大・農・農化）

14:45　1pC08　高濃度 CO_2 の *Euglena gracilis Z* の光合成への影響
浜崎和恵，奥野裕美，竹中重雄[1]，宮武和孝，中野長久（大阪府大・農・応用生化，[1]羽衣学園短大・家政・食物）

15:00　休　憩

15:15　1pC09　*Chlorella regularis* の低 CO_2 誘導性カルボニックアンヒドラーゼ
佐藤朗，白岩善博（新潟大・理・生物）

15:30　1pC10　クラミドモナス突然変異株における細胞内ホスホグリコール酸レベル
鈴木健策（農水省・東北農試・生理生態研）

15:45　1pC11　ラン藻 CO_2 濃縮機構におけるカルボキシソームの役割
佐藤良平，姫野道夫，和田野晃（大阪府大・農・応用生化）

C 会場　光合成 2 ・窒素代謝

16:00　1pC12　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の形質転換体における無機炭素濃縮機構の適応の変異
西野徹，姫野道夫，和田野晃（大阪府大・農・応用生化）

16:15　1pC13　イソゲンマメ第一葉の光合成活性に対するミクロシスチン-LR の効果
安部俊彦，Tracy Lawson[1]，Jonathan D. B. Weyers[1]，Geoffrey A. Codd[1]（東海大・海洋・海洋科学，[1]Dept. Biol. Sci., Univ. Dundee）

16:30　1pC14　異なる光環境下におけるイネの生長と光合成特性
牧野周，仲野廣美，佐藤哲也，前忠彦（東北大・農・生化）

16:45　1pC15　高発現型ショ糖リン酸合成酵素 (SPS) 遺伝子を導入した形質転換イネの解析
里澤智美，赤木宏守，坂本正弘，藤村達人（三井東圧化学ライフサイエンス研究所）

17:00　1pC16　トウモロコシの根型ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの cDNA クローニングと大腸菌における発現系の構築
増田隆男，河村敬夫，畑信吾，泉井桂（京都大・農・農生）

第 2 日（3 月28日）午前

8:30　2aC01　Analysis of promoter activity of photosynthetic genes with improved transient assay system
Maurice S. B. Ku, Mitsutaka Taniguchi[1], Tatsuo Sugiyama[1], Makoto Matsuoka[2] (Bot. Dept., Washington St. Univ., [1]Faculty of Agri., [2]BioSci. Center, Nagoya Univ.)

8:45　2aC02　低 CO_2 で誘導されるラン藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 遺伝子の解析
大河浩[1]，園田雅俊[1]，青木摂之[2]，石浦正寛[2]，近藤孝男[2]，小川晃男[1]（[1]名古屋大・生物分子応答研究センター，[2]名古屋大・理・生物）

9:00　2aC03　*Synechocystis* PCC6803 の *cotA* 遺伝子産物の同定
加藤彰[1]，Keun-Sik Lee[2]，福澤秀哉[2]，大山莞爾[2]，小川晃男[1]（[1]名古屋大・生物分子応答研究センター，[2]京都大・農化・植物分子生物）

9:15　2aC04　*Synechococcus* PCC7942 における *cotA* 近傍の遺伝子の解析
園田雅俊，加藤彰，小川晃男（名古屋大・生物分子応答研究センター）

9:30　2aC05　ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC6803 野生株および *ndhB* 欠損変異株の塩ストレス応答
田中義人[1]，日比野隆[1]，小川晃男[2]，高倍昭洋[1,3]（[1]名城大・理工・化学，[2]名古屋大・生物分子応答研究センター，[3]名城大・総合研究所）

9:45　2aC06　ラン藻における非アルカリ耐性突然変異株の単離とその性質に関する研究
石井洋，安部俊彦，熊澤修造（東海大・海洋・海洋科学）

10:00　2aC07　リン酸欠乏に対するラン色細菌の応答
石川圭吾，菓子野康弘，小池裕幸，佐藤和彦（姫路工大・理・生命科学）

10:15　2aC08　ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 における Phosphoribulokinase の活性調節様式
西川圭祐，平橋智裕，姫野道夫，和田野晃（大阪府大・農・応用生化）

10:30　休　憩

10:45　2aC09　広い CO_2 濃度範囲における好熱性ラン藻の生育
宮入祥夫（工技院・生命工学研）

11:00　2aC10　完全寄生植物ネナシカズラ属に特徴的な *rbcL* 遺伝子 C 末端コード領域の伸長
四方幸治，若杉達也，古橋勝久[1]，Lytton J. Musselman[2]，山田恭司（富山大・理・生物，[1]新潟大・理・生物，[2]Old Dominion Univ.）

11:15　2aC11　異なる窒素供給下でのヒマワリ第一葉の光合成産物量と *rbcL*, *rbcS* の発現量の変化
小野清美，渡辺昭（東京大・院・理・生物科学）

11:30　2aC12　キビ維管束鞘細胞ミトコンドリアの機能分化に伴う2-オキソグルタル酸／リンゴ酸トランスロケーターの発現
谷口光隆，杉山達夫（名古屋大・農・応用生物科学）

C 会場　光合成 2 ・窒素代謝

第 2 日（3 月28日）午後

13:00　2pC01　共役系の末端の側鎖がカロテノイドの電子吸収・^{1}H-NMR スペクトルに与える影響
坂佳三，溝口正，Richard J. Cogdell[1]，小山泰（関西学院大・理，[1]グラスゴー大・生物化）

13:15　2pC02　バクテリオクロロフィル a Qy 吸収帯の溶媒効果
坂本俊，Leenawaty Limantara，長江裕芳[1]，小山泰（関西学院大・理，[1]神戸市外大）

13:30　2pC03　紅色細菌 *Rhodospirillum rubrum* のカロテノイド生合成遺伝子変異株である ST4 株のカロテノイド分析
古森美香[1]，高市真一[2]，溝口正[1]，胡英[1]，Robin Ghosh[3]，小山泰[1]，九鬼導隆[4]（[1]関西学院大・理，[2]日本医大・生物，[3]ジュネーブ大・植物，[4]神戸高専・応化）

13:45　2pC04　緑色光合成細菌 *Chlorobium* フェレドキシンの精製と NADP$^+$ 光還元活性
富岡厚，楠元範明，中村有希，井上和仁[1]，桜井英博（早稲田大・教育・生物，[1]神奈川大・理・応用生物）

14:00　2pC05　ラン藻 *Synechocystis* PCC6803 の従属栄養条件下におけるカロテノイド組成
古川健一，小濱由紀子[1]，和田元[1]，正元和盛（熊本大・教育・生物，[1]九州大・理・生物）

14:15　2pC06　*Erythrobacter* 属に近縁な好熱性好気性光合成細菌
花田智，川瀬芳恵，桜木由美子，五十嵐直樹，高市真一[1]，松浦克美，嶋田敬三，永島賢治（都立大・理・生物，[1]日本医大・生物）

14:30　2pC07　紅色光合成細菌 *Rhodopseudomonas acidophila* の光捕集色素タンパク質 LH1 への各種カロテノイドの再構成
丸山忍，松浦克美，嶋田敬三，三室守[1]（都立大・理・生物，[1]基生研）

14:45　2pC08　緑色光合成細菌のクロロソームにおけるバクテリオクロロフィル c 集合体の高次構造モデル
松浦克美，広田雅光，嶋田敬三，三室守[1]（都立大・理・生物，[1]基生研）

15:00　休　憩

15:15　2pC09　紅色光合成細菌 *Rubrivivax gelatinosus* の反応中心結合型チトクロム欠損株および野生株の生理学的比較
吉田真，永島賢治，嶋田敬三，松浦克美（都立大・理・生物）

15:30　2pC10　クロロフィル *d* を主要光合成色素とする新規光合成原核生物の色素組成と酸素発生
宮下英明，藏野憲秀，宮地重遠（海洋バイオテクノロジー研究所・釜石）

15:45　2pC11　NMR 分光法による 8-ethyl-12-ethyl farnesyl Bacteriochlorophyll c 会合体の研究：メタノール—クロロホルム混合溶液中での会合体モデル
溝口正，Leenawaty Limantara，松浦克美[1]，嶋田敬三[1]，小山泰（関西学院大・理，[1]都立大・理）

16:00　2pC12　同位元素置換クロロフィル *a* のラマンスペクトル
佐島徳武，藏野憲秀[1]，宮地重遠[1]，小山泰（関西学院大・理，[1]海洋バイオテクノロジー研究所）

第 3 日（3 月29日）午前

8:30　3aC01　光合成細菌の DMSO 還元酵素は分泌直後は完全還元型状態である
松崎雅広，山口陽子，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

8:45　3aC02　Transient Raman spectroscopy of ^{2}H-substituted bacteriochlorophyll *a*: an empirical assignment of the excited-state Raman lines
Leenawaty Limantara, Mima Masci[1], Ingrid Khatheder[1], Hugo Scheer[1] and Yasushi Koyama (Fac. Sci., Kwansei Gakuin Univ., [1]Botanisches Institut der Universität München)

9:00　3aC03　重水素置換スフェロイデンの *R. sphaeroides* R26 光反応中心への再構成とラマンスペクトルの測定
河内直美，ヨハン・ルクテンバーグ[1]，小山泰（関西学院大・理・化，[1]ライデン大・化）

9:15　3aC04　嫌気下で光化学系の発現を促進するセンサー RegB の自己リン酸化能とレギュレーター RegA へのリン酸基転移
中原昌明，飯坂崇，永井徹，C. E. Bauer[1]，井上和仁（神奈川大・理・応用生物，[1]Indiana 大・生物）

9:30　休　憩

9:45　3aC05　ラン藻 *Synechocystis* PCC6803 NAD(P)H dehydrogenase (NDH) の誘導と精製
松尾道憲，遠藤剛，浅田浩二（京都大・食研）

C 会場　光合成 2・窒素代謝

10:00　3aC06　好熱性シアノバクテリア *Synechococcus vulcanus* の細胞膜タンパク質の同定
平野篤，井上頼直[1]，池内昌彦[2]（東京電力・エネルギー環境研究所，[1]理研・光合成科学，[2]東京大・教養・生物）

10:15　3aC07　ラン藻 *Plectonema boryanum* の光依存性プロトクロロフィリド還元酵素の遺伝子 *por* のクローニング
藤田祐一，長谷俊治（大阪大・蛋白研）

10:30　3aC08　ラン藻の光依存性プロトクロロフィリド還元酵素の大腸菌での機能的発現とシステイン改変体の解析
高木英典，藤田祐一，長谷俊治（大阪大・蛋白研）

10:45　3aC09　好熱性藍色細菌 *Synechococcus vulcanus* の *psbA* 遺伝子群の解析
松岡正佳，福崎信夫，新村良太，田口真由美，小川隆平（熊本工大・応微工）

11:00　3aC10　ラン藻 (*Synechocystis* sp. strain PCC6803) ゲノムの構造解析
金子貴一，佐藤修正，小谷博一，田中亜矢子，浅水恵理香，宮嶋伸行，広沢誠，佐塚隆志，杉浦昌弘[1]，田畑哲之（かずさ DNA 研，[1]名古屋大・遺伝子）

D 会場　環境応答 1

第 1 日（3 月27日）午前

9:30　1aD01　Ri-プラスミド由来アグロピン合成酵素遺伝子プロモーターの傷害誘導性
征矢野敬，近藤弘清，猪口雅彦（岡山理科大・生物化学）

9:45　1aD02　傷害はシロイヌナズナ葉緑体局在 ω-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子 (*FAD7*) の組織特異的発現を劇的に変化させる
西内巧，濱田達朗，児玉浩明，西村光雄，射場厚（九州大・理・生物）

10:00　1aD03　傷害により発現が誘導される葉緑体局在型 ω-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のタバコからの単離
濱田達朗，西内巧，児玉浩明，西村光雄，射場厚（九州大・理・生物）

10:15　1aD04　傷害応答におけるサイトカイニンと MAP キナーゼの関与
瀬尾茂美[1,5]，岡本雅次[2]，瀬戸秀春[3]，佐野浩[4]，大橋祐子[5]（[1]筑波大・応生化，[2] 東亜合成・つくば研，[3]理研・植物機能，[4]奈良先端大・遺伝子，[5]農水省・生物研）

10:30　休　憩

10:45　1aD05　タバコ培養細胞におけるフェニルプロパノイドによるアルミニウム毒性の阻害効果
蜂谷晶子，山本洋子，松本英明（岡山大・資生研）

11:00　1aD06　タバコ培養細胞におけるフェニルアラニンアンモニアリアーゼのアルミニウム耐性との関わり
山本洋子，蜂谷晶子，松本英明（岡山大・資生研）

11:15　1aD07　凍結保存したラベンダー細胞の再培養の方法について
栗山昭，渡辺克美，河合文雄，金森正雄（㈶環境科学総合研）

11:30　1aD08　葉に与えた刺激の根の成長速度に対する効果
河野順帆，呉基鳳，松岡英明，根本泰行（東京農工大・工・生命工学）

第 1 日（3 月27日）午後

13:00　1pD01　形質転換タバコにおけるエンドウ *PAL* 遺伝子の発現制御機構の解析
井村喜之，森川暁子，Dalius Michaelzack，一瀬勇規，白石友紀，山田哲治（岡山大・農）

13:15　1pD02　エンドウの防御応答性 *CHS* 遺伝子の分子進化
伊藤正幸，一瀬勇規，白石友紀，山田哲治（岡山大・農）

13:30　1pD03　エンドウカルコン合成酵素遺伝子のエリシターによる発現制御シスエレメントの解析
關光，一瀬勇規，白石友紀，山田哲治（岡山大・農）

13:45　1pD04　エリシター及びサプレッサーによるエンドウフェニルアラニンアンモニアリアーゼ遺伝子の発現制御
村上泰弘，一瀬勇規，白石友紀，山田哲治（岡山大・農）

14:00　1pD05　ヤグルマギク培養細胞の CHScDNA の解析
石原悟，戸栗敏博[1]，武田幸作（東京学芸大・生物，[1]キリンビール基盤技術研）

14:15　1pD06　エリシター処理により誘導されるカンゾウ培養細胞の cytochrome P450 遺伝子
明石智義，高橋武美，綾部真一（日本大・農獣医・応用生物）

14:30　1pD07　タバコ培養細胞系における糸状菌エリシターによる細胞死の誘導
矢野明[1,2]，鈴木馨[2]，内宮博文[1]，進士秀明[2]（[1]東京大・分生研・細胞機能，[2]工技院・生命研・植物分子生物）

14:45　1pD08　タバコ細胞のエリシター応答性 47-kD プロテインキナーゼの解析
鈴木馨，矢野明，進士秀明（工技院・生命研・植物分子生物）

15:00　休　憩

15:15　1pD09　イネ培養細胞にエリシター活性を示すイモチ病菌 β-グルカン断片
山口武志，渋谷直人（農水省・農業生物資源研）

15:30　1pD10　イネ培養細胞におけるエリシターに対する膜電位応答
菊山宗弘，朽津和幸[1]，渋谷直人[1]（放送大・生物，[1]生物資源研・細胞生理）

15:45　1pD11　イネ生葉における種々の刺激によるキチナーゼ遺伝子の発現と細胞間情報伝達機構の解析
斉藤美佳子，野村正太，吉村英尚，根本泰行，松岡英明，西沢洋子[1]（東京農工大・工・生命工学，[1]農水省・生物資源研究所）

D 会場　環境応答 1

16:00　1pD12　ダイズの β-グルカンエリシター受容体の cDNA クローニング
梅基直行，柿谷誠，岩松明彦，吉川正明[1]，山岡直人[1]，石田功（キリンビール・基盤研，[1]北海道大・院・生物科学）

16:15　1pD13　植物の細胞間における色素分子の移動の電気的制御
大井晶夫，斉藤美佳子，根本泰行，松岡英明（東京農工大・工・生命工）

16:30　1pD14　ラン藻 *Spirulina platnsis* のアデニル酸シクラーゼ遺伝子 *cyaC* の解析
笠原賢洋，屋代久美子，坂本敏夫，大森正之（東京大・教養・生命環境）

16:45　1pD15　病害抵抗性とイオン変動について（2）褐紋病菌サブレッサーの種特異的作用
天野政史，豊田和弘，一瀬勇規，山田哲治，白石友紀（岡山大・農）

17:00　1pD16　TMV 感染による壊死病斑形成におけるエチレン合成の重要性
大坪憲弘，瀬尾茂美，山下聡，古賀正明，大橋祐子（農水省・生物研）

17:15　1pD17　ウイルス感染がヒヨドリバナの光合成に及ぼす影響
舟山幸子，寺島一郎（筑波大・生物科学）

第 2 日（3 月28日）午前

8:30　2aD01　高温ストレスによる，蛍光強度 F_0 レベルの上昇
山根由裕，菓子野康浩，小池裕幸，佐藤和彦（姫路工業大・理・生命科学）

8:45　2aD02　ヤナギ科植物の雄花で発現する *DnaJ* homolog
二村典宏，篠原健司（森林総研）

9:00　2aD03　好熱性ラン藻 *Synechococcus vulcanus* の HSP60 及び HSP16 の解析
Sanjit K. Roy，田中直樹，仲本準，檜山哲夫（埼玉大・理・分子生物）

9:15　2aD04　好熱性ラン藻 *Synechococcus vulcanus* の熱ショック蛋白質をコードする遺伝子 *groEL1* 及び *groEL2* の解析
田中直樹，仲本準，檜山哲夫（埼玉大・理・分子生物）

9:30　2aD05　コムギカタラーゼの cDNA クローニング
猿山晴夫，松村健（北海道グリーンバイオ研究所）

9:45　2aD06　トランスジェニックイネでのコムギカタラーゼ cDNA の発現
松村健，田林紀子，鎌形泰代，猿山晴夫（北海道グリーンバイオ研究所）

10:00　2aD07　*In vivo* action of glycinebetaine in enhancing the tolerance to high and low temperature
Patcharaporn Deshnium[1,2], Zoltan Gombos[1], Yoshitaka Nishiyama[1], Norio Murata[1,2] ([1]Dept. Regulation Biol., Natl. Inst. Basic Biol., [2]Dept. Mol. Biomechanics, Grad. Univ. Advanced Studies)

10:15　2aD08　低温感受性植物の低温光阻害からの回復
園池公毅，石橋百枝，渡辺昭（東京大・院・理・生物科学）

10:30　休　憩

10:45　2aD09　Chilling-resistant plants exhibit rapid recovery from low-temperature photoinhibition
Alia, Byoung Yong Moon, Norio Murata (Dept. Regulation Biol., Natl. Inst. Basic Biol.)

11:00　2aD10　ホウレンソウのステアロイル-ACP-不飽和化酵素 cDNA を導入したタバコにおける低温感受性の改変
別府敏夫，菊地美穂，今井博之[1]，西田生郎[2]，村田紀夫[3]（西東京科大・バイオ，[1]甲南大・理・生物，[2]東京大・理・院・生物，[3]基生研）

11:15　2aD11　クロレラ LEA 蛋白質の凍害防御機能及び酵母での発現
本城賢一，小田祐一，大山加奈恵，波多野昌二（九州大・農・食糧化学工学）

11:30　2aD12　イネ葯に局在するオリゴ糖の冷温処理による変動
川口健太郎，刈屋國男，箱山晋，小池説夫[1]，渋谷直人[1]（農水省・北海道農試，[1]農水省・生物研）

D 会場　環境応答 1

第 2 日（3 月28日）午後

13:00　2pD01　アラスカエンドウおよびシロイヌナズナの赤色光および青色光信号伝達の解析
浜田徹，田中紀史，広川隆将，蓮沼仰嗣（横浜市大・木原生研）

13:15　2pD02　アラスカエンドウの光信号伝達に関わる 18 kDa 蛋白質の解析
田中紀史，野口貴文，蓮沼仰嗣（横浜市大・木原生研）

13:30　2pD03　光照射に伴ってリン酸化の亢進される蛋白質の解析
浜田徹，蓮沼仰嗣[1]，山崎俊正，小松節子（農水省・生物研，[1]横浜市大・木原生研）

13:45　2pD04　アラスカエンドウにおけるヌクレオシド二リン酸キナーゼ遺伝子の単離及び解析
野口貴文，田中紀史，蓮沼仰嗣（横浜市大・木原生研）

14:00　2pD05　フィトクロムと相互作用するタンパク質の解析
徳富哲，嶋田嵩史（大阪府大・先端科学研）

14:15　2pD06　クロレラの硝酸取り込みに対する青色光の役割
神谷明男（帝京大・薬・化学）

14:30　2pD07　気孔孔辺細胞における青色光に依存した蛋白質の脱リン酸化
木下俊則，島崎研一郎（九州大・理・生物）

14:45　2pD08　葉緑体の弱光定位運動：マイクロフィラメントによる葉緑体の捕捉
董夏静，高木慎吾，永井玲子（大阪大・理・生物）

15:00　休　憩

15:15　2pD09　光合成遺伝子 *RBCS* 組織特異的発現攪乱シロイヌナズナ突然変異体 *res*, *ces*, および *des*
丹羽康夫，菅原由行，鈴木朗範，栂根一夫，小林京子，小林裕和（静岡県立大・生活健康科学）

15:30　2pD10　暗所でのクロロフィル合成に関与する葉緑体遺伝子の光依存的発現
鈴木崇紀，滝尾進，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

15:45　2pD11　トウモロコシのホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子の光による発現応答の解析
黒谷賢一，畑信吾，泉井桂（京都大・農・農生）

16:00　2pD12　SRP1/importin 様蛋白質をコードするイネ光応答 cDNA の単離
岩崎俊介，徳富（宮尾）光恵，山本直樹（農水省・生物研）

16:15　2pD13　陽生植物と陰生植物の葉の呼吸系制御の比較
野口航，寺島一郎（筑波大・生物科学系）

第 3 日（3 月29日）午前

8:30　3aD01　ホウライシダの光回復酵素遺伝子の単離・解析
鐘ケ江健，和田正三（都立大・理・生物）

8:45　3aD02　Plants accumulate proline upon exposure to UV radiation for protection against UV-induced peroxidation
P. Pardha Saradhi, Alia[1] (Centre for Biosciences, Jamia Millia Islamia, [1]Dept. Regulation Biol., Natl. Inst. Basic Biol.)

9:00　3aD03　紫外線抵抗性の異なるイネ品種の，UVB による DNA 損傷とその修復機能の差異について
日出間純，John C. Sutherland[1], Betsy M. Sutherland[1]，熊谷忠（東北大・遺生研，[1]Brookhaven National Lab. U.S.A.）

9:15　3aD04　ホウキモロコシにおける UV-B 照射による DNA 損傷と光回復
秦恵，Günther Buchholz[1], Eckard Wellmann[1]，橋本徹[2]（神戸大・理・生，[1]Freiburg Univ., [2]神戸女子大・家政）

9:30　休　憩

9:45　3aD05　エンドウの生理作用に及ぼす近紫外光の影響
塩崎紀子，服部郁子[1]，手塚修文（名古屋大・院・人間情報，[1]名古屋大・農・園芸）

10:00　3aD06　アスコルビン酸再生不全による生葉黄金化現象の普遍性
山崎秀雄，平敷りか，崎浜靖子，池原規勝（琉球大・理・生物）

10:15　3aD07　紫外線を含む白色光によってアントシアニン合成が誘導されるヤグルマギク培養細胞における遊離アミノ酸

D 会場　環境応答 1

プールの変動

陳小傑，鈴木章方，佐久間卓也，武田幸作[1]（山梨大・教育・生物，[1]東京学芸大・生物）

10:30　3aD08　ニンジンの PAL-10 遺伝子のプロモータ解析——UV-B 応答性のシスエレメント——

竹田淳子，吉田和市[1]，小関良宏[2]（京都大・農・農化，[1]京都大・理・植物，[2]東京大・教養・生物）

10:45　3aD09　ホウキモロコシの P_{fr} 誘導アントシアニン形成における P_{fr} 効果増幅因子の特異的な生成

清水源，小田真由美，木ノ元宏美[1]，河野利津子[1]，七條千津子，橋本徹[1]（神戸大・理・生物，[1]神戸女子大・家政）

11:00　3aD10　アントシアニン形成誘導に関与する P_{fr} 効果増幅因子のフィトクロムによる生成

河野利津子，木ノ元宏美，小田真由美[1]，清水源[1]，七条千津子[1]，橋本徹（神戸女子大・家政，[1]神戸大・理・生物）

11:15　3aD11　イネのファルネシルピロリン酸シンターゼ (FPPS) cDNA の単離と光応答発現

三宮一宰，岩崎俊介[1]，松岡信，宮尾光恵[1]，山本直樹[1]（名古屋大・生物分子応答，[1]農水省・生物研）

11:30　3aD12　赤色酵母 *Rhodotorula minuta* におけるエルゴステロール代謝の光制御

中馬誠，村田芳行，秦恵，多田幹郎（岡山大・農）

11:45　3aD13　酵母 *S. cerevisiae* 細胞膜の光損傷の修復

荒見真一郎，秦恵，多田幹郎（岡山大・農）

E 会場　環境応答 2

第 1 日（3 月27日）午前

9:30　1aE01　マツバギク水チャンネル遺伝子プロモーターのタバコにおける発現
山田茂裕[1], Donald E. Nelson, Eleazar Ley, Sheila Marquez, Hans J. Bohnert ([1]JT 遺伝育種研究所, Department of Biochemistry, The University of Arizona)

9:45　1aE02　ダイコン液胞膜の水チャネルの cDNA クローニング
樋口達治，久田博元，前島正義（名古屋大・農・生化）

10:00　1aE03　ソラマメ孔辺細胞における 48-kDa ABA 応答性プロテインキナーゼ
森泉[1]，武藤尚志[1,2]（[1]名古屋大・院・農，[2]名古屋大・生物分子応答研究センター）

10:15　1aE04　タバコ培養細胞の低浸透圧刺激により細胞礎質 Ca^{2+} 濃度上昇に引き続いて活性化されるプロテインキナーゼ
高橋宏二[1]，武藤尚志[1,2]（[1]名古屋大・院・農，[2]名古屋大・生物分子応答研究センター）

10:30　休　憩

10:45　1aE05　シロイヌナズナの乾燥ストレスによって誘導される CIp プロテアーゼ遺伝子 *erd1* の発現制御の解析
中島一雄，清末知宏[1]，篠崎和子，篠崎一雄[1]（農水省・国際農研，[1]理研・植物分子生物）

11:00　1aE06　フルクトース-2,6-ビスリン酸は浸透圧ストレス下のトレハロース合成の調節因子である
竹中重雄，有本友香，谷亜矢，田村良行，宮武和孝，中野長久[1]（羽衣短大・家政・食物，[1]大阪府大・農・応生化）

11:15　1aE07　タバコ培養細胞の原形質膜 H^+ ATPase の塩ストレス適応
菅井真人，Dyah Iswantini，山村英夫，角谷忠昭，村田芳行[1]（京都大・農，[1]岡山大・農）

11:30　1aE08　単細胞緑藻ドナリエラの細胞内グリセロール保持にたいする光および阻害剤の影響
藤井修平（帝塚山短大）

第 1 日（3 月27日）午後

13:00　1pE01　イネにおけるプロリン合成酵素 (Δ[1]-pyrroline-5-carboxylate-synthetase) 遺伝子の発現解析および耐塩性との関係
五十嵐由美子[1]，吉羽洋周[1]，真田幸香[2]，篠崎和子[3,4]，和田敬四郎[2]，篠崎一雄[4]（[1]日立・基礎研，[2]金沢大・理，[3]農水省・国際農研，[4]理研・植物分子生物）

13:15　1pE02　塩ストレスで誘導される塩生植物ウラギクの *rd*28 様遺伝子
宇野雄一[1,2]，浦尾剛[3]，篠崎和子[3]，篠崎一雄[2]，金地通生[4]，稲垣昇[1]，前川進[1]（[1]神戸大・自，[2]理研・植物分子，[3]農水省・国際農研，[4]神戸大・農）

13:30　1pE03　塩ストレス下で mRNA 量の増加するオオムギ RNA ヘリカーゼ類似遺伝子
中村敏英，村元靖典，高倍鉄子（名古屋大・生物分子応答研究センター）

13:45　1pE04　塩ストレスで誘導されるオオムギ遺伝子の解析
村元靖典，中村敏英，高倍鉄子（名古屋大・生物分子応答研究センター）

14:00　1pE05　形質転換ラン藻および耐塩性ラン藻の電子伝達活性に対するベタインの効果
日比野隆[1]，野村美加[2]，高倍鉄子[2]，高倍昭洋[1,3]（[1]名城大・理工，[2]名古屋大・生物分子応答センター，[3]名城大・総合研）

14:15　1pE06　形質転換ラン藻を用いた塩ストレス下でのベタイン蓄積による RuBisCO タンパク質の安定化機構の解析
野村美加，横田明穂[1]，高倍鉄子（名古屋大・生物分子応答研究センター，[1]RITE）

14:30　1pE07　耐塩性ラン藻 *Aphanothece halophytica* の DnaK 遺伝子のクローニングと発現
Lee Byung Hyun[1]，日比野隆[2]，高倍昭洋[2,3]（[1]名古屋大・生物分子応答センター，[2]名城大・理工，[3]名城大・総合研究所）

14:45　休　憩

15:15　1pE08　コリンオキシダーゼ遺伝子を導入したシロイヌナズナのストレス耐性
林秀則，Alia[1]，村田紀夫[1]（愛媛大・理・化学，[1]基生研）

15:30　1pE09　グリシンベタイン合成系を導入したトランスジェニックイネの作出とその耐塩性
坂本敦[1,2]，Alia[1]，Patcharaporn Deshnium[2]，林秀則[3]，村田紀夫[1,2]（[1]基生研，[2]総研大・生命科学，[3]愛媛大・理・化学）

E 会場　環境応答 2

15:45　1pE10　植物の耐塩機構の分子遺伝学的解析
榊根一夫，佐伯真理，小林京子，丹羽康夫，小林裕和（静岡県立大・生活健康科学）

16:00　1pE11　マングローブ植物（オヒルギ類）培養細胞系の確立；成長と再生に対する塩の効果
三村徹郎，三村真理，根本一鷲谷節子，坂野勝啓[1]，新免輝男[2]，Somkid Siripatanadilok[3]（一橋大・生物，[1]農水省・生物研，[2]姫路工大・理・生命，[3]Kasetsart 大）

16:15　1pE12　NiR 遺伝子を富化したトランスジェニックシロイヌナズナの育成と解析
高橋美佐，岡村明浩，井田正二[1]，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学，[1]京都大・食研）

16:30　1pE13　パーティクルガン法を用いたシロイヌナズナ葉へのアンチセンス GS cDNA 導入と発現の解析
有村源一郎，河村義史，入船浩平，五島直樹，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

16:45　1pE14　パーティクルガン法を用いたシロイヌナズナ葉へのセンス GS cDNA の導入と発現の解析
藤井真紀子，有村源一郎，高橋美佐，駒場繁，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

17:00　1pE15　硝酸により誘導されるシロヘム合成系遺伝子の単離と発現調節機構
榊原均，武井兼太郎，杉山達夫（名古屋大・農・応生科）

第 2 日（3 月28日）午前

8:30　2aE01　海産紅藻 *Porphyra yezoensis*（スサビノリ）の硝酸還元酵素の cDNA のクローニング
中村良子，中川寅[1]，中山和久，猪川倫好（筑波大・生物，[1]岐阜大・農）

8:45　2aE02　ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC7942 のカルボキシゾーム関連遺伝子群のシアン酸による活性化
鈴木石根[1]，小俣達男（名古屋大・農・応用生物，[1]基生研）

9:00　2aE03　ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC7942 及び *Plectonema boryanum* における亜硝酸還元酵素遺伝子の発現誘導に対する硝酸イオンの影響
菊地裕之，愛知真木子，鈴木石根，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

9:15　2aE04　ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC7942 の硝酸イオン／亜硝酸イオン能動輸送体の活性調節に関する研究
小林正樹，Rocío Rodoríguez[1]，Catalina Lara[1]，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学，[1]Inst. Bioquím. Vegetaly Fotosíntesis, Fac. Biol. Univ. Sevilla-CSIC）

9:30　2aE05　登熟ダイズ種子のアスパラギン分解代謝
増田亮一，金子勝芳（農水省・食総研）

9:45　2aE06　イネ葉身維管束組織における細胞質型グルタミン合成酵素タンパク質の分布
櫻井望，早川俊彦，山谷知行（東北大・農・応用生物化学）

10:00　2aE07　トマト培養細胞から分離したフィトケラチン合成酵素の性質
伊藤祥子，井上雅裕，遠山鴻，城尾昌範（愛媛大・理・生物）

10:15　2aE08　アズキ植物に対する酸ストレスの影響
藤家香苗，井上雅裕（愛媛大・理・生物）

10:30　休　憩

10:45　2aE09　アルミニウム (Al) イオンストレスに応答する酵母遺伝子群のクローニングとその解析
江崎文一，松本英明（岡山大・資生研）

11:00　2aE10　アルミニウムによるコムギ根の伸長阻害機構
佐々木昌生，山本洋子，松本英明（岡山大・資生研）

11:15　2aE11　トウモロコシにおける Al による根の伸長阻害に対するケイ酸の軽減効果
馬建鋒，佐々木昌生，松本英明（岡山大・資生研）

11:30　2aE12　シロイヌナズナの低マンガン含量変異株の栄養学的特性
大谷憲太，北野高寛，尼子克己，高橋正昭（大阪府大・農・応用生化）

第 2 日（3 月28日）午後

13:00　2pE01　大麦 SAM 合成酵素遺伝子のクローニング及び各種ストレス条件下での遺伝子発現
滝沢隆一，中西啓仁，森敏（東京大・農学生命科学）

13:15　2pE02　鉄欠乏オオムギ根で発現する「ムギネ酸・鉄」トランスポーター遺伝子のスクリーニング
山口博隆，塩入孝之[1]，森敏（東京大・農学生命科学，[1]名古屋市大・薬）

E 会場　環境応答 2

13:30　2pE03　鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路の研究Ⅴ：ニコチアナミンアミノ基転移酵素の精製
高橋美智子，金澤健二，塩入孝之[1]，西澤直子，森敏（東京大・農学生命科学，[1]名古屋市大・薬）

13:45　2pE04　鉄欠乏によってオオムギ根に強く誘導される 2 つのタンパク質の性質
中西啓仁，鈴木宏一郎，藤垣順三[1]，西澤直子，森敏（東京大・農学生命科学，[1]東京農業大・短期大学部）

14:00　2pE05　クラミドモナスのリン酸欠乏に対する順化機構の解明　Ⅰ．変異株の単離およびそのキャラクタリゼーション
下河原浩介，臼田秀明，都築幹夫[1]，Arthur Grossman[2]（帝京大・医・化学，[1]東薬大・生命科学，[2]Carneigie Inst., Dept. Plant Biol.）

14:15　2pE06　緑藻 *Chlorococcum littorale* の高 CO_2，鉄イオン欠乏条件における ferric reductase 活性の誘導
佐々木孝行，藏野憲秀，宮地重遠（海洋バイオテクノロジー研究所・釜石研究所）

14:30　2pE07　鉄による *Euglena* アスコルビン酸ペルオキシダーゼの発現機構の解明
石川孝博，吉村和也，武田徹，重岡成（近畿大・農・食栄）

14:45　休　憩

15:15　2pE08　活性酸素消去系酵素を導入した形質転換植物の作出とその解析
森田重人[1]，鈴木徹，上中弘典，坂本敦[2]，増村威宏，久保明弘[3]，田中浄[3]，田中國介（京都府大・農・農化，[1]京都大・理・植物，[2]基生研，[3]国立環境研）

15:30　2pE09　*Synechococcus* PCC7942 のフルクトース-1,6-ビスホスファターゼアイソザイムの分子的性質
武田徹，田茂井政宏，石川孝博，重岡成（近畿大・農・食栄）

15:45　2pE10　低酸素ストレス下での植物培養細胞の細胞質 pH 調節とリンゴ酸レベルの変化
矢崎芳明，坂野勝啓（農水省・生物研）

16:00　2pE11　嫌気条件下でのウリカワ (*Sagittaria pygmaea* Miq.) 塊茎の初期成長の促進
石沢公明[1]，一瀬成広[2]，倉持仁志[3]（[1]東北大・院・理・生物，[2]東北大・農・環境適応，[3]宇都宮大・雑草科学）

第 3 日（3 月29日）午前

8:30　3aE01　ホウレンソウ葉緑体型 CuZn-スーパーオキシドジスムターゼのチラコイド膜との相互作用
小川健一，金松澄雄[1]，浅田浩二[2]（京都大・理・分子植物科学，[1]南九州大・食品工，[2]京都大・食研）

8:45　3aE02　γ 線照射によって誘導されるシロイヌナズナの自己防御機構の解析
水田俊文，小松節子[1]，鐘ケ江（梶矢）弘美[1]，森昌樹[1]，三好一丸[2]，菊池尚志[1]（新技術事業団，[1]農水省・生物研，[2]東京大・農）

9:00　3aE03　葉緑体チラコイド膜でのモノデヒドロアスコルビン酸ラジカルレダクターゼ依存の酸素光還元
三宅親弘，Ulrich Schreiber[1]，Henning Hormann[1]，佐野智[2]，浅田浩二（京都大・食研，[1]Wuerzburg 大・Julius-von-Sachs Institut，[2]Res. Inst. Innov. Tech. Earth (RITE)）

9:15　3aE04　ホウレンソウ葉緑体型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ cDNA のクローニング
石川孝博，植野由美子，坂井康祐，武田徹，重岡成（近畿大・農・食栄）

9:30　休　憩

9:45　3aE05　光環境の悪化に伴って発現する核支配の葉緑体タンパク質 *din*1 は含硫化合物酸化還元酵素である
嶋田幸久，渡辺昭（東京大・院・理・生物科学）

10:00　3aE06　暗所に置かれたシロイヌナズナ緑葉で発現する分岐鎖アミノ酸の代謝に関与する遺伝子
藤木友紀，佐藤篤行，伊藤正樹，渡邊昭（東京大・院・理・生物科学）

10:15　3aE07　光酸素ストレス耐性機構におけるグルタチオンレダクターゼの役割
青野光子，佐治光，近藤矩朗，田中浄（国立環境研）

10:30　3aE08　活性酸素消去酵素形質転換植物の光合成によるストレス耐性評価
青野光子，佐治光，名取俊樹，田中国介[1]，田中浄（国立環境研，[1]京都府大・農）

10:45　3aE09　α-トコフェロール欠乏葉における光合成の光阻害について
柴田勝，津山孝人，北川恭浩，小林善親（九州大・農・林）

F 会場　遺伝子構造・機能

第1日（3月27日）午前

9:30　1aF01　イネアスパラギン合成酵素の cDNA クローニングと *in situ* での組織局在解析の試み
　　樋口隆司，渡辺圭一，早川俊彦，山谷知行（東北大・農・応用生物化学）

9:45　1aF02　イネ NADH 依存性グルタミン酸合成酵素ゲノム DNA のクローニングと構造解析
　　後藤聡，赤川巧，石井有理，早川俊彦，山谷知行（東北大・農・応用生物化学）

10:00　1aF03　レンゲソウ根粒菌の7鉄型フェレドキシン遺伝子 (*fdxA*) のクローニングと塩基配列決定
　　辻口佳子，佐伯和彦（大阪大・理・生物）

10:15　1aF04　レグヘモグロビン遺伝子のクローニングと植物染色体上での検出
　　内海俊樹，宮本旬子，阿部美紀子，東四郎（鹿児島大・理・生物）

10:30　休　憩

10:45　1aF05　ホウレンソウ根の FNR の cDNA クローニング
　　津村淳，和田敬四郎（金沢大・理・生物）

11:00　1aF06　シロイヌナズナプロリルイソメラーゼ遺伝子のクローニング
　　斉藤武，多田隈圭，芦田裕之，川向誠[1]，松田英幸[1]，中川強（島根大・遺伝子，[1]島根大・生物資源）

11:15　1aF07　ニンジンにおける transposable element *Tdc*1 に存在する ORF の構造とその発現
　　小関良宏，Eric Davies[1]，竹田淳子[2]（東京大・教養・生命，[1]NCSU，[2]京都大・農・農化）

11:30　1aF08　ニンジン細胞核マトリックス構成タンパク質 cDNA の単離と同定
　　徐正君，増田清[1]，高橋清子，伊藤明子，上田健治，小野道之，井上正保（秋田県農短大・生工研，[1]北海道大・農）

第1日（3月27日）午後

13:00　1pF01　イネ培養細胞液胞膜 H^+-PPase のリボゾーム中への再構成
　　中村善行，榊原祥清，小林秀行，笠毛邦弘[1]（農水省・食総研，[1]農水省・生物資源研）

13:15　1pF02　イネ液胞膜 H^+-ピロホスファターゼの遺伝子単離と機能の解析
　　榊原祥清，小林秀行，笠毛邦弘[1]（農水省・食総研，[1]農水省・生物資源研）

13:30　1pF03　ヤエナリ液胞膜 H^+-ピロホスファターゼの機能部位の解析
　　高須綾子，中西洋一，前島正義（名古屋大・農・生化）

13:45　1pF04　液胞におけるプロトンポンプの発現調節
　　福田篤徳，小池説夫，前島正義[1]，田中喜之（農水省・生物研，[1]名古屋大・農・生化）

14:00　1pF05　樹木のフェニルプロパノイド生合成系の桂皮酸4-水酸化酵素遺伝子の解析
　　盛有子[1]，川合伸也[2]，Zhan Xiang Can[2]，塩川貴広[2]，片山義博[1]，諸星紀幸[1]（[1]農工大・院・生物システム，[2]農工大・応生科）

14:15　1pF06　*Botryococcus braunii* のスクアレン合成酵素のクローニング
　　矢野伸一，廣瀬美佐江，河田悦和，小嶋洋之（工技院・大阪工技研）

14:30　1pF07　リンドウ花弁からのフィトエン合成酵素遺伝子のクローニング
　　小岩弘之，小林仁，山村三郎（岩手生物工学研究センター）

14:45　1pF08　垂直分布する *Solidago* 属植物における細胞質型 Cu/Zn-SOD cDNA のクローニングと発現解析
　　村井耕二，村井里佳，山岸真澄，宅見薫雄（石川農短大・農業資源研）

15:00　休　憩

15:15　1pF09　イネ—メタロチオネイン遺伝子の組織特異的発現
　　神崎洋之，亀谷七七子，乗田英子，中村郁郎（岩手生工研）

15:30　1pF10　イネグルタチオン還元酵素の cDNA クローニングとストレスに対する発現応答
　　上中弘典，森田重人[1]，亀岡豊史，横井秀行，増村威宏，田中國介（京都府大・農・農化，[1]京都大・理・植物）

15:45　1pF11　アカパンカビ *Neurospora crassa* の *acr*-2 及び *trx* 遺伝子の機能の解析
　　秋山正志，中島秀明（岡山大・理・生物）

16:00　1pF12　細菌の不飽和脂肪酸シス—トランス異性化酵素の性質
　　江成大輔，草野輝男，奥山英登志（北海道大・院・地球環境科学）

F 会場　遺伝子構造・機能

16:15　1pF13　コムギ葉および根細胞の加齢に伴う α-リノレン酸含量の変化と小胞体局在型 ω-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の発現様式
堀口吾朗，児玉浩明，川上直人[1]，西村光雄，射場厚（九州大・理・生物，[1]横浜市立大・木原生研）

16:30　1pF14　イネ小胞体局在型 ω-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の単離と発現解析
児玉浩明，赤木宏守[1]，楠見健介，藤村達人[1]，射場厚（九州大・理・生物，[1]三井東圧化学・ライフサイエンス研）

16:45　1pF15　葉緑体 ω-3 脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の導入によりジーンサイレンシングが生じた形質転換タバコにおけるノーザン解析
前田静思，濱田達朗，児玉浩明，西村光雄，射場厚（九州大・理・生物）

17:00　1pF16　シロイヌナズナ *FAD7* 遺伝子に生じたナンセンス変異は mRNA の蓄積を阻害する
太田淳子，射場厚（九州大・理・生物）

17:15　1pF17　樹木のフェニルアラニンアンモニアリアーゼの発現様式とその調節機構
刑部祐里子，川合伸也，片山義博[1]，諸星紀幸[1]（農工大・応生科，[1]農工大・院・生物システム）

第 2 日（3 月 28 日）午前

8:30　2aF01　ハツカダイコン　グルタミン合成酵素遺伝子 *Gln1; 1* のプロモーターの形質転換シロイヌナズナでの挙動
野澤彰，伊藤正樹，渡邊昭（東京大・院・理・生物科学）

8:45　2aF02　Overproduction of the Δ12 acyl-lipid desaturase in *Escherichia coli* and temperature dependence of its activity *in vitro*
Sayamrat Panpoom, Dmitry A. Los, Norio Murata (Dept. Regulation Biology, Natl. Inst. Basic Biology, Dept. Mol. Biomechanics, Graduate Univ. Advanced Studies)

9:00　2aF03　ワラビ葉緑体遺伝子 *accD* では，開始コドンも終止コドンもともに RNA エディティングによってつくられる
西川暁，若杉達也，島田浩章[1]，山田恭司（富山大・理・生物，[1]三井東圧化学・ライフサイエンス研）

9:15　2aF04　Alternative splicing により調節を受ける 2 種類のカボチャ・ヒドロキシピルビン酸レダクターゼ
真野昌二[1,2]，林誠[1,2]，西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物，[2]総合研究大学院大・生命科学）

9:30　2aF05　アグロバクテリウム法を用いたイネへの遺伝子導入とタペート細胞特異的プロモーターによる GUS 遺伝子の発現解析
横井修司，土屋亨，鳥山欽哉，日向康吉（東北大・農）

9:45　2aF06　サツマイモの 2 種の塊根主要タンパク質遺伝子プロモーターに共通して存在する糖応答性発現に関わるシスエレメント
前尾健一郎，森上敦，石黒澄衛[1]，赤池美紀子，中村研三（名古屋大・農・生化，[1]京都大・理・植物）

10:00　2aF07　ジャスモン酸により誘導されるタバコ培養細胞のオルニチンデカルボキシラーゼ遺伝子の発現
今西俊介，村本伸彦，宇都野要，小島久恵，中村研三（名古屋大・農・生化）

10:15　2aF08　イネグルテリン遺伝子プロモーター中の AACA モチーフに結合する蛋白質の cDNA クローニングの試み
鈴木章弘，川辺史生[1]，高岩文雄（農水省・生物研，[1]名古屋大・遺伝子）

10:30　休　憩

10:45　2aF09　ヒストン遺伝子発現制御に関わるタイプⅠエレメントのタバコ幼植物体の分裂組織における機能
賀屋秀隆，辻博之，中山卓哉，荒木崇，飯哲夫，岩淵雅樹（京都大・院・理・植物科学）

11:00　2aF10　シロイヌナズナからの Cys2/His2 型 Zn-finger 蛋白質遺伝子の単離
坂本秀樹，荒木崇，飯哲夫，岩渕雅樹（京都大・院・理・植物科学）

11:15　2aF11　コムギ葉緑体光応答プロモーターのシス配列および配列特異的 DNA 結合タンパク質の解析
中平洋一，角山雄一，米田章登，椎名隆，豊島喜則（京都大・人間・環境学）

11:30　2aF12　コムギ成熟葉緑体における psbD/C-3 プロモーター活性の光応答性の解析
佐藤淳子，馬場恭子[1]，椎名隆，豊島喜則（京都大・人間・環境学，[1]金沢大・自然科学）

F 会場　遺伝子構造・機能

第 2 日（3 月28日）午後

13:00　2pF01　エチレン誘導に関与するタバコ転写因子群の生化学的性質
伊藤嘉信，高木優[1]，進士秀明[1]，山崎健一（名古屋大・農・生化学制御，[1]工技院・生命研・植物）

13:15　2pF02　シロイヌナズナ転写抑制因子 Dr1 の生化学的性質
岩滝暢子，黒森崇[1]，山本正幸[2]，山崎健一（名古屋大・農・生化学制御，[1]基生研，[2]東京大・理・生物化学）

13:30　2pF03　植物の転写コアクティベーター
山崎健一，広瀬進[1]（名古屋大・農・生化学制御，[1]国立遺伝研）

13:45　2pF04　イネ増殖細胞核抗原 (PCNA) 遺伝子の分裂細胞特異的発現に必須なシス因子に結合するタンパク質の cDNA クローニング
小杉俊一，大橋祐子（農水省・生物研）

14:00　2pF05　大腸菌のモリブデン酸輸送系遺伝子の転写制御
三宅仁，佐藤敏生，山本勇（広島大・理・生物科学）

14:15　2pF06　AOBP は，Steroid hormone receptor および GATA1 に似た Zinc-binding domain を持つ
木須康智[1]，鈴木理[2]，小野智幸[1]，江坂宗春[1]（[1]広島大・生物生産，[2]MRC Lab. of Mol. Biol., Cambridge）

14:30　2pF07　形質転換植物を用いたタバコ葉緑体核様体 DNA 結合性タンパク質 CND41 の機能解析
中野雄司[1]，村上真也，吉田茂男[3]，山田康之[2]，佐藤文彦（京都大・農，[1]現・理研・植物機能，[2]奈良先端大，[3]理研）

14:45　2pF08　Two-hybrid system を用いた転写因子 HBP-1a と相互作用するタンパク質の同定と解析
玉井宏紀，岡南政宏，飯哲夫，岩淵雅樹（京都大・院・理・植物科学）

15:00　休　憩

15:15　2pF09　CO_2 濃度変動に応答する緑藻クラミドモナス炭酸脱水酵素遺伝子 *CAH1* の転写調節領域
福澤秀哉，九町健一，大山莞爾（京都大・農・農化）

15:30　2pF10　*Anabaena* における RNA 結合タンパク質遺伝子 *rbpA3* の解析
圓山恭之進，佐藤直樹（東京学芸大・生命科学）

15:45　2pF11　シアノバクテリア RNA 結合タンパク質の低温における蓄積とその役割
佐藤直樹（東京学芸大・生命科学）

16:00　2pF12　*Anabaena variabilis* における *dps* 相同遺伝子 *dph* の解析
長谷川実加，佐藤直樹（東京学芸大・生命科学）

第 3 日（3 月29日）午前

8:30　3aF01　ハンマー式遺伝子導入装置の開発と導入した遺伝子の発現解析
森川弘道，高橋美佐，雉鼻晃[1]（広島大・理・遺伝子科学，[1]日本医化器）

8:45　3aF02　異なる生理条件下にあるシロイヌナズナ植物葉への遺伝子導入と発現の解析
入船浩平，田中俊憲[1]，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学，[1]長崎県総合農試）

9:00　3aF03　パーティクルガン法によって得られたトランスジェニック植物の外来遺伝子組込み部位の構造と機能の解析
五島直樹，清水克哉，入船浩平，川上茂樹，越智泰彦，尾崎秀司，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

9:15　3aF04　シロイヌナズナ亜硝酸還元酵素遺伝子に存在する SAR 配列の解析
田中俊憲[1]，澤崎達也，高橋美佐，入船浩平，五島直樹，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学，[1]長崎県総合農試）

9:30　休　憩

9:45　3aF05　トランスジェニックトルコギキョウ植物の育成とその解析――パーティクルガン法による形質転換――
西原昌宏，小林仁，Piyasak Chaumpluk，星伸枝，山村三郎（財団法人岩手生物工学研究センター）

10:00　3aF06　*Agrobacterium rhizogenes* を用いたダイズ形質転換系によるウリカーゼ遺伝子のプロモーター解析
高根健一，河内宏[1]，田島茂行（香川大・生物資源科学，[1]農水省・生物研）

F 会場　遺伝子構造・機能

10:15　3aF07　新規な遺伝子導入法によるマーカー・フリー組換え植物の作出
松永悦子，杉田耕一，山門幹子，海老沼宏安（日本製紙・中研）

10:30　3aF08　ハイグロマイシンで選抜可能な Ti-プラスミド自動変換ラムダファージベクターの作製
布施拓市，児玉浩明，林田信明[1]，篠崎一雄[1]，射場厚（九州大・理・生物，[1]理研・植物分子）

10:45　3aF09　過剰発現形タギングベクターを利用したシロイヌナズナタグラインの大量作製
林浩昭，藤原徹，白野由美子[1]，柴田大輔[1]，茅野充男（東京大・農学生命科学，[1]三井業際バイオ研）

11:00　3aF10　染色体の特定領域の cDNA 選抜法のシロイヌナズナゲノム由来のコスミドコンティグへの応用
関原明，林田信明，加藤紳子[1]，養王田正文[1]，篠崎一雄（理研・植物分子生物，[1]理研・化学工学）

11:15　3aF11　イネゲノムの BAC ライブラリーの完成
中村信吾[1]，浅川修一[2]，田中良和[1,3]，山田哲治[3]，清水信義[2]，川崎信二[1]（[1]農水省・生物研，[2]慶応大・医，[3]岡山大・農）

G 会場　オルガネラ・生体膜

第 1 日（3 月27日）午前

9:30　1aG01　逆相 HPLC によるカロテンの分離，同定
高市真一，新山孝弘[1]（日本医大・生物，[1]明治大・農化）

9:45　1aG02　細胞性粘菌 *Polysphondylium pallidum* の脂肪酸と脂質の解析
斉藤玉緒，落合廣（北海道大・院・理・生物科学）

10:00　1aG03　ラン藻 *Synechocystis* sp. PCC 6803 の低温下における生育と膜脂質のジエン脂肪酸の役割
田坂恭嗣，Zoltan Gombos，西山佳孝，大場哲彦[1]，大木和夫[1]，村田紀夫（基生研，[1]東北大・理・生物物理）

10:15　1aG04　キクイモ塊茎組織の培養に伴う細胞膜リン脂質組成の変化
長谷昭，上岡華代（北海道教育大・函館・生物）

10:30　休　憩

10:45　1aG05　シャジクモ類における機械刺激受容　II．薬理学的解析
新免輝男（姫路工大・理・生命）

11:00　1aG06　シャジクモの水チャンネル特性——Hg 及び Zn による阻害
田沢仁，浅井一視[1]，岩崎尚彦[1]（福井工大・応用理化学，[1]大阪医大・生物）

11:15　1aG07　シャジクモ節間細胞における電気刺激直後の，興奮の主過程に先立って流れるイオン電流の分離作業
大川和秋，筒井泉雄[1]，野坂修一[2]（大阪大・理・生物，[1]岡崎生理研・生体膜，[2]滋賀医大・麻酔科）

11:30　1aG08　シラタマモ節間細胞の低張処理に伴う膨圧調節と液胞内カルシウムイオン
岡崎芳次，岩崎尚彦（大阪医大・生物）

11:45　1aG09　粘菌 *Polysphondylium* の細胞接着タンパク質 gp64 の *Dictyostelium* での発現と細胞膜上へのターゲッティング
舟本聡，落合廣（北海道大・院・理・生物科学）

第 1 日（3 月27日）午後

13:00　1pG01　葉緑体ゲノムにコードされたタンパク質のチラコイド膜透過機構の解析
浅井友実，野原哲矢，中井正人，杉浦昌弘[1]，遠藤斗志也（名古屋大・理・化学，[1]名古屋大・遺伝子実験施設）

13:15　1pG02　高等植物葉緑体 SecY タンパク質の cDNA クローニングと機能解析
野原哲矢，中井正人，遠藤斗志也（名古屋大・理・化）

13:30　1pG03　DTT 処理によるタバコ培養細胞よりの新生液胞可溶性蛋白質前駆体の分泌
飯石美典，松岡健，中村研三（名古屋大・農・生化）

13:45　1pG04　シロイヌナズナのプラスチド局在性シャペロニン 10 (AT2) の cDNA クローニングとその発現
河本恭子，嶋田知生，西村幹夫（基生研・細胞生物）

14:00　1pG05　シロイヌナズナの 3 種の液胞プロセシング酵素の発現様式
木下哲[1,2]，西村いくこ[1,2]，西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物，[2]総合研究大学院大・生命科学）

14:15　1pG06　ヒマ液胞プロセシング酵素の酵母細胞における発現
平岩呂子[1,2]，西村いくこ[1,2]，井上香織[1,2]，和田洋[3]，西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物，[2]総合研究大学院大・生命科学，[3]東京大・教養）

14:30　1pG07　種子細胞におけるゴルジ体を経由しない液胞タンパク質の輸送経路の存在
西村いくこ[1]，幡野恭子[1,2]，西村幹夫[1]（[1]基生研・細胞生物，[2]京都大・総合人間）

14:45　休　憩

15:15　1pG08　マイクロボディ輸送シグナルとして働く C 末端トリペプチドのアミノ酸配列特異性
林誠，青木雅弘，近藤真紀，西村幹夫（基生研・細胞生物）

15:30　1pG09　形質転換アラビドプシスにおける 2S アルブミン-PAT 融合タンパク質の発現とその細胞内局在化機構
林誠，鳥山可菜子，近藤真紀，西村いくこ，西村幹夫（基生研・細胞生物）

15:45　1pG10　グリオキシゾームリンゴ酸脱水素酵素前駆体の N 末端領域はマイクロボディへの輸送シグナルである
加藤朗，林誠，近藤真紀，西村幹夫（基生研・細胞生物）

G 会場　オルガネラ・生体膜

16:00　1pG11　プラスチド発達過程におけるプラスチド核様体構成成分の分析
三角修己，佐藤直樹，黒岩晴子[1]，黒岩常祥[2]（東京学芸大・生命科学，[1]共立女子短大・文科，[2]東京大・院・理・生物科学）

16:15　1pG12　原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の核形態と転写産物の空間的，量的な解析
戸田恭子，高野博嘉，高橋秀典，黒岩晴子[1]，黒岩常祥（東京大・院・理・生物科学，[1]共立女子短大・文科）

16:30　1pG13　ピンポイント分子生物学へ向けて：（1）選択的に単離したミトコンドリアで“ミト”コンドリアと描く
黒岩常祥，高野博嘉，佐々木成江，松永幸大，東山哲也，黒岩晴子[1]（東京大・院・理・生物科学，[1]共立女子短大・文）

16:45　1pG14　紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* においてナリジキシン酸がオルガネラ核の複製・分裂に及ぼす効果
伊藤竜一，高橋秀典，戸田恭子，黒岩晴子[1]，黒岩常祥（東京大・理・生物科学，[1]共立女子短大・生物）

17:00　1pG15　細胞核，色素体核，ミトコンドリア核の分別単離と単離核の DNA/RNA 合成活性の解析
酒井敦，佐々木成江，黒岩常祥（東京大・院・理・植物）

17:15　1pG16　高等植物の根の組織分化に関わるゴルジ体の形態学的観察
河津維，河野重行，黒岩常祥（東京大・院・理・生物科学）

第 2 日（3 月28日）午前

8:30　2aG01　ジャガイモ塊茎における液胞膜 H^+-pump の特性解析
遠藤千絵，箱山晋，前島正義[1]（北海道農試・畑研センター・品質チーム，[1]名古屋大・農・生物化学）

8:45　2aG02　液胞膜 H^+-ATPase の H^+ 輸送能と低温の影響
山口峰生，中村善行[1]，小林秀行[1]，笠毛邦弘[2]（筑波大・生物，[1]農水省・食総研，[2]農水省・生物研）

9:00　2aG03　キクイモ塊茎における細胞膜 H^+-ATPase の C 末端自己阻害ドメイン切除による活性化
上岡華代，長谷昭（北海道教育大・函館・生物）

9:15　2aG04　ポリアミンによるエンドウ細胞膜 ATPase の阻害効果
樽井裕，飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

9:30　2aG05　海産ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* P-type ATPase cDNA のクローニングと解析
庄野真理子[1]，和田雅人（[1]植工研，筑波大・遺伝子実験センター）

9:45　2aG06　好酸性の紅藻イデユコゴメの細胞膜 H^+-ATPase のクローニング
太田尚孝，白川仁[1]，内田浩二[2]，吉田充輝[1]，松尾雄志[2]，榎並勲（東理大・理・生物，[1]東理大・基礎工・生工，[2]オリエンタル酵母長浜生物科学研）

10:00　2aG07　ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC7942 の硝酸イオン輸送系の膜結合性基質結合タンパク質の膜への結合と機能の関係
前田真一，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

10:15　2aG08　酵母の自食作用変異株の解析
白浜佳苗，野田健司，和田洋，大隅良典（東京大・教養・生物）

10:30　休　憩

10:45　2aG09　シロイヌナズナの低分子量 GTPase, Ypt7
武藤智恵子，佐藤雅彦，大隅良典，和田洋（東京大・教養・生物）

11:00　2aG10　液胞形態形成に機能する低分子量 GTP 結合タンパク質，Vam4p
和田洋（東京大・教養・生物）

11:15　2aG11　低分子量 GTP 結合タンパク質 *ARA* family の細胞生物学的研究
上田貴志，中野明彦[1]，塚谷裕一，内宮博文（東京大・分生研，[1]東京大・生物科学）

11:30　2aG12　小胞体−ゴルジ体間輸送に必須な Sar1 GTPase−タバコ *SAR1* 遺伝子の BY-2 細胞と酵母での機能解析
竹内雅宜，中野明彦（東京大・院・理・生物科学）

G 会場　オルガネラ・生体膜

第2日（3月28日）午後

13:00　2pG01　根の発達にともなう K^+ 吸収・移行速度の変化と膜局在性輸送タンパク質の発現との関連
大家理哉，柴坂三根夫（岡山大・資源生物科学研究所）

13:15　2pG02　アラビドプシス K^+ channel の構造と機能解析
魚住信之，W. Gassmann[1]，Y. Cao[1]，J. I. Schroeder[1]（名古屋大・生物分子応答研究センター，[1]UC San Diego）

13:30　2pG03　シロイヌナズナ無機リン酸トランスポーターの分子生物学的解析
光川典宏，奥村暁，白野由美子，佐藤茂，柴田大輔（三井業際植物バイオ研究所）

13:45　2pG04　葉緑体による亜硝酸イオンの取込
村田祐二，尼子克己，高橋正昭（大阪府大・農・応用生化）

14:00　2pG05　植物の窒素トランスポーターに相同性を示す葉緑体包膜タンパク質のイオン輸送特性
高橋正昭，杉浦美羽[1]（大阪府大・農・応用生化，[1]神戸大・自然科学）

14:15　2pG06　亜硝酸トランスポーター形質転換タバコの特性
岡桂子，尼子克己，高橋正昭（大阪府大・農・応用生化）

14:30　2pG07　イネチオレドキシン h の細胞間移動性に関する解析
石渡裕，藤原徹，林浩昭，William J. Lucas[1]，茅野充男（東京大・院・農学生命科学，[1]UC Davis）

14:45　休　憩

15:15　2pG08　ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC 7942 において硫酸欠乏時に誘導される *rhdA* の調節領域の解析
鈴木英治，David E. Laudenbach（ウェスタンオンタリオ大・植物科学）

15:30　2pG09　トランスジェニック・アラビドプシスを用いた硫黄栄養応答性遺伝子の発現制御機構の解析
平井（横田）優美，藤原徹，内藤哲[1]，茅野充男（東京大・院・農学生命科学・応用生命化学，[1]北海道大・農・応用生命科学）

15:45　2pG10　硫黄および窒素栄養条件によるダイズ種子貯蔵タンパク質の合成制御機構
金皓衍，平井（横田）優美，藤原徹，林浩昭，内藤哲[1]，茅野充男（東京大・院・農学生命科学・応用生命化学，[1]北海道大・農・応用生命科学）

16:00　2pG11　イネの苗におけるグルタチオン含量の日周変動
西村重喜，渥美茂明（兵庫教育大・自然系教育・生物）

第3日（3月29日）午前

8:30　3aG01　緑豆由来の抗酸化物によるアルキルパーオキシラジカルの除去
中尾まゆみ，小野莞爾，前田浩[1]（熊本大・理・生物科学，[1]熊本大・医・微生物）

8:45　3aG02　エンレイソウ (*Trillium apetalon*)，オオバナノエンレイソウ (*T. kamtschaticum*) におけるフラボノイドのメチル化の制御機構について
中村友紀，寺本進，吉玉国二郎（熊本大・理・生物科学）

9:00　3aG03　チャ葉におけるプリンアルカロイドの代謝
芦原坦，加藤美砂子，F. M. Gillies[1]，A. Crozier[1]（お茶の水大・理・生物，[1]Div. Biochem. Mol. Biol., Inst. Biomed. Life Sci, Univ. Glasgow）

9:15　3aG04　ウツボカズラ *Nepenthes hybrida* の分泌する糖質
牧迫剛志，阿部美紀子，内海俊樹，東四郎（鹿児島大・理・生物）

H 会場　分化・形態形成

第 1 日（3 月27日）午前

9:30　1aH01　シロイヌナズナの雌しべ特異遺伝子の解析
安積良隆，高師知紀，小柴邦宏，鈴木秀穂（神奈川大・理・応用生物）

9:45　1aH02　アサガオ花弁主要タンパク質の同定と性質
安部弘，上田貴子，藤岡昭三，桜井成（理化学研究所・植物生活環制御）

10:00　1aH03　砂漠植物 *Pectis papposa* の花芽形態形成に伴う DNA 合成パターンの経時変化
林誠，黒岩晴子[1]，黒岩常祥（東京大・院・理・生物科学，[1]共立女子短大・文）

10:15　1aH04　ペチュニアの花器官特異的遺伝子のアサガオにおける発現様式の解析
山下博史，竹葉剛，黒岩常祥[1]（京都府立大・応用生物，[1]東京大・院・理・生物科学）

10:30　休　憩

10:45　1aH05　単細胞緑藻クラミドモナスの接合直後に発現する遺伝子 *zys1* の解析
内田英伸，鈴木玲奈[1]（筑波大・生物科学，[1]東京医科歯科大・医）

11:00　1aH06　単細胞緑藻クラミドモナスの接合直後に発現する遺伝子 *zys3* の解析
栗山英夫，高野博嘉，鈴木玲奈[1]，内田英伸[2]，河野重行，黒岩常祥（東京大・院・理・生物科学，[1]東京医科歯科大・医，[2]筑波大・生物科学）

11:15　1aH07　クラミドモナスの接合子特異的遺伝子 *zys4* の接合子形成における機能
鈴木玲奈，内田英伸[1]，栗山英夫[2]，高野博嘉[2]，黒岩常祥[2]（東京医科歯科大・医，[1]筑波大・生物科学，[2]東京大・理・植）

11:30　1aH08　*in vitro* 重複受精における胚のうへの花粉管誘導過程の解析
東山哲也，黒岩晴子[1]，河野重行，黒岩常祥（東京大・院・理・生物科学，[1]共立女子短大・文）

11:45　1aH09　雌雄異株植物雄性生殖器官特異的遺伝子の葯内における発現パターンの解析
松永幸大，河野重行，黒岩常祥（東京大・院・理・生物科学）

第 1 日（3 月27日）午後

13:00　1pH01　イネのプロテアソーム C2 サブユニットの生化学的解析
梅田正明，真鍋弓月，内宮博文（東京大・分生研）

13:15　1pH02　コムギ種子発達過程における休眠関連遺伝子の発現
川上直人，野田和彦[1]（横浜市大・木原生研，[1]岡山大・資生研）

13:30　1pH03　シロイヌナズナのアブシジン酸欠損変異株の解析
南原英司，川出洋[1]，神谷勇治[1]，内藤哲（北海道大・農・応用生命科学，[1]理研・フロンティア・植物ホルモン）

13:45　1pH04　A/T リッチプロモーター配列を介したジベレリン酸による遺伝子発現誘導
鷲尾健司，石川鑌（北海道大・地球環境科学・環境分子生物学）

14:00　1pH05　*Dryopteris* 仮根のフィトクロム依存性成長に対する La^{3+} の作用
八ツ橋寛子，Robert Scheuerlein[1]（宮崎大・教育・生物，[1]Inst. Gen. Botany/Plant Physiol., Univ. of Jena）

14:15　1pH06　西洋ワサビで過剰発現させた C 末端部分を削除したフィトクロム A の性質について
中澤美紀，小杉慶子，東真由美，富澤健一[1]，斉藤力[2]，鎌田博[2]，眞鍋勝司（横浜市大・理，[1]理研・フロンティア，[2]筑波大・遺伝子）

14:30　1pH07　光による遺伝子発現抑制を媒介するフィトクロームシグナル伝達機構
山形裕士，G. Neuhaus[1]，C. Bowler[2]，平塚和之[3]，N.-H. Chua[4]（神戸大・農，[1]スイス ETH 研究所，[2]イタリアナポリ臨海実験所，[3]奈良先端科技大，[4]米国ロックフェラー大学）

14:45　1pH08　トウモロコシ幼葉鞘の照射時間依存光屈性：その発現は赤色光信号に依存する
劉玉軍，飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

15:00　休　憩

15:15　1pH09　西洋わさび毛状根からのフィトクロム遺伝子の単離と解析
齋藤力，橋爪亜紀，原田宏，鎌田博（筑波大・生物）

H 会場　分化・形態形成

15:30　1pH10　ホウライシダ・フィトクロム遺伝子ファミリーの単離と解析
野末一成，福田俊介，鐘ヶ江健，和田正三（都立大・理・生物）

15:45　1pH11　ホウライシダ (*Adiantum capillus-veneris* L.) フィトクロム FP1 遺伝子を導入したアラビドプシス形質転換体の解析
岡本晴子，阪本康司[1]，富沢健一[2]，長谷あきら[3]，和田正三（都立大・理・生物，[1]理研・フロンティア，[2]RITE・植物分子生理，[3]東京大・遺伝子実験施設）

16:00　1pH12　赤色光誘導光屈性を欠くホウライシダ突然変異体の単離とその特徴
門田明雄，和田正三（都立大・理・生物）

16:15　1pH13　ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha* L.) 胞子の光発芽の解析
中里直，門田明雄，和田正三（都立大・理・生物）

16:30　1pH14　ミズワラビ前葉体における青色光による細胞伸長阻害の微光束照射法による解析
村田隆，門田明雄[1]，和田正三[1]（東京大・教養・生命，[1]都立大・理・生物）

16:45　1pH15　Morphological recovery of elongated interphase nuclei in protonemata of the fern *Adiantum capillus-veneris*
Christian Wunsch[1], Masashi Kurachi[2], Mahito Kikumoto[2], Hideo Tashiro[2], Masamitsu Wada[1] ([1]Dept. Biol., Tokyo Metropolitan Univ., [2]Photodynamics Research Center, RIKEN)

17:00　1pH16　ヒゲカビ接合反応における光阻害の作用スペクトル
山崎裕，片岡博尚，宮嵜厚，渡辺正勝[1]，大瀧保（東北大・遺生研，[1]基生研・培養育成）

17:15　1pH17　Phya-mediated changes in plastid development in *Arabidopsis* cotyledons caused by irradiation with continuous far-red light
Naoko K. Nishizawa, Simon A. Barnes, Ronaldo Quaggio, Garry Whitelam[1], Nam-Hai Chua (Lab. of Plant Molecular Biology, The Rockefeller Univ., [1]Dept. of Botany, Univ. of Leicester)

第 2 日（3 月28日）午前

8:30　2aH01　形質転換タバコにおける *SLG*[9], *SRK*[9] ゲノムクローンの発現
鈴木剛，渡辺正夫，鳥山欽哉，磯貝彰[1]，日向康吉（東北大・農，[1]奈良先端大・バイオサイエンス）

8:45　2aH02　ユリの減数分裂時期に発現が誘導される LIM18 遺伝子の機能解析
皆見政好，平塚理恵[1]，平塚和之，高瀬尚文，堀田康雄（奈良先端大・バイオ，[1]慈恵医大・生物）

9:00　2aH03　雄性生殖細胞形成過程に発現誘導されるセリンプロテアーゼに関する研究
上藤洋敬，奥田将生，平塚理恵[1]，平塚和之，高瀬尚文，堀田康雄（奈良先端大・バイオサイエンス，[1]慈恵医大・生物）

9:15　2aH04　蘚類 *Physcomitrella patens* のカルス及び配偶体初期発生の走査型電子顕微鏡による観察
藤原研二郎，東江昭夫（東京大・理学系研究科）

9:30　2aH05　高密度培養条件下でのニンジン不定胚形成
坂野勝啓，矢崎芳明，清田誠一郎（農水省・生物研）

9:45　2aH06　シロイヌナズナにおける AtECP 遺伝子の RFLP によるマッピング
楊和平，斎藤力，米田好文[1]，鎌田博（筑波大・生物，[1]北海道大・院・理）

10:00　2aH07　ニンジンの再生した幼植物体からの不定胚形成について
佐藤豪，保田浩，増田宏志（帯広畜大・生物資源化学）

10:15　2aH08　ニンジン不定胚形成における expanding cell の細胞間接着について
保田浩，増田宏志（帯広畜大・生物資源化学）

10:30　休　憩

10:45　2aH09　迅速かつ容易なニンジン不定胚への遺伝子導入法
得字圭彦[1]，福田裕穂[1,2]（[1]東北大・院・理・生，[2]東京大・理・植物園）

11:00　2aH10　無窒素培養と日長性による花成誘導の共通性と相違点
長谷隆司，田中修（甲南大・理・生物）

11:15　2aH11　アサガオ floricaura-leafy homolog の cDNA 単離と発現解析
小野道之，小野公代[1]，井上正保，鎌田博[1]（秋田県農短大・生工研，[1]筑波大・生物）

H 会場　分化・形態形成

11:30　2aH12　Differential display 法によるアサガオ花成誘導特異的遺伝子のクローニング
小野公代，小野道之[1]，鎌田博（筑波大・生物，[1]秋田県農短大・生工研）

11:45　2aH13　トランスポゾンタッギングによるイネ開花時期を決定する遺伝子へのアプローチ
石田亘広[1]，中野年継[1]，井沢毅[1]，橋本尚子[2]，島本功[1]（[1]NAIST・バイオサイエンス，[2]植工研）

第 2 日（3 月28日）午後

13:00　2pH01　シロイヌナズナ花序形態形成突然変異 *acaulis* 2 の遺伝子領域に検出される遺伝子の発現の解析
稲場－日向野久美子，加藤敦之，米田好文（北海道大・院・理・生物科学）

13:15　2pH02　花芽形成抑制遺伝子としてのシロイヌナズナ *pin* 突然変異体の解析
澤進一郎[1,3]，Detlef Weigel[2]，町田泰則[1]，岡田清孝[3]，志村令郎[3]（[1]名古屋大・理，[2]Salk Institute for Biological Studies, [3]京都大・理）

13:30　2pH03　シロイヌナズナの花成遅延遺伝子の遺伝学的解析
荒木崇，Marty F. Yanofsky[1]，岩淵雅樹（京都大・理・植物，[1]カリフォルニア大・サンディエゴ校・生物）

13:45　2pH04　シロイヌナズナを用いた根毛の形態形成に関与する遺伝子の解析
久保深雪，和田拓治，石黒澄衛，岡田清孝（京都大・理）

14:00　2pH05　葉形態形成に関わる遺伝子 *LANCEOLATUS1* 及び *MACROPHYLLA*――アラビドプシスの変異株を用いた発生遺伝学的解析
金昊泰，塚谷裕一，内宮博文（東京大・分子細胞生物学研）

14:15　2pH06　アラビドプシスの子葉における形態異常変異体の単離と解析
庄田恵子，金昊泰，塚谷裕一，内宮博文（東京大・分子細胞生物学研）

14:30　2pH07　アラビドプシスを用いた葉身の伸長制御機構に関する発生遺伝学的解析――細胞質表層微小管を介した制御系――
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）

14:45　2pH08　アラビドプシスねじれ変異株の解析
橋本隆，渡邊夕子，内田純也，立元秀樹，土原和子，鹿内利治，山田康之（奈良先端大・バイオ）

15:00　休　憩

15:15　2pH09　シロイヌナズナ *tiny* 突然変異体を用いた下胚軸伸長成長の分子遺伝学的解析
倉田哲也，山本興太朗（北海道大・地球環境・環境分子生物）

15:30　2pH10　トライコム細胞特異的な発現に関与するシロイヌナズナ *cdc2* プロモーター領域の解析
今宿芳郎，青山卓史，後藤弘爾，岡穆宏（京都大・化研）

15:45　2pH11　イネ zebra（横縞葉）突然変異株における形質発現の温度および光依存性
小森久代，楠見健介，水谷明子，岡山繁樹，佐藤光[1]，射場厚（九州大・理・生物，[1]九州大・農・遺伝子資源センター）

16:00　2pH12　*rpo*, *rps* 遺伝子の葉の発生段階特異的な発現パターンに対するイネ virescent 突然変異の影響
楠見健介，小森久代，稲田仁，水谷明子，西村光雄，射場厚（九州大・理・生物）

第 3 日（3 月29日）午前

8:30　3aH01　ニンジン不定胚分化過程におけるホメオボックス遺伝子 *CHBs* の組織特異的発現
日渡祐二[1]，川原良一[2]，福田裕穂[1,3]（[1]東北大・院・理・生物，[2]理研 GB, [3]東京大・理・植物園）

8:45　3aH02　イネホメオボックス遺伝子 *OSH1* の胚発生時における発現パターン
佐藤豊，洪淳寛[1]，長戸康郎[1]，松岡信（名古屋大・分子応答研セ，[1]東京大・農）

9:00　3aH03　タバコホメオボックス遺伝子 *NTH23* の発現が抑制された形質転換体は葉の形態異常を示す
玉置雅紀，松岡信（名古屋大・生物分子応答）

9:15　3aH04　ジンクフィンガー転写調節因子 EPF ファミリー遺伝子へのトランスポゾン挿入変異体の選抜
小林晃[1]，坂本綾子[1]，Ronald Koes[2], Erik Souer[2]，高辻博志[1]（[1]農水省・生物研，[2]Vrije Univ.）

9:30　休　憩

H 会場　分化・形態形成

9:45　3aH05　ヒャクニチソウ葉肉細胞から管状要素への分化転換過程で発現する *myb* 相同遺伝子の解析
坂本和俊，杉山宗隆，福田裕穂[1]（東北大・院・理・生物，[1]東京大・理・植物園）

10:00　3aH06　ヒャクニチソウ細胞の管状要素分化におけるシステインプロテアーゼ遺伝子の特異的かつ一過的発現
南淳，出村拓[1]，福田裕穂[2]（鶴岡工業高専・物質工学，[1]東北大・理・生物，[2]東京大・理・植物園）

10:15　3aH07　シロイヌナズナの道管形成に関する突然変異体の単離
小泉好司[1]，杉山宗隆[1]，福田裕穂[1,2]（[1]東北大・院・理・生物，[2]東京大・理・植物園）

10:30　3aH08　ヒャクニチソウ芽生えの発達過程における TED2 遺伝子の維管束組織特異的な発現
出村拓[1]，福田裕穂[1,2]（[1]東北大・院・理・生物，[2]東京大・理・植物園）

10:45　3aH09　ヒャクニチソウ葉肉細胞の分化転換初期に発現する遺伝子の傷害誘導性と管状要素分化への関与
永田美世[1]，出村拓[1]，福田裕穂[1,2]（[1]東北大・院・理・生物，[2]東京大・理・植物園）

11:00　3aH10　ヒャクニチソウ毛状根への木部分化特異的ペルオキシダーゼ遺伝子のアンチセンス DNA の導入
崔賢美[1]，佐藤康[2]，福田裕穂[1,3]（[1]東北大・理・生物，[2]愛媛大・理・生物，[3]東京大・理・植物園）

11:15　3aH11　シロイヌナズナの茎が重力屈性異常を示す新しい変異株について
山内喜朗，深城英弘，田坂昌生，藤澤久雄（京都大・理・生物）

11:30　3aH12　二次木部における成長応力の発生機構――木本植物の負の重力屈性挙動を力学的に制御する力
山本浩之，奥山剛，吉田正人（名古屋大・農・応用生物）

I 会場　細胞形態・加齢

第1日（3月27日）午前

9:30　1aI01　アズキ上胚軸細胞壁のキシログルカン分解酵素の性質
田渕彰，神阪盛一郎，森仁志[1]，保尊隆享（大阪市大・理・生物，[1]名古屋大・農）

9:45　1aI02　気中培養並びに水中培養イネ幼葉鞘細胞壁中の (1→3), (1→4) -β-D-グルカン分解酵素
陳磊，神阪盛一郎，保尊隆享（大阪市大・理・生物）

10:00　1aI03　伸長生長に関与する β-D-グルカナーゼの精製及び同定
小竹敬久，中川直樹，櫻井直樹（広島大・総）

10:15　1aI04　発芽期のイネに存在する塩基性のエンド型 1,3-β-グルカナーゼの精製とその性質
秋山高，松葉修一，賀久華江[1]，渋谷直人[1]（農水省・北海道農試，[1]農水省・生資研）

10:30　休　憩

10:45　1aI05　アズキのエンド型キシログルカン転移酵素遺伝子 (*EXGT-V1*) 及びその類縁遺伝子 (*EXGT-V2*) の発現
冨田英津子[1]，岡本繁久，上舞哲也，西谷和彦（[1]鹿児島大・連合大学院，鹿児島大・教養）

11:00　1aI06　タバコ細胞膜ゴースト表層微小管と β-グルカン生合成
平井則子，園部誠司[1]，林隆久（京都大・木研，[1]姫路工大・理）

11:15　1aI07　成長する綿繊維細胞における壁酵素遺伝子の発現制御
清水良訓，川田俊成，作野友康，酒井富久美[1]，林隆久（鳥取大・農，[1]京都大・木質研）

11:30　1aI08　植物に存在する酢酸菌セルロース合成酵素ホモログの機能解析
中川直樹，桜井直樹（広島大・総科・自然）

第1日（3月27日）午後

13:00　1pI01　アズキ上はい軸の細胞壁領域に存在する酸化還元物質と酸化還元酵素について
高浜有明夫（九州歯科大）

13:15　1pI02　ホウレンソウ胚軸におけるスーパーオキシドの生成とリグニン合成
小川健一，金松澄雄[1]，浅田浩二[2]（京都大・理・分子植物科学，[1]南九州大・食品工，[2]京都大・食研）

13:30　1pI03　植物-病原菌相互作用における細胞壁の役割——活性酸素の生成——
木場章範，三宅千寿，豊田和弘，一瀬勇規，山田哲治，白石友紀（岡山大・農）

13:45　1pI04　ガラクトースリッチ塩基性糖蛋白質 (GBGP) とエクステンシンの性質とタバコ植物体における分布
武市哲郎，中村拓，川崎信二（農水省・農業生物資源研）

14:00　1pI05　光によるトウモロコシ幼葉鞘の成長抑制における細胞壁結合性フェノール化合物と PAL の役割
Mohammad Masud Parvez，若林和幸，保尊隆享，神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

14:15　1pI06　光によるエンドウ茎成長抑制と細胞壁多糖類の構造変化
三谷祐子，宮本健助[1]，上田純一[1]，若林和幸，保尊隆享，神阪盛一郎，増田芳雄[2]（大阪市大・理・生，[1]大阪府大・総科・自然環境，[2]帝塚山短大・食品）

14:30　1pI07　オクラ下胚軸切片の浸透的収縮と伸長のコンピューター・シミュレーション
山本良一，増田芳雄（帝塚山短大）

14:45　1pI08　エンドウの根の細胞壁伸展性のクリープ解析
谷本英一，山本良一[1]（名古屋市大・教養・生物，[1]帝塚山短大・食品）

15:00　休　憩

15:15　1pI09　トウモロコシ幼葉鞘細胞壁に存在する酸性蛋白質の性質と機能について
井上雅裕，ネビンス・ドナルド（愛媛大・理・生物，カリフォルニア大・デイビス校・ベジタブルクロプス）

15:30　1pI10　酵母 *Saccharomyces exiguus* の細胞壁代謝と細胞壁自己分解能
須合悦子，井上雅裕，遠山鴻，城尾昌範（愛媛大・理・生物）

15:45　1pI11　ギンドロ培養細胞における成長にともなう細胞壁分解酵素の活性変動
掛川弘一，枝重有祐，石井忠（農林水産省・森林総合研究所）

I 会場　細胞形態・加齢

16:00　1pI12　シュクロース合成酵素の大腸菌での発現
中井朋則，外内尚人[1]，土田隆康[1]，森仁志[2]，酒井富久美，林隆久（京都大・木質研，[1]㈱バイオポリマー・リサーチ，[2]名古屋大・農）

16:15　1pI13　ホウ酸-ラムノガラクツロナン-II複合体はすべての高等植物細胞壁に存在する
河口清香，高崎美紀，小林優，間藤徹，關谷次郎（京都大・農・農化）

16:30　1pI14　タバコ BY-2 培養細胞のホウ酸-ラムノガラクツロナンII複合体
小林優，大野香織，間藤徹，關谷次郎（京都大・農・農化）

16:45　1pI15　シュガービートパルプから単離したホウ素-ラムノガラクツロナン-II複合体
石井忠，松永俊朗[1]（森林総研，[1]農環研）

17:00　1pI16　タケノコから単離したホウ素-ラムノガラクツロナン-II複合体
金子哲[1,2]，石井忠[2]，松永俊朗[3]（[1]筑波大・応生，[2]森林総研，[3]農環研）

17:15　1pI17　根の細胞壁多糖類とアルミニウムの結合
レ・バン・ホア，桜井直樹（広島大・総合科学）

第2日（3月28日）午前

8:30　2aI01　コムギ葉より単離した葉緑体の破砕液に見出される Rubisco 分解の特性
石田宏幸，牧野周，前忠彦（東北大・農・応生化）

8:45　2aI02　細胞死による通気組織形成の解析
川合真紀，P. K. サマラジーワ，山口雅利，内宮博文（東京大・分生研）

9:00　2aI03　セントポーリア葉の低温障害によって引き起こされる細胞死とその初期過程
安田ゐう子，藤田哲也，加藤哲也[1]，尹在吉[2]，林孝洋[2]，矢沢進[2]（京都パストゥール研，[1]京都大・理・植物，[2]京都大・農・花卉園芸）

9:15　2aI04　コムギの一回結実性老化を制御する内生因子
木下浩司，喜久田嘉郎，幸田泰則（北海道大・農・作物生理）

9:30　2aI05　シロイヌナズナにおけるホウ素の動態と高濃度ホウ素要求性変異株
藤原徹，野口享太郎，安森美帆，松永俊朗[1]，渡辺久男[1]，今井貴敬[2]，内藤哲[2]，茅野充男（東京大・農・応生化，[1]農環研，[2]北海道大・農・応生）

9:45　2aI06　遊離メチオニンを過剰蓄積する突然変異株の解析
太田垣聡，南原英司，内藤哲（北海道大・農・応用生命科学）

10:00　2aI07　アラビドプシスの緑葉の老化に関わるプロテアーゼ遺伝子の発現
中林一美，伊藤正樹，渡邊昭，篠崎一雄[1]（東京大・院・理・生物科学，[1]理研・植物分子）

10:15　2aI08　リン酸欠乏ストレスのトウモロコシに及ぼす影響について　IV．可溶性タンパク質の2次元的パターンの変化――老化との関連において
臼田秀明，下河原浩介（帝京大・医・化学）

10:30　休　憩

10:45　2aI09　ゼニゴケプロトプラストにおける細胞壁構築と再生細胞の安定性　I．阻害剤の効果
菅原康剛，福川英司[1]（埼玉大・理・生体制御，[1]北海道原環セ）

11:00　2aI10　細胞壁形成過程の三次元観察（I）――リグニンの沈着にともなう二次壁の形態変化――
中島仁，高部圭司，藤田稔（京都大・農・林産）

11:15　2aI11　傾斜刺激による樹幹木部でのあて材形成と木部分化帯での遺伝子発現の変化
馬場啓一，原由里子，日尾野隆[1]，竹田匠，伊東隆夫，伊藤一弥[1]（京都大・木研，[1]新王子製紙・林木育種研）

11:30　2aI12　ホヤ類におけるセルロース合成
木村聡，伊東隆夫（京都大・木質研）

11:45　2aI13　植物根端組織細胞の生理・形態学的研究（III）．空隙 (Cavity) を充塡する細胞の形態的特徴
仁木輝緒，梶隆[1]（拓殖大・工，[1]政経）

I 会場　細胞形態・加齢

第2日（3月28日）午後

13:00　2pI01　Plant cell-division associated 21D7 gene encodes a component of the 26 S proteasome
Maria W. Smith, Masaki Ito[1], Shigeru Sato[2], Yoko Yoshikawa, Shinko Wada, Miyuki Miyawaki[3], Hiroki Nakagawa[3], Atsushi Komamine (Dept. Chem. Biol. Sci., Japan Women's Univ., [1]Dept. Plant Sci., Grad. School Sci., Univ. Tokyo, [2]Mitsui Plant Biotech. Res. Inst., [3]Dept. Agricult. Chem., Fac Horticult., Chiba Univ.)

13:15　2pI02　タバコ培養細胞 BY-2 のキネシン様タンパク質遺伝子の細胞周期における発現パターン
松井啓祐，David Collings，浅田哲弘，柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

13:30　2pI03　タバコキネシン様タンパク質 NAKs による NPK1 キナーゼ (MAPKKK) の活性化機構
西浜竜一，石川雅樹，山崎良子，坂野弘美，入江賢児[1]，松本邦弘[1]，町田泰則（名古屋大・理・生物，[1]名古屋大・分子生物）

13:45　2pI04　NPK1 と NAKs の植物細胞分裂における役割
西浜竜一，中島麻里奈，山崎良子，浅田哲弘[1]，松井啓祐[1]，平野敬子，坂野弘美，町田泰則（名古屋大・理・生物，[1]大阪大・理・生物）

14:00　2pI05　タバコ BY-2 細胞における細胞周期各期の微小管形成部位
馳澤盛一郎，熊谷史，長田敏行（東京大・院・理）

14:15　2pI06　タバコ培養細胞 BY-2 の増殖の制限要因としてのリン酸の役割
倉屋芳樹，網野真一，高橋陽介，長田敏行（東京大・院・理）

14:30　2pI07　タバコのサイクリン D cDNA の単離と発現解析
関根政実，城野健一，河内宏[1]，新名惇彦（[1]農水省・生物研，奈良先端大・バイオサイエンス）

14:45　2pI08　DNA 複製関連遺伝子の細胞周期依存的発現
伊藤正樹，横井雅幸[1]，花岡文雄[1]，渡邊昭（東京大・院・理・生物科学，[1]大阪大・細生工センター）

15:00　休　憩

15:15　2pI09　ヘパリンカラムによるリボソーム凝集活性物質の抽出ならびにこれをコードする遺伝子の解析
伊東庸子，Eric Davies[1]，阿部俊之助（愛媛大・農・生物資源，[1]North Carolina 州大・植物）

15:30　2pI10　ヘパリンアフィニティーカラムを用いた，植物細胞よりの細胞骨格画分タンパク質の分離
阿部俊之助，Eric Davies[1]（愛媛大・農・生物資源，[1]North Carolina 州大・植物）

15:45　2pI11　植物の細胞骨格画分タンパク質の分離・精製と 49 kDa タンパク質の構造解析
柴田幸一，岡本知明，阿部俊之助，Eric Davies[1]（愛媛大・農・生物資源，[1]North Carolina 州大・植物）

16:00　2pI12　植物の細胞骨格タンパク質の分離・精製と 54.7 kDa タンパク質の構造解析
岡本知明，柴田幸一，阿部俊之助，Eric Davies[1]（愛媛大・農・生物資源，[1]North Carolina 州大・植物）

第3日（3月29日）午前

8:30　3aI01　タバコ懸濁培養細胞 BY-2 を材料とした *in vitro* 微小管重合系
熊谷史，馳沢盛一郎，長田敏行（東京大・理学系研究科）

8:45　3aI02　細胞質表層微小管の配向変化サイクルにおよぼすサイトカラシン D の効果
武居郁，柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

9:00　3aI03　高等植物の核膜表面に存在する MTOC 様複合体を構成するタンパク質について
中山貴照，水野孝一（大阪大・理・生物）

9:15　3aI04　多糖合成酵素複合体構成タンパクの性質と機能
鈴木俊洋，水野孝一（大阪大・理・生物）

9:30　休　憩

9:45　3aI05　ニンジン β チューブリン・アイソタイプ
岡村昭治，曽根原和彦，内藤敬子，大川裕美，倉盛志生子（富山医薬大・薬）

I 会場　細胞形態・加齢

10:00　3aI06　A plasma membrane-associated actin cytoskeleton in tobacco BY-2 cells: evidence for interaction with microtubules

David Collings, Hiroh Shibaoka (Dept. Biology, Fac. Science, Osaka Univ.)

10:15　3aI07　アクチン細胞骨格の構築に及ぼす RGD, RYD ペプチドの影響

柳政和，高木慎吾，水野孝一，永井玲子（大阪大・理・生物）

10:30　3aI08　ジャガイモ植物の感染応答におけるアクチンとその関連タンパク質の関与について

竹本大吾，古瀬勝美[1]，道家紀志，川北一人（名古屋大・農・植物病理，[1]クミアイ化学）

J 会場　成長制御

第 1 日（3 月27日）午前

9:30　1aJ01　サイトカイニンにより抑制されるキュウリの“noncoding RNA”とアラビドプシスの類似 RNA との比較
寺本陽彦，遠山知子[1]，竹葉剛，辻英夫[2]（京都府大・応用生物，[1]京都大・理・植物，[2]神戸女子大・生物）

9:45　1aJ02　サイトカイニン処理後短時間で発現が抑制される転写活性化因子の構造
遠山知子，寺本陽彦[1]，岡田清孝，竹葉剛[1]（京都大・理・植物，[1]京都府大・応用生物）

10:00　1aJ03　シロイヌナズナのサイトカイニン高感受性変異体の遺伝学的解析
久保稔，柿本辰男（大阪大・理・生物）

10:15　1aJ04　過剰発現によりシロイヌナズナのカルスにサイトカイニン非依存性を与える遺伝子 *CKI1*
柿本辰男（大阪大・理・生物）

10:30　休　憩

10:45　1aJ05　サイトカイニンにより発現誘導される遺伝子群の単離と同定
柳瑞帆，高橋陽介，長田敏行（東京大・院・理・生物科学）

11:00　1aJ06　イネカルスのアブシジン酸 (ABA) 誘導タンパク質 (24.5 kD) の解析
田中香里，藤野介延，浅野哲基，古谷ちひろ，徐正君[1]，喜久田嘉郎（北海道大・農・作物生理，[1]秋田農短大・生物工学研究所）

11:15　1aJ07　アブシジン酸応答性遺伝子発現制御に関わる突然変異体の分離
山本（豊田）章子，谷直之，浅田美穂子，小嶋純江，服部束穂（三重大・遺伝子）

11:30　1aJ08　アズキ上胚軸切片においてジベレリンにより発現量の変化する遺伝子の解析
金田剛史，柿本辰男，柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

第 1 日（3 月27日）午後

13:00　1pJ01　オーキシン誘導性遺伝子 *ARG1* と *ARG2* のプロモーター領域の単離と解析
高見雄二，鷲尾健司，山本興太朗（北海道大・地球環境・環境分子生物）

13:15　1pJ02　ヤエナリ下胚軸切片におけるオーキシン誘導性遺伝子の cDNA クローニング
橋本博支，山本興太朗（北海道大・地球環境・環境分子生物）

13:30　1pJ03　シロイヌナズナにおける NPA 高感受性突然変異体 *pis1* の解析
藤田浩徳，庄野邦彦（東京大・教養・生命）

13:45　1pJ04　タバコプロトプラストにオーキシン非依存性を与える遺伝子 *axi1* の新規クローニングと機能解析
藤巻秀，真野弘範，馳澤盛一郎[1]，Richard Walden[2]，林浩昭，茅野充男（東京大・院・農学生命科学，[1]東京大・院・理，[2]Max Planck Institut für Züchtungsforschung）

14:00　1pJ05　イネ科植物の発芽におけるジベレリン生合成機能の発現解析（2）オオムギの内生ジベレリン
小林正智，五味雅裕[1]，上松淳一[1]，崔用華，桜井成（理研，[1]キリンビール）

14:15　1pJ06　カボチャ (*Cucurbita maxima* L.) のカウレン合成酵素 B の cDNA クローニング
山口信次郎[1,2]，斎藤臣雄[2,3]，安部弘[3]，室伏旭[1]，山根久和[4]，神谷勇治[2]（[1]東京大・応用生命化学，[2]理研・フロンティア，[3]理研，[4]東京大・生物生産工学研究センター）

14:30　1pJ07　*ent*-Kaurene synthase A and seed development
Tahar Ait-Ali, Stephen M. Swain, Yuji Kamiya (Plant Hormone Function, Frontier Research Program, RIKEN)

14:45　1pJ08　トマトカウレン合成酵素 A 遺伝子の cDNA クローニングと光による発現調節
今井亮三，梁泳烈，Tahar Ait-Ali，川出洋，神谷勇治（理研・国際フロンティア）

15:00　休　憩

15:15　1pJ09　イネのジベレリン20位酸化酵素の cDNA クローニング
豊増知伸[1,3]，川出洋[1]，関本弘之[1]，Camila von Numers[1]，Andrew L. Phillips[2]，Peter Hedden[2]，神谷勇治[1]（[1]理研フロンティア，[2]Long Ashton Research Station，[3]山形大・農）

15:30　1pJ10　エドヒガン系のサクラにおける，立性及びしだれ性枝の内生ジベレリンについて
小林正智，吉沢恭子，小林真由美[1]，桜井成，中村輝子[1]（理研，[1]日本女子大・理）

J 会場　成長制御

15:45　1pJ11　エドヒガン系サクラの GA_3 処理枝に発現する負の重力屈性と成長応力
吉田正人，奥山剛，山本浩之，中村輝子[1]（名古屋大・農，[1]日本女子大・理）

16:00　1pJ12　イネ葉鞘伸長を指標としたジベレリン応答の解析
伊藤伸一[1]，松岡信[1,2]，山口淳二[1,2]（[1]名古屋大・農・生化学制御，[2]名古屋大・生物分子応答研究センター）

16:15　1pJ13　ジベレリンによる浮稲節間の伸長促進と浸透調節
東哲司[1]，上野覚士[2]，内田直次[1,2]，安田武司[1,2]（[1]神戸大・自然科学，[2]神戸大・農）

16:30　1pJ14　イネ幼苗の伸長におけるエチレンとジベレリンの関係
古川浩二[1,2]，今井亮三[2]，山口信次郎[2,3]，豊増知伸[4]，梁泳烈[2]，桜井成[1,5]，高橋信孝[2]，神谷勇治[2]（[1]埼玉大・院・理工，[2]理研・国際フロンティア，[3]東京大・応用生命化学，[4]山形大・農，[5]理研・植物生活環制御）

16:45　1pJ15　カーネーション花弁由来 ACC 酸化酵素の ACBC による阻害
小杉祐介，小山田奈穂子，吉岡俊人，佐藤茂，小野寺英一[1]，山田有子[1]（東北大・農・環境適応，[1]宮城県園試）

17:00　1pJ16　ヤエナリ胚軸から精製されたエチレン生成阻害タンパク質は膨圧応答タンパク質と高い相同性をもつ
陳暖，酒井慎吾（筑波大・生物科学）

第 2 日（3 月28日）午前

8:30　2aJ01　ササゲ伸長胚軸切片のストレス応答における IAA および H^+ ポンプの役割
北村さやか，水野暁子[1]，加藤潔（名古屋大・人間情報，[1]日本福祉大）

8:45　2aJ02　ササゲ伸長胚軸切片の浸透ストレス応答における生理的壁特性の変化
北村さやか，水野暁子[1]，加藤潔（名古屋大・人間情報，[1]日本福祉大）

9:00　2aJ03　水ストレス条件下でのコムギ幼葉鞘の成長抑制
若林和幸，保尊隆享，神阪盛一郎（大阪市大・理・生物）

9:15　2aJ04　キウリ芽生えにおける脂質転移タンパク質の誘導
小曽根睦，竹内裕一，榊剛，増田税[1]，山田晃弘（北海道東海大・工・生物工学，[1]日本たばこ産業・生命研）

9:30　2aJ05　トランスジェニックアラビドプシスにおけるオーキシンの極性移動と花形成
岡真理子，上田純一，宮本健助，岡田清孝[1]，Bob Masterson[2]（大阪府大・総合科学，[1]京都大・理，[2]Max-Planck-Institut）

9:45　2aJ06　IAA 処理で誘導されるトウモロコシ主根切片の *in vitro* タンパク質燐酸化
加藤良一，高綱抄智子，和田剛，成原ゆみ（山形大・教育・生物）

10:00　2aJ07　トウモロコシ根端切片の拡散性 IAA の動向に及ぼすカルシウムイオンや pH の影響
鈴木隆，高橋宏之（山形大・教育）

10:15　2aJ08　光屈性天然分子の膜結合型オーキシン結合タンパク質に対する効果
相澤裕子，穴井豊昭，小瀬村誠治[1]，山村庄亮[1]，長谷川宏司（筑波大・応生化，[1]慶応大・理工）

10:30　休　憩

10:45　2aJ09　低 pH により誘導されるレタス根毛形成における植物ホルモンの役割の解析
井上康則，渡部忠久（東京理大・理工・応生）

11:00　2aJ10　頂芽切除後の腋芽で発現する遺伝子の解析
上口（田中）美弥子，円由香，森仁志（名古屋大・農・生化学制御）

11:15　2aJ11　頂芽切除後に腋芽で発現が減少する cDNA の単離
円由香，上口（田中）美弥子，森仁志（名古屋大・農・生化学制御）

11:30　2aJ12　頂芽切除後の腋芽の細胞周期に関する研究
志水佐江，上口（田中）美弥子，森仁志（名古屋大・農・生化学制御）

J 会場　成長制御

第 2 日（3 月28日）午後

13:00　2pJ01　モモ茎頂部より単離したオーキシン結合蛋白質 (ABP19) の組織特異性および細胞内局在性
大宮あけみ（農水省・果樹試）

13:15　2pJ02　免疫学的手法によるダイズ (*Glycine max*) オーキシン結合蛋白質の検出
堀智子[1]，石川文雄[2]，小林末邦子[3]，中山克己[1]，岡田光正[1]（[1]東邦大・理・生物分子，[2]東邦大・医・免疫，[3]東邦大・理・生物）

13:30　2pJ03　膜結合型オーキシン結合タンパク質 (ABP1) の構造と機能
穴井豊昭，宮田百，長谷川宏司（筑波大・応生化）

13:45　2pJ04　オーキシン応答遺伝子 *arcA* の産物と相互作用するタンパク質の探索
石田さらみ，高橋陽介，長田敏行（東京大・院・理・生物科学）

14:00　2pJ05　クロモサポニンⅠによるレタス根の成長促進作用と細胞壁伸展性の増大
鶴見誠二，渡辺竜五[1]，神阪盛一郎[1]（神戸大・自然科学，[1]大阪市大・理・生物）

14:15　2pJ06　成長促進物質レビジモイドの生理作用
山田小須弥[1]，穴井豊昭[2]，富田-横谷香織[2]，長谷川宏司[2,3]（[1]神戸大・自然科学，[2]筑波大・応用生物化学，[3]植物情報物質研究センター）

14:30　2pJ07　シロイヌナズナ種皮が分泌するレビジモイド様物質の成長促進効果
後藤伸治，山藤誠司，長谷川宏司[1]（宮城教育大・生物，[1]筑波大・応用生物化学）

14:45　2pJ08　植物にも松果体ホルモンであるメラトニンは存在する
服部淳彦，右高宙[1]，伊藤正則[2]，飯郷雅之，大谷-金子律子，原正幸，高橋秀仁，鈴木卓朗（聖マリ医大・1解，[2]聖マリ医大・化学，[1]日大・農獣医・畜産）

15:00　休　憩

15:15　2pJ09　緑化ヒマワリ芽生えの光によって誘導される成長抑制物質
加藤潤[1]，相澤裕子[1]，小瀬村誠治[2]，山村庄亮[2]，穴井豊昭[1]，富田-横谷香織[1]，長谷川宏司[1,3]（[1]筑波大・応生，[2]慶応大・理工・化学，[3]植物情報物質研究センター）

15:30　2pJ10　スイカの発芽種子から放出されるアレロパシー物質
九島みどり，小瀬村誠治[1]，山村庄亮[1]，長谷川宏司[2]（植物情報物質研究センター，[1]慶応大・理工・化学，[2]筑波大・応生化）

15:45　2pJ11　Altersolanol 類の植物細胞生育阻害作用
原口博行，横山和美，山本洋一，倉田理衣奈，岡村伸幸[1]，八木晟[1]（福山大・工，[1]薬）

16:00　2pJ12　ニンジン不定胚形成において高細胞密度時に蓄積する低分子性阻害物質の性質について
小林俊弘，東克己，鎌田博（筑波大・生物）

第 3 日（3 月29日）午前

8:30　3aJ01　エンドウのブラシノステロイド生合成突然変異体 *lkb* の生長のブラシノステロイドによる正常化
横田孝雄，野村崇人，斉藤昭彦，竹内安智[1]，James B. Reid[2]（帝京大・理工・バイオサイエンス，[1]宇都宮大・雑草科学センター，[2]タスマニア大）

8:45　3aJ02　ブラシノライドによる液胞膜 ATPase の活性化による伸長生長の促進
冨永るみ，櫻井直樹（広島大・総合科学）

9:00　3aJ03　ファレノプシス（ラン科）におけるノルエピネフィリンの局在性の検討
内山寛，邱日英[1]，池田和正，佐藤嘉兵，米田和夫[1]，小山鐵夫（日本大・農獣医・応生，[1]日本大・農）

9:15　3aJ04　ファレノプシス（ラン科）の花成に伴うノルエピネフィリンの代謝に関する検討
池田和正，邱日英[1]，内山寛，佐藤嘉兵，米田和夫[1]（日本大・農獣医・応生，[1]日本大・農）

9:30　休　憩

9:45　3aJ05　アサガオの貧栄養開花及びサイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼに対する安息香酸誘導体の影響
藤波周，篠崎真輝（京都大・農・応植）

10:00　3aJ06　アサガオ子葉篩管液の花成制御活性

J 会場　成長制御

近藤正敏，重田千晶，谷本靜史（佐賀大・農・遺伝子工学）

10:15　3aJ07　Cloning of the cDNA encoding a novel PR-like protein induced by thiocarbamate during early flowering phase in *Asparagus* seedlings

Dennis Yeo[1,2], Tomoko Abe[1], Hiroshi Abe[1], Akira Sakurai[1], Shigeo Yoshida[1] ([1]RIKEN, [2]Graduate School of Sci. and Eng., Saitama University)

10:30　3aJ08　ミズワラビ (*Ceratopteris richardii*) の性の分化の造精器誘導物質と光照射による制御について

小坂橋律子，渡辺昭，L. H. Hickok[1]，山根久和[2]，山口五十麿[3]，室伏旭[3]（東京大・院・理・生物科学，[2]生物生産センター，[3]東京大・院・農・応生化，[1]Tenessee 大）

10:45　3aJ09　ミカヅキモの有性分裂を誘起する情報伝達物質の解析

福本亮平[1]，関本弘之，藤伊正（筑波大・生物，[1]理研 FRP）

座 長 表

	A会場	B会場	C会場	D会場	E会場	F会場	G会場	H会場	I会場	J会場	S会場
第1日	1aA01-04 上田純一	1aB01-04 加藤　栄	1aC01-04 小池裕幸	1aD01-04 西田生郎	1aE01-04 高倍昭洋	1aF01-04 小関良宏	1aG01-04 奥山英登志	1aH01-04 内藤　哲	1aI01-04 林　隆久	1aJ01-04 服部束穂	1aS1-3 佐藤公行・小川晃男
	1aA05-09 柴田大輔	1aB05-08 伊藤　繁	1aC05-08 大森正之	1aD05-08 児玉浩明	1aE05-08 林　秀則	1aF05-08 山谷知行	1aG05-09 菊山宗弘	1aH05-09 福田裕穂	1aI05-08 保尊隆享	1aJ05-08 柿本辰男	1aS4-6 宮地重遠
	1pA01-04 尼子克己	1pB01-04 岡山繁樹	1pC01-04 福澤秀哉	1pD01-04 武田幸作	1pE01-04 武藤尚志	1pF01-04 射場　厚	1pG01-04 井上　弘	1pH01-04 眞鍋勝司	1pI01-04 井上雅裕	1pJ01-04 神谷勇治	1aS7 松永　是
	1pA05-08 長谷俊治	1pB05-08 榎並　勲	1pC05-08 白岩善博	1pD05-08 大橋祐子	1pE05-07 佐藤直樹	1pF05-08 和田敬四郎	1pG05-07 黒岩常祥	1pH05-08 和田正三	1pI05-08 櫻井直樹	1pJ05-08 山本興太郎	1pS1-3 柴岡弘郎
	1pA09-12 平野博之	1pB09-12 佐藤敏生	1pC09-12 小川晃男	1pD09-12 白石友紀	1pE08-11 高倍鉄子	1pF09-12 中川　強	1pG08-11 杉山達夫	1pH09-12 片岡博尚	1pI09-12 高浜有明夫	1pJ09-12 神阪盛一郎	1pS4-6 町田泰則
	1pA13-16 平　知明	1pB13-16 小林善親	1pC13-16 荒田博行	1pD13-17 鈴木　馨	1pE12-15 小林裕和	1pF13-17 前島正義	1pG12-16 西村幹夫	1pH13-17 飯野盛利	1pI13-17 伊東隆夫	1pJ13-16 中村輝子	
第2日	2aA01-04 八木史郎	2aB01-04 加藤哲也	2aC01-04 和田野晃	2aD01-04 山本直樹	2aE01-04 重岡　成	2aF01-04 森　仁志	2aG01-04 新免輝男	2aH01-04 鎌田　博	2aI01-04 南原英司	2aJ01-04 山本良一	2aS1-2 長谷あきら
	2aA05-08 町田泰則	2aB05-08 大岡宏造	2aC05-08 桜井英博	2aD05-08 仲本　準	2aE05-08 松本英明	2aF05-08 豊島喜則	2aG05-08 笠毛邦弘	2aH05-08 寺本　進	2aI05-08 中川直樹	2aJ05-08 井上康則	2aS3-4 渡辺正勝
	2aA09-12 篠崎一雄	2aB09-12 松浦克美	2aC09-12 池内昌彦	2aD09-12 松尾友明	2aE09-12 西澤直子	2aF09-12 岡　穆宏	2aG09-12 松岡　健	2aH09-13 鳥山欽哉	2aI09-13 水野孝一	2aJ09-12 山口淳二	2aS5 大森正之
	2pA01-04 近藤孝男	2pB01-04 徳富光恵	2pC01-04 三室　守	2pD01-04 手塚修文	2pE01-04 藤原　徹	2pF01-04 中村研三	2pG01-04 三村徹郎	2pH01-04 石黒澄衛	2pI01-04 長田敏行	2pJ01-04 酒井慎吾	2pS1-2 伊東隆夫
	2pA05-08 庄野邦彦	2pB05-08 田中　歩	2pC05-08 松原　央	2pD05-08 蓮沼仰嗣	2pE05-07 森　敏	2pF05-08 山崎健一	2pG05-07 西村光雄	2pH05-08 荒木　崇	2pI05-08 浅田哲弘	2pJ05-08 山根久和	2pS3 保尊隆享
	2pA09-13 川北一人	2pB09-12 吉田茂男	2pC09-12 塩井祐三	2pD09-13 伊藤正樹	2pE08-11 井上和仁	2pF09-12 山田恭司	2pG08-11 高橋正昭	2pH09-12 岡田清孝	2pI09-12 高木慎吾	2pJ09-12 鶴見誠二	2pS4 渡辺　昭
第3日	3aA01-04 中島秀明	3aB01-04 遠藤　剛	3aC01-04 小林正美	3aD01-04 門田明雄	3aE01-04 渡辺　昭	3aF01-04 林田信明	3aG01-04 柴田　均	3aH01-04 杉山宗隆	3aI01-04 園部誠司	3aJ01-04 篠崎真輝	3aS1-3 上田純一
		3aB05-08 嶋田敬三	3aC05-07 田畑哲之	3aD05-08 多田幹郎	3aE05-08 浅田浩二	3aF05-08 林　浩昭		3aH05-08 田坂昌生	3aI05-08 馳澤盛一郎	3aJ05-09 横田孝雄	3aS4-6 柴田大輔
		3aB09-12 藤田祐一	3aC08-10 小俣達男	3aD09-13 竹田淳子		3aF09-11 森川弘道		3aH09-12 松岡　信			

受賞講演

日本植物生理学会奨励賞
日本植物生理学会論文賞

3月28日（木）（第2日）午後4時30分（稲盛会館）

2pS5

日本植物生理学会奨励賞

タバコ培養細胞ＢＹ－２における植物細胞骨格実験系の開発

園部誠司（姫路工大・理・生命科学）

私たちは植物細胞骨格系タンパク質の同定を行うためのいくつかの実験系をタバコ培養細胞ＢＹ－２を用いて開発した。

1. ミニプロトプラストを用いた細胞骨格タンパク質の単離・同定

植物細胞を材料として細胞骨格タンパク質を単離する際、細胞壁・液胞はその障害となるが、ミニプロトプラストを用いることによりそれらを除くことができた。ミニプロトプラスト抽出物中ではチューブリン・アクチンが効率よく重合し、同時にこれらの重合体にはそれらの制御タンパク質が結合していた。この系を用いてこれまでに、チューブリン・アクチン・65 kDa MAP が単離・同定された。その他の制御タンパク質も同様の方法で同定されつつある。

2. モデル系を用いた解析

表層微小管は植物細胞特有の構造体で、細胞の形態形成に重要な役割を果たしていると考えられているが、表層微小管の構築機構についてはほとんどわかっていない。そこで、細胞膜ゴーストとミニプロトプラスト抽出物を用いた再構築系を作り、細胞膜と微小管の相互作用を解析した。また、表層微小管構築に関与する細胞骨格タンパク質を同定するために、表層微小管の単離を行った。　単離表層微小管を精製することにより、4種類の微小管結合タンパク質を見出した。

2pS6

日本植物生理学会奨励賞

光合成光化学系II複合体の構造と機能の解析

徳富（宮尾）光恵　（農水省・生物研）

光合成光化学系II (PSII) 複合体は、光エネルギーを酸化還元エネルギーに変換し、その酸化力で水を酸化して分子状酸素を生成する。我々が本研究を開始した時点では、PSII複合体の蛋白質成分のうち、光を捕捉する集光性色素蛋白質と光化学反応を行うコア蛋白質については解析が進められていたが、複数の蛋白質成分が未同定であり、また複合体全体の分子構築の概要も未解明であった。特にその機能の中心である酸素発生反応は失活しやすく、また反応部位が閉じたチラコイド膜の内側に位置しているため、関与する蛋白質成分の解析は困難であった。1981年になって、チラコイド膜の内側が溶液相に露出したPSIIのみを含む膜断片(PSII膜)の調製法が開発され、PSIIの生化学解析が容易となった。我々はこれまでに、PSII膜を用いて、酸素発生反応における表在性蛋白質の機能の解析、ならびに酸素発生反応を触媒するMnクラスターの再構成機構の解析を行ってきた。また、内外で得られた知見をもとに、PSII複合体の分子構築モデルを提唱してきた。現在は、PSIIの光化学反応中心蛋白質の光依存的な代謝回転の分子機構に関する研究を行い、反応中心蛋白質はPSII内部で生成した活性酸素の作用で選択的に切断されることを明らかにした。

2pS7

日本植物生理学会論文賞

カラタチの果実におけるインドールアセトアミドを経由するオーキシン生合成経路の存在

川口正代司、藤岡昭三[1]、桜井成[1]、八巻良和[2]、庄野邦彦
(東大・教養・生命、[1]理化学研究所、[2]東大・農・果樹園)

受賞論文

Masayoshi Kawaguchi, Shozo Fujioka, Akira Sakurai, Yoshikazu T. Yamaki and Kunihiko Syono
Presence of a Pathway for the Biosynthesis of Auxin via Indole-3-Acetamide in Trifoliata Orange.
Plant and Cell Physiol. 34: 121-128.

植物におけるオーキシンの生合成経路の実体は、その生長・分化に及ぼす重要性にもかかわらず現在もなお不明である。我々は、*Agrobacterium*等の植物病原細菌が有し、腫瘍形成に関与するオーキシン生合成経路(L-Trp→インドールアセトアミド[IAM]→IAA)を被子植物において探索してきた。そして、カラタチの幼果において顕著なIAMヒドロラーゼ活性(IAM→IAA)が存在することをつきとめた。そこでクラウンゴールをモデル系とし、TrpモノオキシゲナーゼIAA活性(L-Trp→IAM)の検出系を開発し、カラタチの幼果に適用した。その結果、L-TrpからIAMへの変換がGC/MSによる代謝産物の同定とトレース実験によって明確に捉えられた。また２種のオーキシン生合成活性は果実形成のごく初期に検出されるという活性発現の一過性が認められた。これは、植物で器官形成特異的に新奇なIAA生合成経路が出現することを示した初めてのものである。

S会場（稲盛会館）：シンポジウム

Ⅰ. Improvement of Proteins Involved in Photosynthesis and Regulation of Expression of Their Genes ……第1日午前 (9:30～)
(NEDO/RITE Super-Rubisco Program 共催)

Ⅱ. 器官・組織・細胞形態の構築制御 …… 第1日午後 (13:00～)
（重点領域研究「植物ホルモン機構」「植物器官プラン」共催）

Ⅲ. The Use of Mutants in the Study of Photoreception and Signal Transduction in Plants and Microorganisms …… 第2日午前 (9:00～)

Ⅳ. Cellulose Biosynthesis－There is Light at the End of the Tunnel! …… 第2日午後 (13:00～)

Ⅴ. ジャスモン酸：生理学から分子生物学へ …… 第3日午前 (8:30～)

シンポジウムⅠ

開始時間	講演番号
9:30	Opening
9:35	1aS1
10:05	1aS2
10:30	1aS3
10:55	1aS4
11:20	1aS5
11:45	1aS6
12:10	1aS7

シンポジウムⅡ

開始時間	講演番号
13:00	はじめに
13:10	1pS1
13:45	1pS2
14:20	1pS3
15:15	1pS4
15:50	1pS5
16:25	1pS6

シンポジウムⅢ

開始時間	講演番号
9:00	2aS1
9:30	2aS2
10:00	2aS3
10:30	2aS4
11:00	2aS5

シンポジウムⅣ

開始時間	講演番号
13:00	Opening
13:05	2pS1
13:45	2pS2
14:25	2pS3
15:05	2pS4

シンポジウムⅤ

開始時間	講演番号
8:30	はじめに
8:45	3aS1
9:15	3aS2
9:45	3aS3
10:15	3aS4
10:45	3aS5
11:15	3aS6

1aS1

A STRATEGY TO CREAT SUPER-RUBISCO: STUDY ON STRUCTURE-FUNCTION RELATIONSHIP IN FALLOVER OF RUBISCO

Akiho YOKOTA[1] and Yasushi KAI[2] ([1]RITE, [2]Osaka Univ.)

RuBisCO is the most abundant enzyme with the worst enzymatic properties in the nature. Accordingly, photosynthesis is strongly limited by this enzyme, and improvement of the enzyme has been an important scientific target. There may be three ways to accomplished the improvement; protein engineering of the specific active site residues, time-machine engineering, and ramdom mutation. It has been proposed that RuBisCO was endowed with fallover, a gradual decrease of k_{cat} during reaction, in the course of the evolution of the enzyme to adapt low CO_2 and high O_2 concentrations in the present atmosphere. Lys21 and Lys305 in the large subunits were identified as the residues involved in the protein conformation change observed during fallover. The amino acid residues corresponding to these sites were changed into other amino acids in RuBisCOs that did not show fallover. Change of arginine and proline at these sites in RuBisCO of *Chromatium vinosum* into lysine caused an increase in k_{cat} without significant decrease in the relative specificity. The two lysine residues were also examined with spinach RuBisCO by X-ray diffraction at 1.8 Å resolution. We found that spinach RuBisCO contained two different small subunits which caused the enzyme to have the D_2 symmetry. The lysine residues located near the catalytic sites to influence the catalysis. Supported partly by PEC/MITI.

1aS2

FUNCTIONAL ANALYSIS OF PEP CARBOXYLASE BY SITE-DIRECTED MUTAGENESIS AND STRUCTURAL FEATURES OF A HEAT-STABLE ENZYME

Katsura IZUI; Dept. Agr. Biol., Fac. Agr., Kyoto Univ., Kyoto 606-01

Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) is composed of 4 identical subunits with a molecular mass of about 100 kDa. Alignment of about 20 amino acid sequences of PEPC from various mesophilic organisms revealed the invariant residues to be 132, including 2 His residues. (1) Both His residues (579 and 138 in *E. coli* PEPC) were shown to be involved in the catalytic activity. Replacement of His-138 or conserved Arg-587 abolished the authentic catalytic activity but revealed the HCO_3^- -dependent PEP hydrolytic activity, which is inherent in maize PEPC. (2) Desensitization to the allosteric feedback inhibitor, malate or aspartate, could be provided by replacement of Lys-620 to Ser with *E. coli* enzyme. (3) When Ser-15 of maize C4-type PEPC, which is known to be phosphorylated under light conditions, was replaced by Asp, the sensitivity to malate was decreased similarly to the phosphorylated wild-type enzyme. (4) Analysis of the gene from *Thermus* sp., an extreme thermophile, showed that 18 residues were not conserved among the above-mentioned 132 invariant residues and that Cys is completely lacking.

1aS3

A POWERFUL STRATEGY WITH *IN VITRO* RANDOM MUTAGENESIS OF GENES AND SUBSEQUENT SELECTION OF THEIR TRANSFORMANTS: ITS APPLICATION TO CONFERRING PHOTO-TOLERANCE ON D1 PROTEIN

Hirokazu KOBAYASHI[1,2], Yoshihiro NARUSAKA[2], and Kimiyuki SATOH[2,3]

[1]Grad. Sch. Nurt. Envir. Sci., Univ. Shizuoka, 52-1 Yada, Shizuoka 422, [2]Natl. Inst. Basic Biol., Okazaki 444, and [3]Fac. Sci., Okayama Univ., Okayama 700

We have the very limited information of relationship between primary structures of proteins and their functions, leading us to the situation in which it is almost impossible to design how to change the primary structures to confer desirable properties on functional proteins including enzymes. To overcome this limitation of experimental design in protein engineering, we have developed a strategy consisting of the following steps: (a) *in vitro* random mutagenesis of a gene, (b) introduction of mutagenized gene into an organism for a selection, (c) screening of the transformed cells under a ceratin stressed condition, and (d) analysis of the mutagenized gene in the selected transformants.

We have chosen the D1 protein of photosystem II reaction center generally recognized as the most light-sensitive component in photosystems to develop the methodology. More than 20 distinct cyanobacterial mutants resistant to higher intensities of light have been screened from a population of transformants over 500,000, which is calculated to satisfactory cover all possible mutations of nucleotide substitution at two individual positions.

1aS4

CYANOBACTERIAL MUTANTS IMPAIRED IN ABILITY TO GROW UNDER CHANGING CO_2 CONCENTRATION

Michal RONEN-TARAZI, David BONFIL, Judy LIEMAN-HURWITZ, and Aaron KAPLAN

Dept. Botany, Hebrew Univ., 91904 Jerusalem, Israel

The rising atmospheric CO_2 concentration is a matter of growing concern. Yet, very little is know on the effect of CO_2 concentration on gene expression in photosynthetic organisms. Mutants of *Synechococcus* sp. PCC 7942 impaired in the ability to respond to changing ambient CO_2 were isolated and used to identify relevant genes and mode of their regulation. Mutants defective in HCO_3^- uptake were obtained with the aid of an inactivation library. The insertion of a foreign DNA resulted in alterations in the relevant genomic regions leading to the observed phenotype. Some of these mutants are very sensitive to the presence of K^+ ions, in a pH dependent manner few mM of KCl inhibited their photosynthetic capacity. Other mutants are sensitive to the presence of oxygen which severely inhibited photosynthesis. Some of the mutants contain defective carboxysomes and the cells of one of them are much larger than those of the wild type. We shall present some of our recent studies on these mutants.

1aS5

HOW IS THE EXPRESSION OF RIBULOSE BISPHOSPHATE CARBOXYLASE CONTROLLED?

Lawrence BOGORAD, Steven R. RODERMEL, Jean HALEY, and Marc PURCELL
Dept. Mol. Cell. Biol., Harvard Univ., Cambridge, MA 02138, USA

The chloroplast enzyme Rubisco (ribulose bisphosphate carboxylase) is a complex of eight small (SS) and eight large (LS) polypeptide subunits. The SS are encoded by nuclear genes and the LS by a chloroplast gene. 1. How is the production of the small polypeptide subunits in the cytoplasm (from mRNA synthesized in the nucleus) integrated with the accumulation of LS encoded and made in another cellular compartment--the plastid? Studies of tobacco plants transformed with an antisense gene for *rbcS* have shown that the availability of SS, directly or indirectly, affects the recruitment of chloroplast ribosomes by LS mRNA. 2. Rubisco is abundant in the bundle sheath cells (BSC) but is absent from the adjacent mesophyll cells (MC) in maize leaves. Using an *in situ* transient expression assay, we have determined that certain regions of a maize *rbcS* are required for suppressing its expression in MC and that other portions are essential for stimulating its expression in bundle sheath cells. The stimulatory and suppressing activities have been found to be regulated via two different photosignal perception systems.

1aS6

ABOLISH FEEDBACK REPRESSION OF PHOTOSYNTHETIC GENE EXPRESSION BY SUGAR SENSOR MANIPULATION

Jyan-Chyun JANG and Jen SHEEN
Dept. Mol. Biol., Mass. Gen. Hosp.; Dept. Genet., Harvard Med. Sch., Boston, MA 02114, USA

Sugars are central regulatory signals that can trigger a global repression of photosynthetic genes, hence diminish photosynthesis yield in higher plants. Using a physiological single-cell system, we have demonstrated that this feedback regulation of photosynthetic genes by sugars is mediated through hexokinase as a sugar sensor. Using a reverse genetic approach, we have created transgenic plants that are sugar insensitive by expressing antisense hexokinase genes, or sugar hypersensitive by overexpressing hexokinase genes. We show that the sugar insensitive plants are no longer subject to sugar repression and thrive under conditions that usually limit plant growth due to the feedback inhibition.

1aS7

MARINE MICROALGAE AS GENE RESOURCES

Hisato IKEMOTO, Shigetoh MIYACHI; Marine Biotechnology Institute, Kamaishi, Iwate 026

Marine microalgae play an important role in the primary production in the ocean, but their diversity has not been well investigated. We have carried out the survey of microalgae in the coral reefs and the open sea in the western Pacific Ocean with the supports of RITE and NEDO programs. Studies on the marine isolates have shown the presence of several types of prokaryotes and primitive forms of eukaryotes which are morphologically featureless and minute in size. Varieties of yellow-colored algae with high nutritional values, autotrophic/heterotrophic behaviors or blooming capability suggested their significant contributions to the marine food chain, while many of green isolates were shown to grow under extreme environments which were very different from natural conditions.

1pS1

植物微小管の機能制御とキネシン様モーター蛋白質

浅田哲弘 （大阪大学理学部生物）

伸長や分裂を含めた植物細胞に起こる大きな形態変化の過程を理解するためには、植物細胞が独自にもつ微小管システムの構築を制御する機構の解明が重要である。私達は、植物細胞に特有の細胞質分裂装置である隔膜形成体の微小管構築に焦点を当てた研究により、隔膜形成体微小管の編成には、微小管を動かす力発生の仕組みが関与すること、隔膜形成体には、微小管モーター活性を有し、キネシン様部分アミノ酸配列を含む125kDaポリペプチド（Tobacco BY-2 Kinesin-Related Polypeptide of 125kDa: TKRP125）が付随することを示してきた。本シンポジウムでは、TKRP125の分子構造、機能発現に関する新しい知見を中心に紹介する。

TKRP125cDNAのクローニング、全配列決定を行なった結果、TKRP125は、N末端側にキネシン様モータードメインをもち、C末端側に独自の配列をもつキネシンスーパーファミリーの新しいメンバーであることが明らかになった。TKRP125モータードメインの特異領域を認識する抗ペプチド抗体を膜透過性細胞モデルに導入すると、隔膜形成体微小管の滑べり運動が阻害されることから、TKRP125のモーター活性が機能的な微小管システムの編成に寄与することが示唆された。間接蛍光抗体法を用いた観察の結果、TKRP125は、隔膜形成体のみならず前期前微小管束、紡錘体微小管に付随することが明らかになり、植物細胞分裂におけるTKRP125の幅広い役割が推測された。

1pS2

植物の成長制御におけるエンド型キシログルカン転移酵素遺伝子群（EXGTs)の役割

西谷和彦　（鹿児島大・教養・生物）

エンド型キシログルカン転移酵素（Endo-xyloglucan transferase, EXGT）は植物細胞壁ネットワーク構造内のキシログルカン架橋の繋ぎ換え反応を触媒する酵素として最近我々が単離した酵素で、細胞壁構築の制御に重要な役割を演じていると考えられている。EXGTとその類縁タンパク質の構造解析を進めたところ、キシログルカン代謝に関連した多重遺伝子ファミリー(Xyloglucan Related Proteins; XRPs）の存在が明らかとなってきた。そこで、このファミリーに属する遺伝子の生理機能を理解するために、シロイヌナズナ、アズキそれにタバコ培養細胞BY-2に於けるEXGT遺伝子群の発現を解析した。その結果、XRPファミリーの各メンバーは発現組織及び発現時期の点でそれぞれ異なった様式を示すのみならず、植物ホルモンに対する反応性を異にすることが明らかとなった。これらの知見を基にして、植物の成長制御に於けるXRP遺伝子ファミリーの各メンバーの役割分担について考察したい。

1pS3

増殖と細胞構築の接点

長田敏行（東京大・大学院理学系生物科学）

植物細胞の増殖と細胞構築について、我々の知るところは余りにも少ないが、その中では情報の多いタバコ培養細胞 BY-2 について、標題について考察する。BY-2 培養細胞では高度な細胞周期の同調系が完成されているが、この系の M/G_1 の転換期の解析で明らかにされたことは、微小管はフラグモプラストの解体後核膜の表層に形成され、やがて伸長して細胞表層に到達し、一旦は細胞の長軸に平行に並ぶが、直ちにいわゆる表層微小管に相当する構造が分裂面付近より形成される。このことは細胞の形態を規定する表層微小管は分裂の極めて初期から決定される。従って、表層微小管により配向が規定される細胞壁の微繊維により細胞形態が決定されるわけであるから、細胞形態の決定は細胞分裂の直後に規定されることになるが、この角度の考察は今までなされていない。つまり細胞レベルからも細胞の形態に関するアプローチが可能であるわけで、この点を増殖との関りで考察する。

1pS4

植物の器官形成に関与するジンクフィンガー転写調節因子の逆行性遺伝学的機能解析

高辻博志，小林晃，坂本綾子（農水省・生物研）

転写調節因子が分化・形態形成に重要な役割を果たしていることが植物においても知られてきている。ペチュニアからクローニングした一群のジンクフィンガー転写調節因子（EPF ファミリー）の多くは，花の各器官に特異的に発現しており，器官形成を制御する転写調節のネットワークの中で何らかの役割を果たしていることが推測された。そこで形質転換による遺伝子再導入，トランスポゾン挿入による遺伝子破壊等の逆行性遺伝学的手法によって機能解析を試みた。

EPF2-5 遺伝子のプロモーター領域を含む DNA 断片をペチュニアに再導入すると，花序のパターンおよび花器官のアイデンティティ等に著しい変異が観察された。これは EPF2-5 より上位の転写調節因子の働きに影響を与えたと考えられる。これらのことについてさらに解析を深めるため，内在性トランスポゾン dTph1 による挿入変異体を選抜し，表現型の解析を行っている。

1pS5

タバコホメオボックス遺伝子の細胞特異的発現と形態形成との関わり

玉置雅紀、佐藤豊、松岡信（名大・生物分子応答研）

ホメオボックス遺伝子はこれまで多数の動物及び植物から単離されており、これらの形態形成に関与していると考えられている。我々は既にイネから複数のホメオボックス遺伝子を単離し、これらがイネの形態形成に関与していることを明らかにしてきた。さらに我々はタバコからホメオドメイン配列をコードした遺伝子群を単離し、解析を行っている。タバコホメオボックス遺伝子*NTH15*は、in situ hybridizationにより葉原基下部の向軸側の細胞群に特異的に発現する事が確認されている。そこでこの遺伝子の機能を調べる目的で、35Sプロモーター支配下でこの遺伝子をセンス及びアンチセンス方向に発現するコンストラクトを作製しタバコに導入した。その結果、センス方向のRNAを多量に発現させた形質転換タバコは、葉にしわがよる、葉脈上に新たなシュートが形成されるといった異常を示した。このような異常は、イネホメオボックス遺伝子である*OSH1*やトウモロコシの*Kn1*をタバコ内で発現させた場合にも観察されているが、これらに見られた形態異常と完全には一致せず、*NTH15*に固有な形態異常も観察された。一方、アンチセンス方向のRNAを多量発現させたタバコでも葉の形態異常が観察された。正常なタバコの葉では、向軸側に偏った葉身の発生、葉身における柵状組織と海綿柔組織の非対称な発達によって明確な背腹性が観察される。しかしながら、形質転換体では、これらの特徴の一部が消失した葉が形成された。以上の観察から*NTH15*はタバコの形態形成、特に葉の形態形成について重要な役割を担っていると考えられた。

1pS6

根における細胞分化の制御機構

岡田清孝、和田拓治、小山時隆、久保深雪、橘　達彦、宇佐美隆二、石黒澄衛　（京都大学大学院・理学研究科・植物）

我々は、根の形成と組織の分化の機構を制御する遺伝機構を調べるために、様々なシロイヌナズナの突然変異体を分離し、表現型を解析するとともに遺伝子の座位を決定して遺伝子の単離を試みている。

1．hy5突然変異体は胚軸や根の細胞の伸長が抑制され、側根の形成や二次肥大が異常になる。また、根の重力屈性や接触刺激反応が弱くなる。HY5遺伝子を単離したところ、この遺伝子産物はb-ZIPモチィーフを持つことから転写制御因子として根の成長と分化に関わる遺伝子の発現制御に関わっていると思われる。HY5はCOP1などの光形態形成遺伝子産物と核内で相互作用し、光によるシグナルトランスダクション機構を調節していると思われる。

2．我々は、ストレスに依存した根毛形成を支配する突然変異体を分離して調べている。根毛が少なくなるcaprice突然変異体や寒天面上と空中で根毛のパターン変化が異常になるrot突然変異体を分離した。単離したCAPRICE遺伝子は、mybモチィーフを持つ。この遺伝子産物はmycモチィーフを持つTTGと共に根毛形成の初期決定過程を制御すると考えられる。

2aS1

DIFFERENT PHOTOPERCEPTION AND GENE EXPRESSION FOR DIFFERENT PHYTOCHROMES

Masaki FURUYA, Norihito KUNO, Takamichi MURAMATSU[1]; Hitachi Advanced Research Lab, Saitama 350-03, [1]Hitachi Electronics Engineering Co., Shibuya, Tokyo 150

Recent studies using phytochrome (Phy) A- and B-null mutants of *Arabidopsis* revealed that PhyA perceives UV, visible and far-red light of very low fluence and induces photo-*irreversibly* seed germination and *CAB* gene expression, while PhyB regulates photo-*reversibly* these effects upon alternately given red and far-red light of 4 order of magnitude lower fluence than PhyA[1,2] The availablity of these Phy mutants has clarified that the light-responsive ellement of a *CHS* gene mediates UV-A / blue induced transcription in the absence of PhyA and PhyB[3].

Using the same set of Phy null mutants, a newly developed technique of fluorescent differential display was applied to isolate genes, of which expression are specifically regulated by PhyA or/and PhyB. We have obtained few novel candidates that showed specific expression upon PhyA- or PhyB-signals.

Molecular approaches using apropriate mutants will be quite promising in future of various fields.

1) Shinomura, T., Nagatani, A., Hanzawa, H., Kubota, M., Watanabe, M., Furuya, M. (1995) J. Cell. Biochem. Suppl. 19C, Wiley-Liss, Inc.: 2) Hamazato, F., Shinomura, T., Chory, J., Furuya, M. (1995) Plant Cell Physiol. 36, supplement s128; 3) Batschauer, A., Rocholl, M., Kaiser, T., Nagatani, A., Furuya, M., Schäfer, E. (1996) Plant J. 9 (1).

2aS2

TWO DOMINANT PHOTOMORPHOGENIC MUTATIONS OF *Arabidopsis thaliana* IDENTIFIED AS SUPPRESSOR MUTATIONS OF *hy2*.

Byung Chul KIM[1], Moon Soo SOH[1], Bong Joong KANG[1], Masaki FURUYA[2] and HongGil NAM[1,3,*]; [1]Dept. Life Sci., Pohang Univ. Sci. Technol.,Pohang, Kyungbuk, 790-784, S. Korea,[2]Adv. Res. Lab., Hitachi Ltd., Hatoyama, Saitama 350-03,Japan, and [3]Plant Mol. Biol. Biotech. Res. Center, Jinju, Kyungnam, 660-701, S.Korea

By screening suppressor mutants of the *hy2* mutation of *A. thaliana*, we isolated two dominant photomorphogenic mutants, *shy1-1D* and *shy2-1D*, for two genetic loci *SHY1* and *SHY2* (suppressor of *hy2* mutation). Both of these nonallelic, extragenic suppressor mutations of *hy2* are located on the chromosome 1 of the *Arabidopsis* genome. Both mutations suppress the elongated hypocotyl phenotype of *hy2* by light-independent inhibition of hypocotyl growth as well as by increasing the effectiveness of light inhibition of hypocotyl elongation. The *shy1-1D* mutation is partially photomorphogenic in darkness with apical hook opening and reduced hypocotyl elongation. The *shy2-1D* mutant displays highly photomorphogenic characteristics in darkness such as true leaf development, cotyledon expansion, and extremely reduced hypocotyl growth. As to hypocotyl elongation, however, the *shy2-1D* mutation is still light sensitive. The *shy1-1D* mutation suppresses the hypocotyl elongation of the *hy2* mutation effectively in red light but not effectively in far-red light. The *shy2-1D* suppresses hypocotyl elongation of the *hy2* mutation effectively in both red and far-red lights. Both mutations can also suppress the early flowering phenotype of *hy2* and have a distinct pleiotropic effect on leaf development such as upward leaf rolling. Our data suggest that *SHY1* and *SHY2* represent a novel class of components involved in the photomorphogenic pathways of *Arabidopsis*. This is the first report on the identification of dominant mutations in the light signal transduction pathway of plants.

2aS3

USE OF BLIND MUTANT STRAINS AND CHROMOPHORE ANALOGS FOR RHODOPSIN PHOTOSYSTEMS OF HALOBACTERIA AND CHLAMYDOMONAS

Tetsuo TAKAHASHI, School of Materials Science, Japan Advanced. Inst. Sci/Tech, 15 Asahidai Tatsunokuchi, Nomi-gun, Ishikawa, 923-12

The incorporation of artificially synthesized analog chromophore into a "blind" mutant strain lacking native chromophore has been extremely useful for the photobehavioral and biophysical studies of photosensory systems of a halophilic archaebacterium *Halobacterium salinarium*. A similar approach had already successfully been applied to the unicellular alga *Chlamydomonas* by Ken Foster (Syracuse) and Koji Nakanishi's group (Columbia Univ.) in 1984, to prove that a rhodopsin photosystem mediates its phototaxis. We have extended the method in order to characterize the two photosystems in more detail and have revealed that the conformation of retinal at the binding pocket of rhodopsin in *Chlamydomonas* is similar to that in halobacterial rhodopsins, which differs significantly from that in the members of the rhodopsin family in animals. Our data also suggests the origin of the "fine structure" uniquely seen in both the action and absorption spectra of the halobacterial fourth retinal-containing pigment phoborhodopsin. (In collaboration with Profs. Mitsuyoshi Itoh, Koji Nakanishi, Kazuo Tsujimoto, John Spudich and Drs. Bing Yan, Masakatsu Watanabe and Kazuo Yoshihara)

2aS4

DNA INSERTIONAL MUTATION FOR THE ANALYSIS OF PHYSIOLOGICAL EVENTS IN *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*

Kazuichi YOSHIDA, Hisashi ITO, Ayumi TANAKA; Department of Botany, Faculty of Science, Kyoto University, Kyoto 606-01

DNA insertional mutation was used to analyse biosynthesis pathway of Chl *b*. A plasmid containing nitrate reductase gene was introduced to a nitrate reductase-deficient *Chlamydomnas* strain by vortexing with glass-beads. Transformants were selected on a agar plate with a culture medium containing NO_3 as a sole nitrogen source. Chl *b*-less mutants were selected by fluorescence spectro-photometry and HPLC after 12-d culture. A plasmid rescue method is available to obtain genomic DNA whose mutation by plasmid-insertion results in Chl *b*-less phenotype. Such a rapid analytical method for gene involved in a particular physiological event is applicable for the research of light-signal transduction mechanisms.

2aS5

CIRCADIAN PHOTOBIOLOGY OF PHOTOSYNTHETIC ORGANISMS

Carl H. JOHNSON ,Vanderbilt Univ, Dept. Biol., Nashville, TN 37235, USA

In collaboration with laboratories in Japan,UK, and USA, my laboratory has been investigating circadian photobiology in various photosynthetic organisms, including cyanobacteria,*Chlamydomonas*, and tobacco. In cyanobacteria, Dr. Takao Kondo (Nagoya Univ.) and I have done action spectroscopy to characterize the photopigments responsible for light-induced phase shifting of the circadian clock. The results indicate that blue and red light are most effective in resetting the phase of this oscillator. Dr. Kondo, Dr. Susan Golden (Texas A&M Univ) and I are now doing screens to discover cyanobacterial mutants impaired in their phase-shifting ability. In *Chlamydomonas*, Dr. Kondo and I previously discovered that the prior illumination conditions (light versus darkness) significantly influence the action spectra for phase shifting. In tobacco, Drs. Tony Trewavas, Marc Knight (UK), Kondo, and I have discovered circadian oscillations of intracellular free calcium in transgenic tobacco seedlings. Because phytochrome can function as a photoreceptor for the circadian clock in higher plants and the phototransduction pathway for phytochrome may include increases in free calcium levels, we are now testing the hypothesis that light-induced phase resetting of the circadian clock in higher plants is mediated by changes in cytoplasmic free calcium.

2pS1

A SEARCH FOR CATALYTIC AND REGULATORY COMPONENTS IN EUKARYOTIC CELLULOSE BIOSYNTHESIS

R. Malcolm BROWN, Jr.
Dept. of Botany, The University of Texas at Austin, Austin Texas 78713-7640, USA,
email: rmbrown@ccwf.cc.utexas.edu

Cellulose, the major component of plant cell walls, has been very difficult to investigate in terms of its biosynthesis. When membrane fractions are prepared, a mixture of callose and cellulose typically is synthesized in vitro. We have overcome this problem using native gel electrophoresis. 0.05% digitonin-solubilized membrane fractions (SE1) of mung bean and cotton were loaded onto a stacking gel. After electrophoresis, the gel was incubated in UDP-glc and the product bands extracted and analyzed with TEM. The band in the 3% acrylamide stacking gel produced only cellulose as determined by CBH-gold labeling and morphology whereas the band in the 6% acrylamide running gel produced only callose. This separation in activity suggests states of molecular aggregation of the glucan synthase components are important in determining which glucan is synthesized. SDS gel electrophoresis of the polypeptides in these two fractions is in progress with the goal to identify all components responsible for cellulose and callose synthesis. Longer term goals for genetically modifying cellulose in economically important crops will be realized once the fundamental understanding of the polymerization and crystallization reactions is better understood.

2pS2

TUBULIN-CONTAINING GRANULES IN THE PLASMA MEMBRANES OF AZUKI BEAN EPICOTYLS AND THEIR RELATIONSHIP TO THE SYNTHESIS OF β-GLUCAN

Koichi MIZUNO (Dept. Biol., Fac. Sci. Osaka Univ., Osaka 560)

Purified plasma membranes from stem segments of azuki bean contained tubulin which seemed to be integrated in special structures. Two isoforms of α-tubulin were demonstrated but isoforms of β-tubulin yielded complex profiles when analyzed by 2-D PAGE. Tubulin was found to be integrated in granules which had diameter of 10 nm. The size of granules was similar to that of granules in terminal complexes. The solubilized fraction of plasma membranes with detergent formed abundant polysaccharide filaments when they were incubated with UDP-glucose and Ca^{2+}, and many granules were revealed to associate with the filamentous structures. The majority of filaments formed in our investigation may have been callose because 2,6-dichlorobenzonitrile did not have a marked inhibitory effect on the synthesis of these polysaccharide filaments and the majority of the filaments disappeared upon treatment with β-1,3-glucanase. Since tubulin was demonstrated to be integrated in granules, column chromatography using Sepharose conjugated with antibodies against tubulin was performed to separate the granules. The purified granules produced many thin filaments during incubation with UDP-glucose and Mg^{2+}. The formation of filaments was inhibited seriously by 2,6-dichlorobenzonitrile, this time.

2pS3

SUBUNIT COMPOSITION OF CELLULOSE AND CALLOSE SYNTHASE COMPLEXES IN COTTON FIBERS

Deborah P. DELMER
Dept. of Botany, Hebrew Univ., Jerusalem 91904, Israel

Recent studies of ours have identified a membrane-associated form of sucrose synthase (SuSy) in plants (PNAS 92: 9353; 1995). In cotton fibers, at least half of the total SuSy is membrane associated, and in many cases, it is localized in helical striated patterns at the cell surface that parallel the pattern of cellulose microfibril deposition. We have proposed that this form of SuSy exists in a complex with cellulose and/or callose synthases and serves to channel carbon from sucrose via UDP-glc to the glucan synthase catalytic subunits. In support of this, we have also observed synthesis of both cellulose and callose from sucrose in detached fibers. We are now using a recombinant form of cotton SuSy as a probe to identify proteins in the plasma membrane of cotton fibers that interact with SuSy and therefore might be candidates for additional subunits of these synthase complexes. Such preliminary studies indicate that an annexin and two unidentified polypeptides of 36 and 40 kD interact, either directly or indirectly, with SuSy. In addition, the chaperonin calnexin also interacts with denatured, but not native SuSy, suggesting it might play a role in the assembly of the complexes. By these approaches, we hope eventually to model the overall composition of these important complexes involved in β-glucan synthesis in plants.

2pS4

ANALYSIS OF BARLEY MUTANTS WITH LESS CELLULOSE PRODUCTION

Naoki SAKURAI
Integrated Arts & Sci., Hiroshima Univ., Higashi Hiroshima 739

Ohichi-hen (*fs2*), Shiroseto-hen (*fs2*) and Kobinkatagi 4-hen (*fs3*) are isogenic lines of barley mutant with less cellulose production than the corresponding normal strain. Field-grown brittle stems of mutant barley produced only one eighth cellulose in normal strain. When the plants were grown in the dark, only Kobinkatagi 4-hen showed less cellulose content of coleoptiles than the normal corresponding strain. Callus and suspension-cultured cells (SC) from any strain did not show the difference in cellulose content between normal and mutant strains. Cellulose contents per gr fr wt of callus and SC were similar to those of field-grown stems of mutant strains. Addition of 10 mM UDP-glucose into the suspension culture medium inhibited cell wall synthesis in the mutant and reduced the percentage of cellulose in the wall polysaccharides. Plasma membrane fraction was isolated from young seedlings of Ohichi and Ohichi-hen. Specific activity of incorporation of UDP-glucose into insoluble products in Ohichi-hen was 72% of the normal strain. SDS-PAGE of solubilized proteins of the plasma membrane fraction revealed a slight difference between the normal and mutant strain. The results suggest that *fs2* and *fs3* genes are regulatory genes for cellulose synthesis and *fs2* gene is involved in secondary wall synthesis, while *fs3* gene is expressed in the primary cell wall synthesis.

3aS1

植物の茎成長制御とジャスモン酸

宮本健助　（大阪府立大・総合科学）

オートムギ（*Avena sativa* L. cv. Victory）幼葉鞘切片を用いた成長実験系において、ジャスモン酸はオーキシン（IAA）の誘導成長を阻害する。この細胞伸長成長抑制機構を明らかにする目的で、成長に関係する種々のパラメータに対するジャスモン酸の影響を検討した。その結果、ジャスモン酸は、成長期間中における幼葉鞘切片の全浸透物質量に影響せず、また、応力緩和法で測定される細胞壁の力学的性質を表すパラメータにも影響しなかった。一方、ジャスモン酸は、成長期間中のオーキシンによる非セルロース性およびセルロース性の細胞壁多糖量の増加を抑制した。しかし、非セルロース性多糖の中性糖組成には影響しなかった。放射性グルコースを用いて、細胞壁多糖合成に対するジャスモン酸の影響を調べた結果、ジャスモン酸はオーキシンによって促進された非セルロース性多糖およびセルロース性多糖への放射能の取り込みを顕著に阻害した。また、ジャスモン酸による伸長成長阻害は外生的に与えたスクロースによって打ち消された。以上の結果から、ジャスモン酸は細胞壁多糖類の合成に関わる糖代謝に影響し、細胞の伸長成長を阻害することが示唆された。

3aS2

形態制御とジャスモン酸

幸田泰則、高橋淳[1]、喜久田嘉郎（北海道大・農、[1]北海道薬科大）

ジャスモン酸とその類縁化合物はバレイショ、キクイモ及びナガイモの塊茎形成を制御し、またダイズの伸育型を決定していることを既に報告した。ジャスモン酸を投与すると一般には伸長生長が阻害されるが、バレイショ塊茎、タマネギ葉鞘基部、ビート側根及びサツマイモ根等の柔組織では肥大生長が促進される。したがってジャスモン酸類は様々な植物の生長阻害や肥大生長を伴う形態形成に関与しているものと思われる。

バレイショの場合、ストロン由来の柔組織はジャスモン酸に反応して肥大するが、通常の茎の柔組織では生長の阻害が生ずる。しかし、このいずれの場合も表層微小管の配向方向は、元の方向に対し直角な方向に変化した。この変化に対応して肥大を起こすか、生長阻害を起こすかは、細胞壁の性質に依存している可能性がある。肥大起こる場合は細胞内のsucroseと細胞壁構成多糖類の増加が見られた。これらの多糖類の合成阻害剤はいずれも肥大を阻害し、中でもセルロースの合成阻害剤（ＤＣＢ）による肥大阻害が顕著であり、肥大にはセルロースの合成が重要であると考えられた。更にサイトカラシンＢも完全に肥大を阻害したことから、アクチンフィラメントの関与も示唆された。このようにジャスモン酸が細胞の伸長方向を制御し形態を変化させるメカニズムは細胞壁構築のメカニズムと密接に関わっているものと思われる。

3aS3

ジャスモン酸の定性定量分析

山根久和（東大・生物工学センター）

近年、ジャスモン酸（ＪＡ）類が植物における種々の生理現象に重要な役割を果たしていることが明らかにされ、植物体中の微量のＪＡ類を同定、定量しようとする試みが種々の方法を用いて行われてきた。しかしながら、ＪＡやそのメチルエステル等比較的揮発性が高い物質が植物体に微量で含まれている場合は、通常、精製過程で大部分が失われてしまうことが少なくない。従って、微量のＪＡ類の同定、定量のためには、信頼度の高い分析法を適用するだけでなく、回収率の高い精製法を適用することがきわめて重要となる。ここでは、これまでに報告されてきたＪＡ類の分析法のうち主要なものについて述べるとともに、我々のグループで行っている、ＧＣ／ＭＳ、および免疫学的手法を用いた分析法について解説する。また、それらを用いて、タマネギ植物体やエリシター処理したイネ培養細胞の内生ＪＡ類の定性定量分析を行っているので、その結果についても報告する。

3aS4

ジャスモン酸により誘導される遺伝子とその誘導機構の解析

太田啓之、鈴木玄樹、加藤友彦[1]、柴田大輔[1]、増田建、塩井祐三、高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構、[1]三井業際植物バイオ研）

ジャスモン酸とその関連化合物は、近年高等植物に広く存在する情報伝達因子として研究が進み、特に病害などのストレス応答に関与する物質としてその機能が解明されつつある。リポキシゲナーゼなどジャスモン酸により発現誘導を受ける遺伝子が相次いで単離されているが、ジャスモン酸による遺伝子発現誘導のメカニズムについてはほとんど分かっていない。我々は、ディファレンシャルディスプレイ法を用いて、ダイズ培養細胞からシクロヘキシミドの存在下でもジャスモン酸処理で発現の誘導が起こる遺伝子を新たに単離した。ホモロジー検索の結果から、単離したcDNAうち１つはシトクロムP450の遺伝子ファミリーであることがわかった。本シンポジウムではこのジャスモン酸誘導型シトクロムP450やその他のジャスモン酸誘導性遺伝子の機能および誘導機構について現在までの知見を紹介する。

3aS5

遺伝子発現でみたタバコBY-2細胞のジャスモン酸に対する初期応答

中村研三、今西俊介、村本伸彦、小島久恵（名大・農・生化）

タバコ BY-2 懸濁培養細胞でジャスモン酸 (JA) 処理の初期段階で誘導される遺伝子の解析を進めている。BY-2 細胞をタンパク質合成阻害下で JA 処理した 30 分後にはポリアミンの一種のプトレシン (Put.) を合成するオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) の mRNA が誘導される。実際、JA 処理後の BY-2 細胞にはまず Put. が一過的に増加したが、スペルミンやスペルミジンの増加は見られず、Put. はメチル-Put. を経てニコチンとなって蓄積した。JA はプトレシンからニコチン合成に関わる酵素の mRNA も誘導したが、ODC 誘導よりも遅く、タンパク質合成を必要とした。タバコ ODC 遺伝子プロモーターと GUS との融合遺伝子も形質転換 BY-2 細胞で JA に対する早い応答を示し、JA に応答した遺伝子発現制御の分子機構を解明する有利な系になると期待される。

3aS6

病傷害ストレス応答とジャスモン酸

大橋祐子[1]、瀬尾茂美[1]、佐野　浩[2]（[1]農水省・生物研、奈良先端大学院大[2]）

一般に病原体感染や傷害を受けた植物は、これらに対抗するための自己防御機構を発達させている。その中でも、このような機構を活性化させるため、そのシグナル物質であるジャスモン酸(JA)やサリチル酸(SA)のレベルが、これらのストレスにより増加させられる例がタバコなどでよく知られている。我々は、これらのシグナル物質の生産に低分子量GTP結合タンパク質や、MAP キナーゼが関与することを示唆する結果を、これらの遺伝子を導入した形質転換タバコを用いた実験から得ている。病傷害ストレスにより誘導されるPRタンパク質は、酸性と塩基性グループに大別され、前者はSA、後者はJAにより効率的に誘導されるが、前者の誘導はJAにより、また後者の誘導はSAにより、濃度依存的に阻害を受けた。シグナル物質であるJAまたはSA自身の誘導は、SAまたはJAの存在によりそれぞれ拮抗的な阻害を受ける。これらのシグナル物質誘導の機構、その生物学的意味について討論する。

A 会 場：物質・情報変換

キーワード：植物ホルモン代謝，酵素，蛋白質，糖質関連酵素·遺伝子，情報伝達，病害抵抗性，根粒菌，生物時計

第一日目 午前

開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aA01
9:45	1aA02
10:00	1aA03
10:15	1aA04
10:30	休 憩
10:45	1aA05
11:00	1aA06
11:15	1aA07
11:30	1aA08
11:45	1aA09

第二日目 午前

開始時間	講演番号
8:30	2aA01
8:45	2aA02
9:00	2aA03
9:15	2aA04
9:30	2aA05
9:45	2aA06
10:00	2aA07
10:15	2aA08
10:30	休 憩
10:45	2aA09
11:00	2aA10
11:15	2aA11
11:30	2aA12

第三日目 午前

開始時間	講演番号
8:30	3aA01
8:45	3aA02
9:00	3aA03
9:15	3aA04

第一日目 午後

開始時間	講演番号
13:00	1pA01
13:15	1pA02
13:30	1pA03
13:45	1pA04
14:00	1pA05
14:15	1pA06
14:30	1pA07
14:45	1pA08
15:00	休 憩
15:15	1pA09
15:30	1pA10
15:45	1pA11
16:00	1pA12
16:15	1pA13
16:30	1pA14
16:45	1pA15
17:00	1pA16

第二日目 午後

開始時間	講演番号
13:00	2pA01
13:15	2pA02
13:30	2pA03
13:45	2pA04
14:00	2pA05
14:15	2pA06
14:30	2pA07
14:45	2pA08
15:00	休 憩
15:15	2pA09
15:30	2pA10
15:45	2pA11
16:00	2pA12
16:15	2pA13

1aA01

エンドウおよびアベナ幼芽のトリプトファンからトリプトアミン、インドールアセトアルデヒドそしてＩＡＡへの経路

平沢栄次、吉田泉、Howlader,M. A. Awal、重友恵子、永山烈（大阪市大、理、生物）

エンドウのジアミン酸化酵素（ＤＡＯ）はトリプトアミン（ＴＰＡ）をインドールアセトアルデヒド（ＩＡＡＩｄ）に酸化することが知られている。今回プトレシンがＤＡＯにより酸化されて生成するΔ^{1}ーピロリンをさらにＧＡＢＡに酸化するピロリン脱水素酵素（ＤＰＤ）を精製しその性質を調べたところ、ＩＡＡＩｄをＩＡＡに酸化することを見い出した。またＤＰＤでの最適ｐＨ９で、精製したＤＡＯとＤＰＤを混合しＴＰＡとＮＡＤを加えたところ、速やかにＴＰＡはＩＡＡにまで酸化された。ＤＡＯ自身の最適ｐＨは７でありｐＨ９では本来反応しない。このときの酵素速度論からＤＡＯとＤＰＤは会合し、ＴＰＡは連続的にＩＡＡにまで反応が進行すると思われた。一方アベナのＤＡＯは1,3-ジアミノプロパンをアミノプロピオンアルデヒド（ＡＰＡＩｄ）に酸化するがＴＰＡは基質にはなりえない。しかしＡＰＡＩｄをβーアラニンに酸化するＡＰＡ脱水素酵素を精製し性質を調べたところ、エンドウのＤＰＤと同様にＩＡＡＩｄをＩＡＡに酸化することを見い出した。次にトリプトファン[carboxy-^{14}C]を基質に用いてエンドウとアベナのトリプトファン脱炭酸酵素活性を調べたところ粗酵素液中に活性を見い出し、本脱炭酸酵素の諸性質について検討した。またアベナのＴＰＡをＩＡＡＩｄに酸化する活性の存在についても検討した。

1aA02

Rhizoctonia 属菌による IAA 産生とその生合成経路について

古川聡子，古賀仁一郎[1]，足立尭[1]，岸國平，庄野邦彦[2]（都立立川短大，[1]明治製菓　生物科学研，[2]東京大　教養　生命）

多くの微生物が植物ホルモンである IAA を産生することは古くから知られている。腫瘍を形成する数例については病徴とホルモンとの関係が明らかにされているが，他の病徴との関係について明らかな例はあまりない。

そこで我々は菌類－植物相互作用における IAA 産生の意義を探るために，腫瘍以外の病徴を示す菌を選びIAA の産生能を検索した。その結果 *Rhizoctonia* 属の菌が高い IAA 産生能を有することがわかった。また多くの菌は，トリプトフォールも産生することがわかった。これら *in vivo* の変換実験の結果から，この菌の IAA 生合成経路はインドールピルビン酸経路であることが示唆された。

1aA03

日長と[2-^{14}C]ジャスモン酸の代謝移動

吉原照彦、大森史裕、市原耿民（北大・農・生物機能化学）

バレイショ葉面より投与された[2-^{14}C]^{14}Cジャスモン酸は、ツベロン酸グルコシドへと代謝され、殆どは他の葉部に移動するが一部はストロンおよび塊茎にも移動することを既に明らかにしている。今回、ストロンから塊茎へ変化する段階について精査した。異なる日長条件（連続光、12Ｌ－12Ｄ）で２週間生育したバレイショ（品種：ダンシャク）葉面に[2-^{14}C]ジャスモン酸をラノリン塗布し、4、8、12日後ストロンおよび肥大開始ストロンの放射活性を測定した。その結果、短日条件下で生成したストロンは、長日条件下のそれと比べて10倍近い放射活性を示し、日長の差異によるジャスモン酸類の移動の違いと塊茎形成への関与を明らかにした。

塊茎形成と同様、花芽形成も日長に制御されていることが知られている。このことから、アサガオ（品種：スカーレットオハラ）葉面に[2-^{14}C]ジャスモン酸を投与し、その代謝、移動について調べた。バレイショと同様、ジャスモン酸はツベロン酸グルコシドへと代謝され、葉えき部位での放射活性は短日条件（12Ｌ－12Ｄ）では長日条件（18Ｌ－6Ｄ）での約2倍であり、ジャスモン酸類の日長による移動の違いを示した。

1aA04

ジャスモン酸メチルにより発現が誘導されるシトクロムP450cDNAの単離

鈴木玄樹、太田啓之、加藤友彦[1]、柴田大輔[1]、増田建、塩井祐三、高宮建一郎（東工大・生命理工・生体機構、[1]三井業際植物バイオ研）

ジャスモン酸とその関連化合物は、近年高等植物に広く存在する情報伝達因子として研究が進み、特に病害などのストレス応答に関与する物質としてその機能が注目されている。我々は昨年度の本大会で、ディファレンシャルディスプレイ法を用いてダイズ培養細胞からシクロヘキシミドの存在下でもジャスモン酸メチル(MeJA)処理で発現の誘導が起こる遺伝子のクローンを新たに単離したことを報告した[1]。そこでこのうち１つのクローンをプローブにしてcDNAライブラリーをスクリーニングしたところ、２種類のcDNA(G9-3, G9-19)を単離した。ホモロジー検索の結果から、２つのcDNAはいずれもシトクロムP450の遺伝子ファミリーであることがわかった。これらのcDNAは互いに80%程度の高い相同性を有しており、それぞれアボガドのCYP71ファミリーとアミノ酸レベルで41％、40%、ベチュニアのCYP75ファミリーと38%、39％のホモロジーを持ち、２種のcDNAともに、*cyp71*と*cyp75*の中間に位置する*cyp*ファミリーであると思われる。3'領域の特異的プローブを用いてそれぞれのcDNAのMeJAに対する応答を調べたところ、２つのcDNAのうちG9-3についてはスクリーニングに用いたG9と同様30μMのMeJAでmRNAの転写が誘導され、処理後約6時間でそのmRNAレベルは最大となった。しかしG9-19についてはMeJAによるmRNAの発現誘導は全く観察されず、ジャスモン酸による遺伝子発現の誘導はP450遺伝子の中でも特異性があると考えられる。

[1)]鈴木ら　植物生理学会１９９５年度年会要旨集　P107

1aA05

キュウリ実生リポキシゲナーゼの多様性

松井健二、西岡美晴、田淵　豊、梶原忠彦、長谷俊治[1]（山口大・農・応生化、[1]阪大・蛋白研）

リポキシゲナーゼ（LOX）は、リノール酸やリノレン酸などに酸素添加する酵素である。我々はこれまでにキュウリ実生で子葉、根に特異的なLOXのそれぞれのcDNAを単離し、その構造と発現機構を明らかにしてきた。これら以外にもキュウリには、オイルボディ膜などに見られる膜結合型LOXや、篩管汁液に見られる分泌型LOXなど、様々なアイソザイムが見いだされている。更に我々は、ジャスモン酸により誘導されるアイソザイムを見いだした。今回我々は、キュウリにおけるLOXの生理的役割を総合的に理解することを目的に、これら各アイソザイムの相互関係を明らかにすることを試みた。

オイルボディLOXのアミノ酸配列は子葉細胞礎質型LOXと相同であった。このことはcotLOXはオイルボディ、細胞礎質間を行き来し、貯蔵脂肪分解時の脂質運搬を担っている可能性を示唆する。一方、子葉をジャスモン酸に曝すとcotLOXとは分子量の異なる新たな可溶性LOXアイソザイムが少なくとも２種誘導された。また、篩管汁液のタンパク質のほぼ50%までもがLOXであった。この分泌型LOXは分子量、至適pHなどがJA誘導型LOXと酷似していた。現在、これらLOXを精製し、アミノ酸配列解析、さらにはクローニングを行い、それらの構造と性質の比較を行っている。

1aA06

ステビア植物での HMG-CoA レダクターゼ活性とステビオール合成酵素の特性

金　勤碩, 柴田 均, 山下 寛, 澤 嘉弘
(島根大, 生物資源科学部)

ステビア植物 (*Stevia rebaudiana* Bertoni) は甘味成分 ステビオシド類を乾燥重量の 10 - 20 % も含む。ステビオシド類の生合成経路には 重要な 2 段階の step があり、HMG-CoA レダクターゼ による メバロン酸の生合成と ステビオール 合成酵素による *ent*-kaurenoic acid から ステビオール (13-hydroxy kaurenoic acid) への変換である。ステビアチラコイドの HMG-CoA レダクターゼは法連草やセイタカアワダチソウよりもそれぞれ 150 倍、10 倍も高い。 最適 pH は 7.5, HMG-CoA に対する *Km* は 8.62 μM であり他の植物での値との差がない。ストロマに存在するステビオール合成酵素を精製した。分子量は 78,000, 同一サブユニットから構成されるダイマーである。最適 pH は 7.6, 基質 *ent*-KA に対する *Km* は 11.1 μM で, コファクター NADPH に対する *Km* は 20.6 μM である。これらの結果とともに, *S. rebaudiana* Bertoni での甘味配糖体蓄積はメバロン酸の異常合成という内因性ストレスを緩和する機構と考察する。

1aA07

抗菌性タバコオスモチン様タンパク質(OLP)の結晶化

小岩尚志、加藤博章[1]、中津亨[1]、西岡孝明[1]、小田順一[1]、山田康之[2]、佐藤文彦 (京都大･農･農化、[1]京都大･化研、[2]奈良先端大･バイオサイエンス)

オスモチン様タンパク質(OLP)は植物が病原体の侵入に応じて特異的に蓄積するPR (Pathogenesis-Related: 感染特異的) -タンパク質のPR-5グループに属する抗菌性タンパク質である。OLPと一次構造上相同性を持つ甘味タンパク質ソーマチンについてはその三次元構造が明らかとなっているが、OLPにはソーマチンのような甘味のないこと、ソーマチンには抗菌性が認められなかったことから抗菌性メカニズムを解析するうえでOLPの立体構造を知り、ソーマチンと比較することが重要と考えられる。

そこでタバコ培養細胞から精製したOLP標品を用いてOLPの結晶化を行った。Hanging-drop 蒸気拡散法を用い、タンパク質濃度10mg/ml、沈殿剤に塩化マグネシウムを用いて、20℃、3-4週間の静置により約0.6x0.2x0.2mmのOLP結晶を再現性良く得られた。結晶は単斜晶系に属し空間群C2、格子定数はそれぞれ a=80.2Å, b=63.7Å, c=45.6Å, β=107°であった。RAXIS IIcによるX線回折データ測定の結果、この結晶は2.0Åを上回る高分解能を有していた。現在重原子誘導体の検索ならびにソーマチンの構造をもとにした分子置換法による構造決定を試みている。

1aA08

オオムギの細胞質リボソーム蛋白質の解析

牧泰史、和田明[1]、田中歩　（京都大・理・植物、[1]京都大・理・物理）

オオムギの細胞質リボソームの蛋白質構成が光照射によって変わることを、以前報告した。今回コピー数の変化する蛋白質（PD）のうち二つについて、その部分アミノ酸配列を調べた結果、既知のリボソーム蛋白質であることがわかった。またそれぞれについてcDNAの塩基配列を調べた。

約90個のオオムギ細胞質リボソームの蛋白質のうち、光照射によって少なくとも8個の蛋白質（PD1-PD8）のコピー数が変化していた。このうち、変動の顕著なものを選んでその部分アミノ酸配列を調べた結果、PD8（光照射で増加）はL34、PD5（光照射で減少）はL25であることがわかった。そこでイネのL34、L25のcDNAをプローブとして用いて、オオムギのcDNAライブラリーをスクリーニングし、L34とL25のcDNAの塩基配列を決定した。またこれらの遺伝子のノーザン解析を試みた。

1aA09

リン酸飢餓状態下で誘導される*Spirodera oligorrhiza*の低分子量ホスファターゼの精製と性質

一瀬信敏[1,2]、澤田美智子[2]、石川　鑛[1]、奥山英登志[1,2]（[1]北海道大大学院・地球環境、[2]工技院・北海道工技研）

ヒメウキクサ、*Spirodera oligorrhiza*はリン酸飢餓状態におかれると高分子量（HI-P）及び低分子量（LO-P）の少なくとも２種類のホスファターゼを誘導的に合成する。これまでにHI-Pについては精製され、その諸性質が報告されている。今回LO-Pを精製し、その性質を調べたので報告する。

リン酸欠乏のHoagland培地で培養した植物体を液体窒素を用いて粉砕し、30%ブタノールを含むトリス/マレイン酸緩衝液を用いてホスファターゼを抽出した。この抽出液を濃縮透析後CM-Toyopearlカラムに供すると、LO-Pは未吸着画分として回収された。その後、Q Sepharose、Butyl-Toyopearl、Mono Qを用いた各カラムクロマトグラフィを行い、LO-Pを精製した。精製LO-PはSDS-PAGEで36kDaの分子量を示したが、SDS-PAGEの際、酵素標品にメルカプトエタノールを加えず、かつ加熱処理をしなかった場合の分子量は27kDaであった。これらの結果は本酵素が分子内に豊富なS-S架橋を持つ単量体であることを示唆している。*p*-nitrophenolを基質とした時、酵素活性は亜鉛イオン、銅イオンおよびモリブデン酸によって阻害された。ウエスタンブロット法により、LO-Pは抗HI-P抗体と交差反応を示すことが確認された。至適pHは7であることから、本酵素は中性ホスファターゼであると結論した。

1pA01

リボース-ビスリン酸イソメラーゼの機能解析

毛利　宏、山下　寛、澤　嘉弘、柴田　均（島根大・生物資源科学部）

ストロマに高濃度（4-10 mM）存在する光合成産物3-ホスホグリセリン酸（PGA）はリボース（R5P）イソメラーゼの競争阻害剤でその K_i は1-2 mMと報告されている。このような背景からわれわれは通常の光合成条件下ではR5PがRuMPへ変換されないことを指摘し、R5Pがリボース-1,5-ビスリン酸（RBP）へとリン酸化され、RBPが新規のRBPイソメラーゼ（仮称）によりリブロース-1,5-ビスリン酸（RuBP）へと変換される経路を提案している。PRKの基質特異性によりR5PがRBPへとリン酸化されることはすでに報告した。今回ホウレン草よりRBPイソメラーゼの精製標品について得られた知見を報告する。

精製された酵素はサブユニット分子量60 kDaのテトラマー酵素であり、RBPには作用するがR5P、PRPP、リボースなどには全く作用しない。RBPとRuBPに対する K_m はそれぞれ、1.02 mMと2.23 mMである。RuBisCO反応系において、RBP + RBPイソメラーゼ、R5P + PRK + RBPイソメラーゼ系で活性が確認された。これらの結果に基づいてR5PからRuBPへの新規ルートが稼働している可能性を考察する。

1pA02

単細胞性紅藻*Porphyridium purpureum*炭酸脱水酵素ポリペプチドに二つ存在する活性部位のいずれかを破壊した変異酵素のCA活性

三橋敏、藏野憲秀、宮地重遠（海洋バイオテクノロジー研、釜石研）

我々はこれまで単細胞性紅藻*Porphyridium purpureum*の炭酸脱水酵素(CA) cDNAを単離し構造を決定した。この酵素はN末端半分(NCA)とC末端半分(CCA)が高い相同性をもち，＂植物型CA＂の保存アミノ酸残基が各々にあることから，祖先型CAの重複と融合で形成されたと考えられる。昨年度我々は二等分した酵素に相当するNCA, CCAを*E. coli*内で大量発現させ，NCAが活性をもち，CCAは活性を示さないと報告した。しかしその後の検討で酵素合成誘導温度を37℃から28℃へ下げると，CCAも活性を示しうることが判明した。今回さらに2つの亜鉛結合部位の役割を探るため，以下の実験を行った。

Braceyら(1994)によるとホウレンソウCA monomerは2つのcysteineと1つのhistidineで活性に必須な亜鉛を結合する。我々は対応するアミノ酸残基（Cys-149, His-205, Cys-208及びCys-403, His-459, Cys-462）を特異的に置換し，いずれかの亜鉛結合部位を破壊した6つの変異酵素を発現させ，それらの活性を調べた。その結果，intact酵素の活性を100とすると，N側に変異をもつC149S, H205Qは40～50，C側に変異をもつC403S, H459Qは80～140の活性を示した。これらの結果から，どちらの亜鉛結合部位も活性を示しており，かつNCA側の活性がより大きいと示唆された。また，C208Sでは0, C462Sでは20となり，この部位への変異導入は酵素立体構造にダメージを与えることが示唆された。　（本研究は新エネルギー，産業技術総合開発機構の委託研究「細菌、藻類等利用二酸化炭素固定化，有効利用技術研究開発」の一環として行われたものである。）

1pA03

ＳＤＳにより活性化されるトウモロコシ成葉・プロテアーゼのＳＤＳによる活性発現と安定性に及ぼす影響

山田隆文、太田啓之、増田建、塩井祐三、高宮建一郎（東工大・生命理工）

昨年の本大会において、我々はSDSによって特異的に活性化され、RuBisCOに対して分解活性を持つプロテアーゼを精製し、活性発現におけるSDSの要求性や至適pH等その生化学的性質について報告した。その後の研究において、SDSは活性発現に必須であると同時に酵素の安定性に影響を与え、その影響はpHにより異なるという興味深い知見を得たので報告する。

酵素の安定性は、0.5%のSDS中、プロテアーゼを３５℃でインキュベーションし、その後活性を測定することによって検討した。本酵素は、至適pH（4.9）付近では３０分間で50%程度まで活性を失うが、SDSを添加することにより、その影響は緩和され、酵素は安定化された。一方、pH８付近ではSDSの非存在下では酵素は極めて安定であるが、SDS存在下では１時間で50%程度に失活した。その失活は、本酵素に対する不可逆的な阻害剤であるE-64によって抑えられた（希釈により阻害効果を除いてから活性を測定した）。本酵素は、至適pH付近ではSDSによって安定化され、さらにコンフォメーション変化を伴う活性化を引き起こすと考えられる。この事とは対照的に、中性付近では、潜在状態の酵素はSDSによって不活性型に構造が変化すると考えられる。プロテアーゼの中性から至適pHへの変換に伴う*in vivo*での活性発現のメカニズムについて考察する。

1pA04

キュウリ緑葉中に発現するプロテアーゼの精製

山内靖雄、大西道人[1]、杉本敏男[1]、末吉邦[1]、王子善清[1]
（神戸大・自然科学、[1]神戸大・農・生物環境制御）

キュウリ緑葉にはArg、Lys残基のC末端側を切断するpI5.0のプロテアーゼと、Glu残基のC末端側を切断し子葉では光により誘導されるpI4.5のものが主要なプロテアーゼとして存在することを昨年の植物生理学会で報告した。今回は、基質特異性の明らかになったこれらのプロテアーゼについて精製を行い、詳細な性質を調べたので報告する。

キュウリ本葉を試料としてDEAE-Toyopearl、Hydroxyapatite、ゲルろ過、Phenyl-sepharose、Mono Qにより単一に精製されたpI4.5のプロテアーゼ（Cucumber Endopeptidase of pI 4.5、CEP4.5）は、97kDaのサブユニット4つからなる400kDaの分子量であった。また、CEP5.0はDEAE-Toyopearl、Hydroxyapatite、Phenyl-sepharose、Arg-sepharose、Mono Qにより単一に精製され、80kDaのセリンプロテアーゼであることがわかった。CEP5.0はCa^{2+}、Mg^{2+}、Mn^{2+}を活性発現に必要とした。両者ともpH7-8に至適pHを持っていた。これらの性質および阻害剤に対する感受性から、これらのプロテアーゼと微生物のプロテアーゼの類似性（CEP4 5は*E. coli.* のProtease La、CEP5.0は*E.coli.* のProtease Re、酵母のKEX2 protease)が考えられた。

1pA05

イネ・カタラーゼCatA, CatB, CatC遺伝子のストレス応答

肥後健一、肥後ひろみ（農水省・生物資源研）

植物の病原体に対する防御や低温順化における過酸化水素の役割とカタラーゼの関与が最近強く示唆されている。私たちはこれまでにイネの登熟期種子で発現しているカタラーゼCAT-AのcDNAを単離し[1]、その遺伝子CatAを構造決定して、プロモーター領域の解析とストレス応答解析の結果を報告した[2-4]。またCatC遺伝子の構造[5]、CatB遺伝子の構造とプロモーター領域の解析結果[6]を報告した。

今回は、これら3種類のイネ・カタラーゼ遺伝子のストレス応答についての比較検討を行った。トウモロコシのCat3に相当するイネCatAのmRNAは、葉でも検出されるが、ABA、過酸化水素、傷害、サリチル酸処理すると若干増加した。また、パラコートに明条件下で曝すとさらに増加した。一方、トウモロコシのCat1に似ているイネCatBのmRNAは、葉では量が少なく、これらの処理では大きな変化は見られなかったが、suspension cellsでは検出され、さらに低温、ABA、過酸化水素処理によって増加が見られた。一方、同じくトウモロコシのCat1に似ているイネCatCのmRNAは、suspension cellではほとんど検出できないが、葉においては低温処理あるいは光照射によってmRNA量が大きく増加した。1)Plant Mol. Biol. 18:973 (1992); 2)第17回分子生物学会年会要旨 p.449(1994); 3)アメリカ植物生理学会1995年年会Abstract p.74; 4)Plant Mol. Biol.(in press); 5)農芸化学会1994年度年会講演要旨p.404; 6)第18回分子生物学会年会要旨p.405(1995)。

1pA06

アスコルビン酸ペルオキシダーゼのカタラーゼ様活性

尼子克己、浅田浩二[1]（大阪府大・農・応用生物化学、[1]京都大・食研）

アスコルビン酸(AsA)ペルオキシダーゼ(APX)は植物の過酸化水素消去に機能している。今回、キュウリ由来の組み換え体細胞質型APXを用いて、APXがペルオキシダーゼ活性(per)以外にカタラーゼ様活性(cat)を持つことを見いだし、両活性のグルタチオンによる使い分けを示唆する結果を得たので報告する。

酸素電極により測定されたcatは他のヘムカタラーゼと同様Kmが大きく分子活性が高かった。perとcatはKCN, NaN_3、AsA除去によって同程度に阻害あるいは失活をうけたことから、両反応がcompound Iを共有することが明らかとなった。

pCMB添加によってperは抑えられたがcompound I生成は阻害されなかった。還元型グルタチオン(GSH)存在下ではperは経時的に減少したがcatは影響を受けなかった。GSH処理でperを失ったAPX溶液から脱塩によってグルタチオンを除去し再度AsAを添加すると、perはもとの20%程度回復した。このことから、GSHがAPXと相互作用し、細胞内環境が酸化的になる、あるいは局所的過酸化水素濃度が高いときにはAPXがperではなくcatによって過酸化水素を消去する、切り替え機構に機能していることが示唆された。

1pA07

オオムギ糊粉層ヌクレアーゼcDNAの単離

青柳滋美・杉山宗隆[1]・福田裕穂[1,2]（[1]東北大院・理・生物、[2]東大・理・植物園）

植物のプログラムされた細胞死は、細胞内容物の分解によって進行する。この一環である核分解に関与すると考えられるものとして、ヒャクニチソウの管状要素分化時に発現する43 kDaのヌクレアーゼ（DNase/RNase）と、オオムギの発芽時に糊粉層から分泌される35 kDaのヌクレアーゼ（DNase/RNase）がこれまでに精製・解析されている。その結果、この両ヌクレアーゼについては性質がよく似ていることが分かっている。

私たちはヌクレアーゼの遺伝子レベルでの解析が植物の細胞死を理解する糸口となることを期待し、オオムギのヌクレアーゼについて解析を行った。オオムギの胚切除種子をジベレリン酸処理すると4日目前後から培地中のヌクレアーゼ活性は急激に上昇した。ジベレリン酸処理したオオムギ糊粉層より調製したpoly(A)$^+$ RNAを鋳型として、既報のアミノ酸部分配列をもとに設計したヌクレアーゼ特異的なプライマーを用いて、3'-RACE法によりヌクレアーゼcDNAを増幅した。得られたDNA断片をクローン化し配列を決定したところ、*Aspergillus oryzae* のS1ヌクレアーゼとの類似性が認められた。なお、これは植物においては初めて単離されたDNase cDNAということになる。今後はこのcDNAをプローブとして、ヒャクニチソウ管状要素分化特異的ヌクレアーゼについてもcDNAを単離し、発現調節などについて解析を進める予定である。

1pA08

ニセアカシア内樹皮レクチンの２９ｋＤａサブユニットをコードする遺伝子の単離

吉田和正（農林水産省　森林総研）

マメ科の落葉樹であるニセアカシア(*Robinia pseudoacacia*)は樹皮と種子にレクチンをもつ。樹皮レクチンは 29kDa と 31.5kDa のサブユニットの様々な組み合わせからなる４量体で、その生合成は位置および季節的な制御を受けている。すなわち、樹皮レクチンは秋から冬にかけて内樹皮（師部）の柔細胞に蓄積される。これまでのところ樹皮レクチン遺伝子が特定の組織や季節にのみ発現する機構は研究されていない。そこで、内樹皮特異的な遺伝子の発現調節に関わるシス因子を調べるために、遺伝子のクローニングを行った。ゲノム DNA ライブラリィをスクリーニングした結果、内樹皮レクチンの 29kDa サブユニットをコードする cDNA の配列を含むクローン（*rlec1*）が得られた。*rlec1* の 5'非翻訳領域には、TATA ボックスの共通配列と CAAT ボックス様の配列が存在した。

1pA09

スクロース：スクロースフルクトシルトランスフェラーゼ（ＳＳＴ）とβ-フルクトフラノシダーゼのアミノ酸配列の相同性について

伊勢島エリザ美智子、藤野介延、喜久田嘉郎（北海道大・農・作物生理）

ＳＳＴはフルクタンの代謝に関してkey enzymeとして働いている。　キクイモ（*Helianthus tuberosus*）より抽出したＳＳＴは２次元電気泳動の結果、46.7kDと21.3kDのポリペプチドよりなるヘテロダイマーであった。

これら２つのポリペプチドより作製した抗体を用いたウエスタンブロッティングにおいて未変性条件下では単一のバンドしか検出されなかったが、変性条件下では２つのバンドが確認された。

またこれらのN末端アミノ酸配列の解析も行った。46.7kDのサブユニットはナス科の70kDインベルターゼと高い相同性（６１％）を示した。一方、21.3kDのサブユニットは71kD *Zea mays*インベルターゼや63kD *Daucus carota*インベルターゼのＣ末端近傍と相同性（５５％、５１％）を示した。

1pA10

バレイショ塊茎（*Solanum tuberosum* L. cv. Brodick）由来ＡＴＰ依存型ホスホフルクトキナーゼをコードするｃＤＮＡの単離と解析

日吉徹，Tyson, Huw R., Page, Anthony J., Kruger, Nicholas J.[1], Forde, Brian J.（ﾛｻﾞﾑｽﾃｯﾄﾞ試験場・生理生化学部，[1]ｵｯｸｽﾌｫｰﾄﾞ大・植物科学部）

解糖系のキー酵素と言われるATP-PFK(EC 2.7.1.11)をコードする完全長cDNAをバレイショ塊茎由来cDNAライブラリーから単離した。バレイショではPFKを構成する４種のポリペプチド(PFKa, b, c, d)が知られているが、大腸菌で発現したバレイショ PFK の免疫学的解析によって我々が単離した cDNA は PFKd をコードすることが判明した。バレイショ PFK はヘテロメリックな形態で存在する可能性が示されているが、大腸菌で発現した活性を有する酵素は PFKd ポリペプチドのみから構成されていた。PFKd ポリペプチドはトランジットペプチド配列を欠いており、単離した cDNA はプラスチド型ではなく細胞質型 PFK をコードしていることが示唆された。バレイショ PFKd ポリペプチドの推定アミノ酸配列は、他生物由来 ATP-PFK やピロリン酸依存型 PFK(EC 2.7.1.90)と主としてフルクトース６リン酸、ＡＴＰ、エフェクター分子の結合に関与すると推定される領域で有意な相同性を有していた。

1pA11

イネショ糖燐酸合成酵素のクローニングおよび発現パターンの解析

徳楽清孝，穴井豊昭，長谷川宏司，久島繁（筑波大・応生化）

我々はトウモロコシショ糖燐酸合成酵素（SPS）のcDNA断片をプローブとして、イネのcDNAライブラリーからSPSをコードする２種類のアイソザイムのcDNAをクローニングした。２つのクローンとも約3000bpの大きさで、トウモロコシ、ホウレンソウの*sps*遺伝子とホモロジーを示した。各クローンをプローブとしたゲノミックサザンブロット解析の結果、イネゲノム中には、*sps*遺伝子が２種以上存在することが示唆された。更にRT-PCR法を用いたmRNA量の解析から、*sps1*mRNAはcolumnにおいて多く発現しており、*sps2*mRNAはleafとcolumnにおいて多く発現していることが明らかになった。また、rootにおいてはどちらのmRNAもほとんど発現がみられなかった。さらに、*sps1*mRNAの蓄積は培地中のシュークロース、グルコース、フルクトースによって誘導されたが、*sps2*mRNAはこれらの処理により誘導されず恒常的に発現していた。

1pA12

イネ種子α-アミラーゼ／ズブチリシン
インヒビターの遺伝子構造解析

山崎照之、赤松佳代子、山形裕士、岩崎照雄
（神大・農・生物機能化学）

数種のイネ科種子中にはズブチリシンと内生α-アミラーゼの二種の酵素を阻害する二機能性のタンパク質性インヒビターが存在する。これらのインヒビターは種子に内在性のα-アミラーゼを阻害することから、何らかの生理的機能を担っていることが予想される。

我々は、コメ糠からズブチリシンインヒビターを精製し、これがイネ種子α-アミラーゼも阻害する二機能性インヒビター（RASI）であることなど、その特性を明らかにした。また、RASIと一次構造上のホモロジーを有するオオムギの二機能性インヒビター（BASI）が胚乳に蓄積するのに対して、RASIはアリューロン層に蓄積することを明らかにした。このように、起源が同じであると考えられる遺伝子（RASIとBASI）の発現が、近縁の種においてその組織特異性を異にする機構を遺伝子レベルで解明するため、イネ種子アリューロン層cDNAライブラリーからRASI cDNAのクローニングを行い、塩基配列を決定した。RASI cDNAはシグナルペプチドとインヒビター領域をコードしていた。また、cDNAをプローブとしてイネゲノムライブラリーよりRASI遺伝子をクローニングし、現在構造解析中である。

1pA13

倍数性の異なるコムギ未熟種子のDNA量に基づくWx遺伝子数に対応するWxタンパクの量とその酵素活性の変異の再評価

藤田直子、和田野晃[1]、平知明（大阪府立大学・農学部・応用植物科学、[1]応用生物化学）

*Wx*遺伝子は穀類において胚乳デンプンのアミロースを合成するNDP-glucose-starch glycosyltransferase（*Wx*タンパク）をコードしている．異質倍数体である四倍性および六倍性コムギの各ゲノムに存在する相同のWx遺伝子は，一次構造がわずかに異なるWxタンパクを共優性的に発現している．二倍体種と四倍体種，六倍体種のデンプンあたりのWxタンパクの量および酵素活性には倍数性に伴うWx遺伝子のドースの増加による著しい変化は見られなかったことは昨年度の本大会で報告した．これはデンプンに付着した酵素の量が倍数性によって変化しないためであると考えられる．

Wx遺伝子の発現量および酵素活性を異なる倍数性間で比較するには，これらをWx遺伝子のドースあたりで算出する必要があると考えられ，今回は種子の全DNA量の定量法を検討した．未熟種子に0.5N過塩素酸を加え乳鉢ですりつぶし，70℃ 30分で熱した後，遠心分離して上清を得，これを3回繰り返すことで種子中のDNAをほぼ完全に液層に抽出できた．この上清のDNA量をBorton(1956)の方法で定量し，それぞれの種のコムギの一細胞あたりのDNA量（既知）で割ることで種子中のWx遺伝子のドースを決定した．倍数性に伴うWx遺伝子数の増加による発現量および酵素活性の変異の再評価を行い，考察する．

1pA14

イネ*wx*遺伝子座に存在する２つの対立遺伝子
（Wx^a, Wx^b）の発現制御の解析

平野博之，永口貢（国立遺伝研）

我々はこれまで，イネの*wx*遺伝子座はに少なくとも２つの野生型対立遺伝子（Wx^a, Wx^b）が存在することを報告してきた．この二つの対立遺伝子はWxタンパク質の発現量によって識別され，Wx^a は Wx^bの約10倍強く発現している．

培養細胞を用いたtransient assay系により，両遺伝子の発現量の違いとなるシス領域を探索することを試みた．プロモーター領域の欠失変異体の解析からは，有用な情報が得られなかった．そこで，両対立遺伝子の翻訳開始点より上流域の種々のキメラを作製し，同様の解析を行った．その結果，発現量の大きな差となる領域は，第１イントロンのスプライシングのドナー部位を含む領域に限定された．Wx^b ではドナー配列がGTからTTに変異していた．このため，Wx^bではイントロンのスプライシングの効率が低下し，これがWx^bの発現がWx^a より非常に低い原因であることが示唆された．

1pA15

イネ胚乳デンプンミュータント、シュガリーの解析とStarch debranching enzymes (DE) の性質

中村保典、久保亜希子[1]、原田久也[1]、中北真紀子
松田智明[2]、島宗知行[2]、高橋一典[2]、佐藤光[3]
（農水省・生物研、[1]千葉大・園芸、[2]茨城大・農、[3]九州大・農）

一連のイネ*sugary*-1ミュータントは、アミロペクチン合成制御過程を解析する良い材料である。

１、胚乳のポリグルカンのα-1,4側鎖長分布を分析した結果、突然変異によって、鎖長が短くかつクラスター構造の消失したフィトグリコーゲンがアミロペクチンに替わって蓄積することを見い出した。

２、イネの胚乳を、光学顕微鏡・走査型及び透過型電子顕微鏡によって観察した結果、*sugary*変異によって細胞内構造が劇的に変化することを見た。

３、*sugary*変異によって、starch debranching enzymes (DE) が著しく低下しており、これがアミロペクチンに替わってフィトグリコーゲンが合成される原因であると推定した。

４、DEの存在、性質について調べた結果も発表する。

1pA16

サツマイモのデンプン合成酵素遺伝子のクローニング

瀬戸山愛子、内海俊樹、阿部美紀子、東 四郎
（鹿児島大・理・生物）

塊根中のアミロースは、デンプン合成酵素(granule binding starch synthase, GBSS)により合成されている。本研究では、アンチセンスRNA法によりGBSSの活性を抑制し、低アミロースデンプン（モチ性デンプン）のサツマイモを作出することを目的として、GBSS遺伝子のクローニングを試みた。

既知のGBSSおよびwaxyタンパク質のアミノ酸配列と塩基配列を参考にし、高度に保存されている領域をPCR用プライマーとして合成した。サツマイモの全DNAを鋳型としてPCRを行なった結果、1.4 kbのDNA断片が増幅された。この断片の塩基配列は、ジャガイモのGBSS遺伝子と高い相同性がみられたため、サツマイモのGBSS遺伝子の一部と判断した。現在、この断片のTiベクターへの連結を試みている。

2aA01

エンドウ原形質膜画分から分離したコンカナバリン A 結合蛋白質複合体

豊田和弘、杉本　恵、一瀬勇規、山田哲治、白石友紀（岡山大・農）

植物レクチンの1種 Con A は、エンドウのファイトアレキシン蓄積を誘導する。今回は、エリシター受容体を分離する目的で、エンドウ組織の原形質膜画分から Co n A 結合蛋白質の分離を試みた。原形質膜可溶化画分 (>100 kDa) を Con A-HPLC カラムに供し、methyl-α-D-mannoside で溶出される単一試料を分離した。本蛋白質は Native-PAGE による解析から約 530 kDa と推定され、また SDS-PAGE 下には少なくとも 9 種のポリペプチドに分画された。すなわち、Con A 結合蛋白質は複合体を形成しているものと考えられた。そこで、本複合体 (Con A-BPC) を構成する蛋白質の解析を進めた結果、本画分は防御応答に必須なポリホスホイノシチド代謝系の phophatidylinositol 4-kinase や原形質膜 ATPase の他、プロテインキナーゼ、低分子量 GTP 結合蛋白質、NDP kinase を含んでいること、また特異的抗体を用いた解析からアクチン蛋白質の存在も示された。以上の結果から、Con A-BPC は防御応答に至る情報伝達系に深く関与しているものと推定された。

2aA02

ニセアカシア樹皮レクチンの糖鎖認識における Asp87、Phe130、Arg131 の機能

西口満、田崎清、吉田和正、角園敏郎（農水省・森林総研）

ニセアカシア樹皮レクチン（RBL：*Robinia pseudoacacia* bark lectin）は、ガラクトースおよびその誘導体に特異的に結合する。RBL の糖鎖認識機構を明らかにするために、大腸菌を宿主とした組換え型 RBL（rRBL）の生産系を確立した。さらに、糖鎖認識に関与すると考えられるアミノ酸残基を、部位特異的変異法によって置換し、その機能解析を行った。

RBL の cDNA を鋳型として PCR を行い、C 末端に 6×His タグが付加されるように、発現プラスミドを構築した。プラスミドを大腸菌に導入し、rRBL の発現・精製を行った。精製した野生型 rRBL は、RBL と同様に四量体を形成しており、また、赤血球凝集試験、およびハプテン阻害試験から、全く等しい糖結合活性・特異性を持っていることが示された。

Asp87 を、Ala、Asn、Glu に置換した変異 rRBL では、いずれも赤血球凝集活性が消失した。この事から、Asp87 は糖結合活性に必須のアミノ酸残基であり、側鎖の電荷と長さが非常に重要であると推定された。また、Phe130 を Leu に置換した場合には、凝集活性は約 1/100 に低下したが、逆に、Arg131 の Tyr 置換では、約2倍の上昇が見られた。現在、更に幾つかの変異 rRBL を解析中であり、その結果も合わせて報告する。

2aA03

イネ培養細胞の原形質膜に存在するキチンオリゴ糖エリシター結合タンパク質の可溶化と精製

賀来華江、伊藤ユキ、渋谷直人（農水省・生物研）

我々は、これまで、いもち菌細胞壁の構成多糖であるキチンのオリゴ糖$(GlcNAc)_{6-8}$がエリシターとして、イネの生体防御反応を誘導すること[1]、さらに、イネ培養細胞のミクロゾーム画分[2]及び原形質膜画分に高親和性のキチンオリゴ糖結合タンパク質が存在することについて報告した。本大会では、イネ培養細胞の原形質膜画分からこのキチンオリゴ糖結合タンパク質の可溶化と精製を試みたので報告する。

水性二相分配法により調製した原形質膜画分を種々の界面活性剤で4℃、1時間可溶化した後、超遠心分離により可溶化画分を得た。可溶化画分の活性測定は、^{125}I-$(GlcNAc)_8$-チラミン誘導体と反応を行った後、ポリエチレンイミン処理したガラスファイバーフィルターに吸着させ、γ カウンターにて測定した。その結果、Triton X-100 及び n-dodecyl-β-maltoside が、可溶化剤として有効であり、0.5% Triton X-100 を用いた場合では、原形質膜蛋白質の約60%が可溶化された。可溶化画分と ^{125}I ラベルした糖誘導体との結合活性は、$(GlcNAc)_7$により阻害されたが、脱アセチルした$(GlcNH_2)_7$では、阻害されなかった。

キチンオリゴ糖結合タンパク質の精製は、可溶化画分を$(GlcNAc)_7$-Lys-Sepharose カラムに供し、洗浄後、キチンオリゴ糖により溶出を行った。SDS-電気泳動の結果、70KDa 付近に単一のバンドが見られた。これらの結果は、これまでのフォトアフィニテイーラベルを用いた結合試験の結果とよく一致していた[3]。1.山田ら *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 405 ('93); 2. 渋谷ら, *FEBS Lett.*, 32, 75 ('93); 3.伊藤ら., 95 年度, 本大会講演要旨集

2aA04

N-アセチルキトオリゴ糖に応答するイネ遺伝子の活性化機構

賀　道耀、渋谷直人、南　栄一（農水省・農業生物資源研）

イネ(Oryza sativa cv Nipponbare)培養細胞に対して低濃度で強いエリシター活性を示すN-アセチルキトオリゴ糖[1]は特定のイネ遺伝子(EL2,3)の発現量を3～6分以内に増加させることが明らかになっており我々はその分子機構の解析を進めてきている。現在までに、キチンの6～8量体処理は両mRNA量を増加させるが2～5量体及び脱アセチル体であるキトサンオリゴマー2～8量体は殆ど効果がない；タンパク合成阻害剤、cycloheximideで前処理するとエリシターの効果が増幅される、等のことが明らかになった。また蛋白質リン酸化等細胞内信号伝達経路に対する種々の阻害剤の効果についても合わせて報告する。

1)Yamada et al. Biosci. Biotech. Biochem. 57, pp405 (1993)

2aA05

シロイヌナズナMAP kinase cascadesの解析（1）

溝口剛[1]、Peter Morris[2]、入江賢児[3]、市村和也[1,4]、松本邦弘[3]、Jérôme Giraudat[2]、篠崎一雄[1]　([1]理研・植物分子、[2]Inst. Sci. Vegetales,CNRS, France、[3]名大・分子生物、[4]筑波大・生物)

MAP kinase cascadesは酵母から植物、ヒトに至るまで高度に保存され、さまざまな情報伝達系で重要な機能を果たしていることが報告されている。動物の増殖因子情報伝達系において機能するRaf (MAPKKK)はMEK (MAPKK)をリン酸化により活性化し、さらにMEK (MAPKK)はMAPKをリン酸化により活性化する。Raf (MAPKKK)はMEK (MAPKK)と、MEK (MAPKK)はMAPKとタンパク質ータンパク質間相互作用することが報告されている。現在までに種々の植物種から、MAP kinase cascadeを構成する因子と相同性をもつcDNAが単離されているが、リン酸化・活性化及びタンパク質ータンパク質間相互作用に関して、直接の関係を示した例はない。我々は高等植物シロイヌナズナから、MAP kinase cascadeを構成する因子と相同性をもつcDNAを多数単離してきた。今回我々は、シロイヌナズナMAPK、MAPKK、MAPKKK homologを用いて、酵母two-hybrid systemによるタンパク質ータンパク質間相互作用の検討、さらに酵母MAP kinase cascades 突然変異体に対する相補能の検討を行った。その結果、ATMPK4 (MAPK)とATMKK (MAPKK)の間にタンパク質ータンパク質間相互作用が検出された。さらに、ATMPK4とATMKKを*mpk1*Δ及び*bck1*Δ中で共発現させることにより、これらの突然変異体の機能相補が認められた。他のMAPK (ATMPK1、ATMPK3、ATMPK8)とATMKKとの共発現、ATMPK4やATMKK単独の発現ではこれらの機能相補は認められなかった。以上の結果は、酵母中でATMKKがATMPK4を活性化しうることを強く示唆している。本方法は、種々の生物で遺伝子ファミリーを形成しているMAP kinase cascades構成因子間の対応関係の決定に有効であると考えられる。

2aA06

シロイヌナズナMAPKK 関連遺伝子の解析

市村和也[1,2]、溝口剛[2]、Peter Morris[3]、Jérôme Giraudat[3]、篠崎一雄[2] ([1]筑波大・生物科学、[2]理研・植物分子、[3]Inst. Sci. Vegetales, CNRS, France)

我々は、シロイヌナズナをモデル系に、高等植物におけるMAPキナーゼカスケードの解析をおこなっている。これまでの解析から、MAPキナーゼ(MAPK)、MAPキナーゼキナーゼキナーゼ(MAPKKK)、Ribosomal S6 キナーゼと相同性を有する複数のcDNAが単離されている。

今回、我々は播種後3週間のシロイヌナズナから作成した未処理、乾燥処理、低温処理の3種類のcDNAライブラリーより、MAPキナーゼキナーゼ(MAPKK)と相同性の高い4種類のcDNAを新たに単離した。MAPキナーゼカスケードの構成因子の一つであるMAPKKは、MAPKのスレオニン残基とチロシン残基をリン酸化し、活性化するセリン/スレオニン/チロシンキナーゼである。4種類のcDNAは、動物や酵母のMAPKKと触媒領域において約35～40%の相同性を示した。また、特徴として触媒領域に存在するリン酸化部位の保存配列SXXXS/Tが見いだせないことがあげられ、植物独自の構造がうかがえる。現在、乾燥などの環境刺激、あるいは組織ごとの遺伝子発現の解析を進めている。また、yeast two-hybrid system を利用して、すでに単離されているMAPキナーゼカスケード関連因子(MAPK, MAPKKK)との相互作用も検討している。

2aA07

イネのSNF1様プロテインキナーゼ

鐘ヶ江弘美、菊池尚志、[1]船附秀行、高野　誠（農水省　農業生物資源研究所、[1]北海道農業試験場）

プロテインキナーゼ(PK)は植物の様々な情報伝達系において重要な役割を果たしていると考えられるが、これまでクローニングされてきたPKのうちで、その機能まで明らかになったものは少ない。私たちはPCRによってイネのPKを広く検索したところ、酵母で異化生成物抑制に関与するSNF1遺伝子と相同性の高いイネのセリン・スレオニンキナーゼを5種類クローニングしたのでこれらについて詳しく報告する。

cDNAは大きく2つのグループに分けられた。一方のグループでは遺伝子の発現に組織特異性はないが、別のグループでは種子において発現量が多い。そこで登熟期の種子を用いてこのグループの発現量を調べたところ、登熟が進むにつれてmRNA量は増加していた。これらの結果からこの遺伝子は植物の中でSNF1同様、炭素代謝制御機構に関与している可能性が考えられる。

2aA08

トウモロコシの Ca^{2+}依存性プロテインキナーゼ（CDPK）cDNAの単離および遺伝子産物の解析

西條雄介、古本強、Jen Sheen[1]、畑信吾、泉井桂
（京大・農・農生、[1]Massachusetts General Hospital）

植物のCa^{2+}シグナリング系には、構成要素として動物の系と同様にカルモジュリン（CaM）およびCa^{2+}／CaM依存性プロテインキナーゼ（CaMK）も存在する。しかし植物の系で主要な地位を占めているのは、CaM非依存性のCa^{2+}依存性プロテインキナーゼ（CDPK）である。

今回 PCR法を利用して、トウモロコシ葉から調製したライブラリーより、CDPKをコードすると推定される少なくとも５種類のcDNAを単離した。典型的なCDPKは２クローン得られ、それらはN末端側にCaMKの触媒ドメインと相同な領域を含み、続いてC末端側には偽基質として自己の活性に阻害的に働く領域、および４個のEFハンドモチーフから成るCaM様構造を有していた。しかし興味深いことに、他の２クローンには、活性調節に重要なC末端側の特徴が保存されていなかった。現在これらのクローンについて、大腸菌における大量発現系を構築中であり、活性制御機構を中心とした解析を行う予定である。

2aA09

ゼンマイ胞子葉緑体におけるチラコイド膜プロテインキナーゼPK68の性質

蒲池浩之、森井　環、井上　弘（富山大・理・環境）

ゼンマイ緑色胞子の葉緑体チラコイド膜にはプロテインキナーゼ(PK68)が存在している。このPK68は、分子量31kDaのチラコイド膜蛋白質を特異的にリン酸化すること等が分かっている。今回、更に明らかになったPK68の性質について報告する。

PK68と31kDa蛋白は共に、単離した胞子チラコイド膜を凍結・融解処理して得られる可溶性画分に存在するので、それを80%硫安で集めて用いた。

31kDa蛋白質をリン酸化する反応の至適pHと温度は、pH7.5及び30℃で、ATPに対するKm値は45μMであった。PK68によってリン酸化された31kDa蛋白質は、1MKOHでのアルカリ処理によって脱リン酸化されることから、PK68はセリン/スレオニンキナーゼであることが示唆された。cAMP等依存性プロテインキナーゼの特異的阻害剤であるH-7は、31kDa蛋白質のリン酸化反応に影響を与えなかった。EGTA存在下では、31kDa蛋白質のリン酸化とPK68の自己リン酸化が顕著に阻害されるので、PK68はCa依存性プロテインキナーゼであると思われる。

2aA10

タバコプロテインキナーゼNPK5はHMG-CoAリダクターゼをリン酸化するか？

村中俊哉、大江田憲治、町田泰則[1]
（住友化学・生命研、[1]名古屋大・理・生物）

哺乳動物のAMP活性化プロテインキナーゼ(AMPK)は、HMG-CoAリダクターゼ(HMGR)、アセチル-CoAカルボキシラーゼなどの脂質生合成における鍵酵素を特異的にリン酸化して不活性化させることにより脂質代謝を制御している。最近になって、AMPKは、酵母において糖代謝制御に係わるプロテインキナーゼSNF1と、構造的にもまた機能的にも極めて類似していることがわかった。一方、我々はタバコのプロテインキナーゼをコードするcDNA(cNPK5)を単離している。今回、タバコNPK5が植物のHMGRをリン酸化する活性を持つかどうかを合成ペプチドを用いた*in vitro* リン酸化法によって検討した。HMGR由来のペプチド(P-HMGR)を基質として、大腸菌で発現させたグルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)とNPK5、および、GSTとNPK5の自己リン酸化部位を変異させた不活性型NPK5との融合蛋白　(それぞれ、GST-NPK5, GST-NPK5(K48R)とする)による*in vitro*リン酸化反応を行った。その結果、大腸菌で発現させたGST-NPK5は、P-HMGRをリン酸化したのに対し、不活性型プロテインキナーゼであるGST-NPK5(K48R)はP-HMGRをリン酸化しなかった。このように、これら動物、酵母、植物のプロテインキナーゼは、プロテインキナーゼファミリーを形成していることがわかった。

2aA11

イネカルス細胞再分化過程に関与するリン酸化蛋白質の解析

小松節子、浜田徹、苅部英寿、阿部啓輔
（農水省・生物研）

植物細胞のもつ分化全能性は、培養技術の向上により現象的には制御可能となったが、全能性の生理生化学的メカニズムには不明な点が多い。本研究では、蛋白質のリン酸化を介する細胞再分化の制御機構を解析することを目的とし、細胞再分化過程において特異的にリン酸化される蛋白質を解析した。イネ（品種日本晴）の完熟種子を用いて、カルス誘導培地上で胚盤由来のカルスを誘導し、誘導されたカルスを液体培養培地に移した。各段階のカルス蛋白質を抽出して、リン酸化後二次元電気泳動を行い、リン酸化パターンを比較した。一部経時的に再分化固形培地に移し、再分化能の有無を確認した。再分化能のあるカルスでは再分化能のないカルスと比較して、再分化固形培地への移植時に、分子量56kDa・等電点4.5の蛋白質が顕著に脱リン酸化された。次に、この蛋白質をウサギに免疫して、ポリクローナル抗体を作製した。抗原抗体反応を行ったところ、再分化後のカルス中にも存在していることが明らかになった。この蛋白質をゲルより回収し、HPLCにより精製しN末端および内部アミノ酸配列を決定した。その結果トウモロコシ中のカルシウム結合蛋白質と高いホモロジーを示した。

2aA12

CK-IIによってリン酸化される葉緑体DNA結合性56kDa polypeptide (p56) の生理機能に関する解析

金勝一樹, 道家建二郎, 船山　学[1], 中村崇裕[1], 大槻健蔵[1]
(北里大·一般教育·生物, [1]北里大·衛生·遺伝生化学)

葉緑体の遺伝子発現機構におけるプロテインキナーゼに関する前本学会(島根1995)までの解析では、カゼインキナーゼII(CK-II)による分子量30-35kDaのRNA結合性因子 (RNP)のリン酸化が、植物種に共通して葉緑体遺伝子の転写後制御機構に重要な役割を演じていることを明らかにした。今回ホウレンソウ葉緑体から34 kDaRNP(p34)を精製する過程において、CK-IIによってリン酸化される分子量56kDaのDNA結合性polypeptide(p56)の存在を新たに認めた。そこで、CK-IIによるリン酸化を介したp56の生理的役割を明らかにする目的で本研究を行った。

ホウレンソウ葉緑体から0.4 M KClを含むBuffer(pH 7.4)で抽出したp56を各種カラムクロマトグラフィーで単一polypeptideまで精製した。精製p56は、(1)ssDNAに結合すること、(2)CK-II以外のプロテインキナーゼではリン酸化されないことなど、p34(pI 4.9)と共通の特徴を持っていた。しかしながら、(1)等電点が約6.8であること、および(2)二量体として存在している点でp34とは異なっていた。さらに、*in vitro* でのp56のCK-IIによるリン酸化は、各種DNA(1 - 30 μg/ml) により著しく促進され、特にpoly(dA):poly(dT)存在下では約6倍以上の促進効果認められた。この結果は、p56がDNAのA-Tリッチな配列を認識している可能性を示唆しており、CK-IIによるp56の特異的なリン酸化は葉緑体の遺伝子発現制御において重要な生理的役割を持つことが考えられた。

2pA01

イネの三量体G蛋白質βサブユニットのcDNAクローニング

石川敦司、岩崎行玄、旭　正（福井県立大・生物資源）

近年高等植物において、フィトクロームを介する光情報伝達系、青色光情報伝達系、気孔開閉制御情報伝達系、さらに防御反応情報伝達系などに三量体G蛋白質が関与することが示唆されてきている。これまでに三量体G蛋白質のうち、βサブユニットに対するcDNAは、双子葉植物のアラビドプシスと単子葉植物のトウモロコシから単離されているが、イネからの報告はなかった。

我々は、まずPCRによりアラビドプシス三量体G蛋白質βサブユニットのcDNA断片を増幅した。この断片をプローブにイネの緑葉より調整したcDNAライブラリーをスクリーニングし、イネの三量体G蛋白質βサブユニットのcDNA、RGB1を単離した。予想される産物のアミノ酸配列は、アラビドプシス（AGB1）とトウモロコシ（ZGB1）の産物と、それぞれ76%と94%のホモロジーを示した。また哺乳類のβサブユニットとは40%のホモロジーを示した。ゲノミックサザンハイブリダイゼーションの結果より、RGB1はイネにおいて数個の遺伝子により支配されていると考えられた。RGB1のmRNAは、イネの根、黄色葉、緑葉に蓄積していた。

2pA02

イネ3量体G蛋白質αサブユニットの解析

岩崎行玄、石川敦司、旭　正
（福井県大・生物資源）

高等植物は、光、エリシター等のシグナル伝達に、3量体G蛋白質が関与するる可能性を示唆する報告がなされているが、高等植物の3量体G蛋白質の局在部位、精製標品による機能解析はほとんどなされていない。昨年の大会でイネ3量体G蛋白質αサブユニットのcDNA(RGA1)の構造を報告した。今回、このcDNAを発現ベクターに組み込み、大腸菌を用いて発現させ、その精製標品を用いてモノクローナル抗体を作製した後、イネ3量体G蛋白質αサブユニットの局在部位等の解析を行ったので報告する。

マウスBALB/cに、αサブユニット融合蛋白質を免疫し、定法に従いハイブリドーマを作製し、2種類のモノクローナル抗体を得た。これらの抗体は、イネ原形質膜画分の45kDaポリペプチドを特異的に認識した。この知見は、高等動物と同様に高等植物においても、3量体G蛋白質は原形質膜に局在していることを示唆している。

2pA03

人為的誘導系を用いたプロテインフォスファターゼの機能解析

青木幹雄、青山卓史、岡 穆宏（京大・化研）

タンパク質のセリン/スレオニン残基の可逆的リン酸化反応を介した細胞内情報伝達系路は真核生物一般に広く存在する。特にプロテインフォスファターゼPP1は、代謝・細胞増殖など多くの基本的生命現象に関わっているようである。PP1は触媒および調節サブユニットから成る多量体酵素として細胞内に存在するが、その触媒サブユニットはそれ自身で構成的に脱リン酸化活性を示す。我々は、PP1の副次的影響を介さない直接的作用を解析するために、シロイヌナズナのPP1とヒトのエストロゲン受容体とのキメラタンパク質を構成的に発現する形質転換シロイヌナズナを作成した。このキメラタンパク質はエストロゲン存在下でのみフォスファターゼ活性を示すので、植物個体においてPP1活性を時間的・空間的に特異に誘導可能となる。この形質転換植物のエストラジオール存在下での黄化芽ばえは、下胚軸および根の伸長阻害、下胚軸の肥大成長、フックの屈曲維持の3つの形態的特徴を示す。これらの特徴はエチレン処理した黄化芽ばえの三重反応に酷似している。これらPP1の活性化による形態的特徴はエチレン生合成系の阻害剤を同時に加えても認められることから、PP1の活性化によってエチレン生合成反応が促進されたのではなく、エチレン刺激に応答するシグナル伝達反応中にPP1活性によって正に制御されるステップが存在することを示唆している。

2pA04

アカパンカビ生物時計の光による位相変化過程での
カルシウムの関与

定金　豊、片桐　敏、中島秀明（岡山大学・理・生物）

生物時計機構解明の一手段として、その制御に関わる光の情報伝達過程をアカパンカビ（*Neurospora crassa*）で調べた。その結果、カルモジュリン依存性の反応と新たなmRNAの合成が、共にこの過程に必須であることを本大会で既に報告してきた。

今回はカルモジュリン制御因子であるカルシウムの関与を検討した。カルシウムイオノホアA23187は菌糸生長と同様に光による位相変化を阻害した。その効果は培地中の$CaCl_2$濃度によって変化し、低濃度$CaCl_2$中で最大であった。A23187は細胞内カルシウムを細胞外に放出した。液胞輸送系の変異体、*ca-1*では、光位相変化のA23187による阻害は見られず、同薬剤によるカルシウムの細胞外への放出も観察できなかった。これらの結果は、A23187は液胞内カルシウムを放出させ、細胞内のカルシウムホメオスタシスに影響し、生物時計の光位相変化を阻害することを示唆している。アカパンカビにおいても他の生物と同様に、光情報の生物時計への伝達過程にカルシウムの関与が考えられる。

2pA05

イネの耐冷性とカフェイン感受性Ｃａ$^{2+}$チャネルの関係

北川良親、Nirmal Joshee、吉崎克明[1]　（秋田農短大・生物工学研、[1]秋田医療短大）

先の大会において、イネの耐冷性は細胞内Ｃａ$^{2+}$の放出によって引き起こされるシグナル伝達の結果生じることを報告した。耐冷性イネ品種ではＣａ$^{2+}$放出は低温と脱水によって起こるが、低温感受性のイネではＣａ$^{2+}$の放出は低温では起きず、脱水によってのみ起きる。このことから、低温と脱水に対応する二つの異なったＣａ$^{2+}$放出機構が推定される。即ち、一つは低温を感受し、カフェイン感受性Ｃａ$^{2+}$チャネルにシグナルを伝える系で、もう一つは脱水を感受し、カフェイン感受性Ｃａ$^{2+}$チャネルにシグナルを伝える系である。脱水を感受するのはＬ型Ｃａ$^{2+}$チャネルであることも解った。ここで、カフェイン感受性Ｃａ$^{2+}$チャネルは低温と脱水のシグナルをＣａ$^{2+}$放出に変換する最も重要な成分であり、かつ、イネの品種によってそのチャネルの低温耐性が異なる。耐冷性イネのこのＣａ$^{2+}$チャネルは低温で働くので、イネは耐冷性を示す。一方、低温感受性イネのＣａ$^{2+}$チャネルは低温で働かないので低温で枯死する。しかし、このイネのＣａ$^{2+}$チャネルは脱水によって働くので、イネに前もって脱水ストレスを与えるとイネは耐冷性になる。

2pA06

イネいもち病抵抗性遺伝子 *Pi-b, Pi-ta²* のBACライブラリーによるフィジカルマッピング

川崎信二、K.Rybka、中村信吾、秋山康紀、佐々木典子、[1]安東郁男（農水省・生物研、[1]農研ｾﾝﾀｰ）

植物の真性抵抗性は１遺伝子により制御され、これに対応する非病原性遺伝子を持つ病原体の侵入を特異的に認識して速やかにかつ局所的に植物の防御反応を誘導する。我々は日本で長い研究の歴史を持つイネのいもち病抵抗性遺伝子をとりあげ、そのﾎﾟｼﾞｼｮﾅﾙｸﾛｰﾆﾝｸﾞをめざして、これまでに *indica* から導入された *Pi-b* と *Pi-ta²* について精密なマッピングを行い、それぞれについて複数の0cMﾏｰｶｰと0.3-1.9 cMで両側から遺伝子を挟み込むflanking markerとを見出してきた。今回我々は平均ｲﾝｻｰﾄ長175kBのイネのBACﾗｲﾌﾞﾗﾘｰを完成させたのでこれを用いて、上記抵抗性遺伝子周辺のフィジカルマップの作成を試みた。

両遺伝子周辺の上記の近傍核酸ﾏｰｶｰを用いてBACﾗｲﾌﾞﾗﾘｰを探索し、1-10のﾎﾟｼﾞﾃｨﾌﾞｸﾛｰﾝを得た。これらの相互の位置関係を明らかにして、最も突出したｸﾛｰﾝの末端をTAIL(thermal asymmetric interlaced) PCRにより増幅して次のｸﾛｰﾝへのwalkingを行い、*Pi-b* に関しては遺伝子領域の両末端をあきらかにした。

2pA07

一酸化窒素（NO）によるジャガイモファイトアレキシン生成誘導

則武智哉、川北一人、道家紀志
（名古屋大・農・植物病理）

植物の病害やストレスに対する抵抗反応の誘導において活性酸素が関与していることが明らかにされてきている。一酸化窒素（NO）は不対電子を持つ酸素ラジカルで、活性酸素の一種である。本報告では、NOが植物の抵抗反応の一つであるファイトアレキシン生成を誘導するかどうかを検討した。ジャガイモ塊茎組織をNO発生剤であるNOC-18で処理し、ジャガイモのファイトアレキシンであるリシチンの生成量を調べた。10 mM NOC-18処理により塊茎組織の１ウェル中に平均3 μgのリシチンが生成され、この量はジャガイモ疫病菌菌体壁成分エリシター（0.5 mg/ml）処理による生成量の約1/5であった。NOC-18によるリシチン生成は、NOの選択的消去剤であるCarboxy-PTIOや活性酸素消去剤タイロンにより抑制された。この結果はNOが植物組織に対しファイトアレキシンを誘導するエリシター活性をもつことを示唆し、活性酸素種が抵抗性誘導に関与することを支持した。

2pA08

オオムギの全身獲得抵抗性(SAR)～グラミンの関与について～

松尾広信、谷口久美子、平本忠浩、一瀬勇規、山田哲治、白石友紀（岡山大・農）

付傷処理や病原菌接種によってオオムギ（品種；五畝四石）子苗全体に抗菌性物質が誘導される。このうちの一つをグラミンと同定した。グラミンは親和性うどんこ病菌の発芽を抑制し、100μg/mlではほぼ完全に感染を阻害する。第二葉が展開したオオムギの第一葉に付傷処理、親和性、非親和性菌の接種を行いグラミンの挙動を調べたところ、親和性菌接種の第一葉を除き、12時間後には全身的にグラミンの増加が誘導された。さらにこれらの葉を水滴に浮かべて、漏出されるグラミン量を調べたところ、親和性菌接種第一葉以外の葉で5～18倍の増加が認められた。グラミンの増加は子苗より切り離された葉では認められないが、胚軸切断部からの滲出液で処理すると誘導された。そこで、滲出液中から抵抗性誘導因子(ERIF)を部分精製してオオムギ葉に与え抵抗性誘導とグラミン蓄積との関係について調べたところ、両者には正の相関性が認められた。以上の結果から、オオムギのSARの過程は、ストレス→ERIFの胚軸部からの分泌→全身への移行→グラミンなどの抗菌性物質の誘導→全身の抵抗化と把握できる。

2pA09

抗菌性ペプチドを融合タンパク質として植物に生産させる試み

光原一朗[1]、大島正弘[1]、岡本雅次[2]、村上高[1]、沢野定憲[1,3]、松古浩樹[1,3]、後藤洋子[1]、加来久敏[1]、名取俊二[4]、大橋祐子[1]
（[1]農水省・生物研、[2]東亞合成筑波研、[3]岐阜農セ、[4]東大・薬）

私たちは、センチニクバエ由来の抗菌性ペプチドSarcotoxin 1A遺伝子を導入して植物に新たな抗菌性を付与するための実験を行っている。

しかし、本遺伝子を単独で生産させると、その転写産物に比べて検出されるペプチドの量が少ないため、植物内では本ペプチドが不安定であることが予想された。そこで本ペプチドをGUSまたはPR-1aタンパク質との融合タンパク質として発現させることを試みた。この方法を用いることにより、形質転換タバコ中で従来より高いレベルの本ペプチドの蓄積を確認することができた。現在、これらの植物における導入遺伝子産物の局在性や抗菌性を検定中である。

2pA10

根粒菌感染初期に宿主植物に及ぼす菌体 periplasma 物質の影響

山下広哲，阿部美紀子，内海俊樹，東　四郎
（鹿児島大・理・生物）

根粒菌とマメ科植物の共生関係の成立に際し，根粒菌と宿主植物の間で分子的なシグナルの交換が行われることが知られている．宿主植物の root exudate には Flavonoid 類が存在しており，ある種の Flavonoid は根粒菌の *nod* genes inducer として働き，*nod* genes の発現を誘導し，Nod metabolites (Nod factors)を菌体外に生産分泌する．この Nod metabolites は，宿主植物に作用し，Flavonoids の生産分泌をさらに促進，根毛の変形(root hair deformation ; Had)やカーリング(root hair curling ; Hac)，根の皮層細胞の分裂促進，根粒原基の形成などを引き起こす物質で，アルファルファ，エンドウ，ダイズなどを宿主とする数種の根粒菌でその構造が特定されている．

本研究では，当研究室で分離したクローバ根粒菌 *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* 4S の *nod* genes をクローニング，pSym を cure したH1株に形質転換したH1(pC4S8)株を用いて Nod metabolite の生産分離を試みた．*R. l.* bv. *trifolii* の *nod* genes は，7,4'-dihydroxyflavone(DHF) や，Apigenin(API) により誘導されることが知られている．そこで液体培地に終濃度 2μl の API を添加し H1 (pC4S8)株を培養，培養上清(SUP)と，saccharose 浸透圧ショック法で抽出した菌体の periplasma (PEP)分画とに分けた．それぞれを n-BuOH により振盪抽出した．これらの抽出物（NM（SUP），NM（PEP））をクローバの芽生えに添加し，根毛形態に及ぼす影響を調べたところ，NM（SUP），NM（PEP）の両方とも根毛に対して Hac / Had 活性を示すことが分かった．しかし，NM(PEP)分画に，より顕著な Had / Hac 活性が認められた．そこで，H1(pC4S8)株の periplasma より NM(PEP) を抽出し，クローバの根毛に対し強い Hac / Had 反応を引き起こす有効成分の分離精製を進めている．

2pA11

根粒器官形成過程において異常を示すミヤコグサ菌 *Rhizobium loti*の菌体外多糖欠損変異株の単離と解析

今泉(安楽)温子[1]、川口正代司[1]、赤尾勝一郎[2]、庄野邦彦[1]
（[1]東京大学教養学部、[2]農業生物資源研究所）

演者らは、ミヤコグサ *Lotus japonicus* の共生菌であるミヤコグサ菌*Rhizobium loti* 3099N5についてTn5 mutagenesisを行い、これまでに28クローンの菌体外多糖欠損変異株(*exo* mutant)を単離してきた。今回は、このうち根粒形成過程に異常が認められた*R.loti* 3099 *exo*-22（以下*exo*-22）について報告する。

ミヤコグサへの感染実験より、*exo*-22では野性株（*R. loti* 3099N5、以下N5）に比べ、根粒形成開始の遅延、根粒形成率の低下が認められた。また、*exo*-22の感染により誘導される根粒は正常な根粒と異なり、白色・小型で、窒素固定活性を示さない無効根粒であることが示唆された。根粒の内部形態の観察から、N5では根粒内部に多数の感染細胞が認められたのに対し、*exo*-22では、感染細胞の存在が確認できず、根粒内部全体に多量のアミロプラストの蓄積が観察された。

以上より、*R. loti* 3099 *exo*-22は、ある種の菌体外多糖の欠損によりミヤコグサとの相互認識を正常な形で行うことができず、根粒器官形成過程に異常が生じた共生変異株であることが示された。現在、Tn5の挿入により破壊された遺伝子のクローニングを進行中である。

2pA12

培養根粒菌およびマメ科植物の器官における c-AMP

岡村昌道[1]、米山忠克[1,2]、大森正之[3]、藤原伸介[4]
（[1]筑波大応生系、[2]農業研究センター、[3]東大.教養.生物、[4]四国農業試験場）

高等植物と共生関係を形成する根粒菌ではアデニル酸シクラーゼやc-AMPホスホジエステラーゼの存在が報告されている。一方、高等植物におけるc-AMPについては、存在するにしても、検出限界(0.5pmol/gFW)以下といわれてきた。しかし、最近、アデニル酸シクラーゼやc-AMPホスホジエステラーゼが植物にも存在するという報告が出された。本研究では、エンザイムイムノアッセイ法による培養根粒菌とマメ科植物および非マメ科植物器官のc-AMP量を測定した。（方法）圃場で栽培した各種の植物、シードパックで栽培したダイズ、合成培地で2～5日間培養した根粒菌の菌体と培養液からトリクロロ酢酸でc-AMPを抽出した。さらに、-30℃で凍結保存していた各種マメ科の根粒についても同様にc-AMPを抽出した。抽出液は凍結乾燥した後、エンザイムイムノアッセイ法(Amersham)によりc-AMP量を測定した。（結果）培養根粒菌には1～10pmol/mg proteinのc-AMPが検出され、培養液にも検出されたが菌の種類や培養条件で大きく変動した。マメ科植物において根粒では3～12pmol/gFWのc-AMPが検出された。非マメ科植物の葉では検出限界(約0.5pmol/gFW)以下であり、マメ科植物の多くでも葉では検出限界以下であったが検出されるものもあった。しかし、葉の値は不安定であり、検討を要する。

2pA13

エンドウ根粒におけるホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性調節

菅沼教生、岡田康志、鳥山可菜子、金山喜則[1]（愛知教育大・生命科学、[1]名古屋大・農）

ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ（PEPC）は、マメ科植物の根粒において、窒素固定能を支える重要な役割を果たしている。根粒におけるPEPCの活性は、根や葉などの他の器官に比べ高いが、突然変異により窒素固定能を欠失した根粒ではPEPCの活性が著しく低いことから、根粒におけるPEPCの活性は窒素固定能によって調節されていると予想される。そこで、エンドウのFix⁻突然変異体E135を用いて、根粒におけるPEPCの活性調節機構を検討した。

エンドウの正常品種Sparkle の根粒では、PEPCの活性は窒素固定能の発現に伴い増加し、PEPC酵素タンパク質量、PEPC mRNA量の増大を伴った。根では、PEPCの活性は、生育期間を通して根粒よりも低く、酵素タンパク質量、mRNA量ともに低かった。ところが、E135根粒では、PEPCの活性は根粒形成初期にはSparkle 根粒と同様に増加した後、急激に減少し、根と同じレベルに達した。しかし、酵素タンパク質量、mRNA量はSparkle 根粒よりも少なかったが、根よりも多かった。この結果から、エンドウ根粒では、PEPCの活性は窒素固定能に関係なく誘導されるが、その後、転写の段階、そして、翻訳後の段階で窒素固定能によって制御されることが示された。次に、E135根粒におけるPEPC活性に及ぼすアンモニアの影響を調べたが、変化はみられなかった。また、根粒が形成されたE135の根に正常なSparkle の地上部を接ぎ木し、根粒におけるPEPC活性を調べたが、影響はみられなかった。

3aA01

藍色細菌*Synechocystis* sp. PCC 6803のClock-controlled genesの解析

青木摂之、近藤孝男、石浦正寛（名古屋大・理・生物）

概日性時計の出力経路の分子機構を解明するためには，概日性時計に制御される遺伝子(Clock-controlled gene, CCG)の解析が重要である。そこで，分子遺伝学の適用が容易な藍色細菌*Synechocystis* sp. PCC 6803(6803と略す)を用いてCCGの解析を行なった。まず、野生型6803のゲノムDNA断片を発光レポーター遺伝子*luxAB*の上流に導入してルシフェラーゼ発現ライブラリを作成し，このライブラリを野生型6803のゲノムに組込んで形質転換を行なった。冷却CCDカメラによって，約10,000の形質転換体のうち，119のクローンから発光を検出できた。発光クローンの多くは，連続明条件下(LL)で約1日周期の発光リズムを示した。大多数のクローンでは、ピークは主観的暗期の終わりにみられた。No. 49はその代表的なものである。一方、No. 52ではそれより約8時間早い時間帯に、またNo. 58ではほぼ12時間異なる時間帯にピークがみられた。塩基配列解析の結果，ヒートショック蛋白質ClpPとRNA結合蛋白質のN末端をコードする領域が，それぞれNo. 49とNo. 58の*luxAB*遺伝子の上流にみつかった。現在、これら3つのクローンの発光リズムを制御する調節領域の特定を試みている。

3aA02

藍色細菌の生物時計遺伝子群の同定

岩崎秀雄[1,2]，近藤孝男[2]，沓名伸介[2]，青木摂之[2]，Carol Andersson[3]，Susan S. Golden[3]，石浦正寛[2]（[1]名大・院・人間情報，[2]名大・理・生物，[3]Texas A&M 大・生物）

我々は生物時計を分子レベルで解析するため，藍色細菌*Synechococcus* sp. PCC7942を材料とし，生物時計に関する顕著な突然変異体を多数分離してきた。さらに，これらの変異体に野生型ゲノムDNAライブラリーを遺伝子移入して時計変異を相補する遺伝子を多数クローニングすることに成功している。得られたいくつかの野生型ゲノムDNA断片は，多様な表現形をもつ複数の相異なる生物時計変異体を相補した。これらの断片はゲノム上の同じ座位に由来しており，欠失断片の相補活性を調べることで生物時計の周期に大きく影響する遺伝子領域を約2.8kbpに限定し，塩基配列を決定した。この領域には，オペロンを構成すると思われる3つの隣接したORF(*D*, *E*, *F*)が存在する。この領域を含む遺伝子断片によって相補される変異体のゲノムDNAの塩基配列を調べたところ，約30種類の突然変異が*D*, *E*, *F*上に見いだされた。特に*F*遺伝子は短周期から無周期まで多様な変化をもたらす変異がマッピングされ，生物時計の発現に極めて重要なものと推察できる。現在，これらの遺伝子と相互作用する時計因子のクローニングや，他の生物種におけるホモログの単離を試みており，それらの結果を併せて報告する。

3aA03

藍色細菌*Synechococcus* sp. PCC7942の生物時計オペロンの発現の解析

<u>沓名伸介</u>, 近藤孝男, 岩崎秀雄, 青木摂之, 石浦正寛
（名古屋大・理・生物）

我々は、前の報告で藍色細菌の生物時計の中枢をなす遺伝子群（時計オペロン）を同定した。この時計オペロンの転写活性の経時的変化を生物発光量として測定するために、このオペロンの上流域とシフェラーゼ遺伝子からなる融合遺伝子をレポーター遺伝子として使用した。そして，その転写活性が２４時間周期で変動することを確認した。現在ノーザンブロット解析でmRNAレベルを調べている。つぎに，両側にターミネーターを持つスペクチノマイシン耐性遺伝子をこの遺伝子群の上流と下流に挿入したが、生物発光リズムに変化が見られなかった。したがって，この時計オペロンの近傍に存在する遺伝子の転写活性（リードスルー）がこの時計オペロンの正常な転写に必要でないことを確かめることが出来た。さらに，このオペロンのORF-*F*を欠失した藍色細菌ではリズムが消失することを確認したので，ORF-*F*は生物時計において重要な働きをしていると考えられる。ORF-*D, E*についても同様な調査を行っている。また生物時計突然変異体での時計オペロンの発現も調べ，この遺伝子群の生物時計における機能を解析したい。

3aA04

アカパンカビの硫黄代謝変異株の概日性リズムの性質

<u>小内清</u>、秋山正志、中島秀明　（岡山大・理・生物）

アカパンカビの硫黄代謝変異株*cys-9*株は概日性分生子形成リズムの顕著な異常をもち、*cys-9*遺伝子がNADPH依存性チオレドキシンレダクターゼをコードしていることを既に我々は報告している（昨年度本大会）。さらに我々はチオレドキシンレダクターゼのターゲットであるチオレドキシンをコードする*trx*遺伝子のクローニングについても報告している（昨年度本大会）。

今回我々は、硫黄代謝系と時計機構との関わりを解明する次の段階として、他のシステイン要求性変異株の分生子形成リズムの測定によって*cys-9*株のリズムの異常と硫黄代謝系との関係をさらに解析した。また、チオレドキシン酸化還元系の時計機構への関与の検討を行った。これらより明らかになった結果をもとに、硫黄還元過程と時計機構の関係について報告する。

B 会 場：光合成 1

キーワード：光化学系 I，光化学系 II，らん藻，電子伝達，水分解，酸素発生，光合成装置

第一日目 午前	
開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aB01
9:45	1aB02
10:00	1aB03
10:15	1aB04
10:30	休 憩
10:45	1aB05
11:00	1aB06
11:15	1aB07
11:30	1aB08

第二日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	2aB01
8:45	2aB02
9:00	2aB03
9:15	2aB04
9:30	2aB05
9:45	2aB06
10:00	2aB07
10:15	2aB08
10:30	休 憩
10:45	2aB09
11:00	2aB10
11:15	2aB11
11:30	2aB12

第三日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	3aB01
8:45	3aB02
9:00	3aB03
9:15	3aB04
9:30	休 憩
9:45	3aB05
10:00	3aB06
10:15	3aB07
10:30	3aB08
10:45	3aB09
11:00	3aB10
11:15	3aB11
11:30	3aB12

第一日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	1pB01
13:15	1pB02
13:30	1pB03
13:45	1pB04
14:00	1pB05
14:15	1pB06
14:30	1pB07
14:45	1pB08
15:00	休 憩
15:15	1pB09
15:30	1pB10
15:45	1pB11
16:00	1pB12
16:15	1pB13
16:30	1pB14
16:45	1pB15
17:00	1pB16

第二日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	2pB01
13:15	2pB02
13:30	2pB03
13:45	2pB04
14:00	2pB05
14:15	2pB06
14:30	2pB07
14:45	2pB08
15:00	休 憩
15:15	2pB09
15:30	2pB10
15:45	2pB11
16:00	2pB12

1aB01

緑色硫黄細菌 *Chlorobium* の反応中心：
クロロフィル-670の役割

岩城 雅代・伊藤 繁 (基礎生物研)
大岡宏造・亀井正一郎・松原 央 (阪大・理・生)

■ *Chlorobium tepidum*の反応中心 (RC) には約30分子のバクテリオクロロフィル(BChl) *a*、反応中心BChl *a* ダイマー (P840)、4Fe-4Sクラスターの他に4–6分子のクロロフィル-670 (C670 : 構造はChl *a*と類似)が存在する。我々は分光実験によりC670の役割を調べた。
■ 実験：5ペプチド(core/FeS/*cyt*/FMO/18 kDa)からなるRC複合体を単離し、urea処理によりFeSを破壊した。77 Kでの閃光分光実験、蛍光、室温でのCDスペクトルからC670の分光特性と電子移動を調べた。
■ 結果・考察：urea 処理前はP840* → $P840^+A_0^-$ → $P840^+FeS^-$ → ground state の電子移動が観測された。処理によりFeS が壊れ、逆反応($P840^+A_0^-$ → $P840^T$ →g.s.) が増大した。スペクトルの解析結果から以下の4種のC670の存在が示された (ピーク波長)。
(1) 電子受容体A_0 (671 nm)。 (2) P840近傍に存在して、$P840^+$が作りだす局所電場に応じてelectrochromic shiftする"accessory"分子(660 nm, 667 nm)。 (3) CD(-) activeだが機能がよくわからない分子 (678 nm)。
■ 植物型クロロフィルが細菌のRCで電子受容体になっていることは進化を考える上で興味深い。

1aB02

緑色イオウ細菌クロロビウムの光化学反応中心：
(PscA/cytochrome c_{551})$_2$ 複合体の電荷分離

大岡宏造[1]、角谷佐紀[1]、亀井正一郎[1]、松原央[2]、岩城雅代[3]、伊藤繁[3] ([1]阪大・理・生物、[2]岡山理科大・理・生化、[3]基生研)

緑色イオウ細菌の光化学反応中心は，構造・機能の上で高等植物や藍色細菌の光化学系 I 反応中心との類似性が指摘されている。しかし一方において遺伝子解析から、緑色イオウ細菌の反応中心はホモダイマー構造をとることが推測され、従来のヘテロダイマー型反応中心との違いが注目され始めた。我々は一昨年の本大会においてコア (PscA) タンパク (68 kDa) とチトクロムc_{551} (21 kDa) の 2 種類のみのサブユニットからなる複合体標品 (PscA/cytochrome c_{551})$_2$ についての分光学的諸性質の報告を行った。今回、この標品の電荷分離機構について、さらに詳細な検討を行ったので報告する。

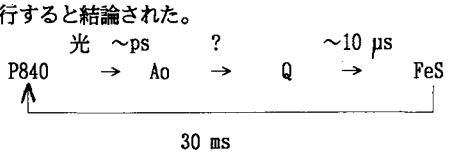
本標品は 27±3 個の BChl *a*、5±1 個の Chl-670、3±1 個のカロテノイドを含み、アンテナサイズとしてはほぼ最小である。定常光照射によるチトクロムc_{551} の酸化活性はすでに消失していた。温度 77 K におけるレーザー閃光照射実験では、初期電荷分離 ($P840^+$Chl-670$^-$) とその電荷再結合による $P840^T$ の形成および減衰が観測された。しかし同時に、837 nm に吸収帯をもつ P840 とは異なる BChl *a* にもトリプレットを生じることが判明した。蛍光測定からは P840 と BChl-837 は互いにエネルギーのやりとりをしていることが示唆された。

1aB03

緑色硫黄細菌Chlorobium の反応中心：キノンは存在するか？

○伊藤 繁、岩城雅代、大岡宏造[1]、亀井正一郎[1]、松原 央[1]
(基生研、[1]大阪大・理・生物)

緑色硫黄細菌では、①反応中心標品のキノンが同定出来ない、②電子受容体クロロフィルAoの再酸化は0.5nsと遅くFeSの吸収変化のみが観測される一方、③低温光照射でキノン様ENDOR信号が見られる事が報告され、キノンの存在、機能についてまだ明確でない。使用された反応中心の活性についての疑問も残る。我々は5サブユニットからなる高活性なChlorbium tepidum反応中心標品を用いて、キノンの反応を検討した。
● 実験。 532nm,10nsのレーザ光照射後、分解能 3.5nsの分光、10usのＥＳＲにより4-280Kでの時間分解スペクトルを解析した。
●結果。 ①77Kでの400-500nm領域の時間分解吸収スペクトルはP840以外の成分が1μs-1msの時間でP840+に電子を渡す事なく変化する事を示した。しかしこれがキノンか鉄硫黄かの同定は困難であった。P840+はもっと遅く30ms以上の半減期を示した。
② g=2付近のラジカル信号の時間依存性をとると、4Kで３種類（各々半減期10μs程度(a), 0.4 ms(b), 25ms(c)）の信号が見られた。aはspin間相互作用を示す複雑なスペクトルを与えP840+Q-状態に対応すると思われる、b,cはP840+FeS-信号と同定された。３種の信号はは4-140Kで観測された。これらの結果から低温で以下の反応が進行すると結論された。



1aB04

光還元されるFe-Sセンターを有する*Heliobacillus mobilis* の光化学反応中心複合体

赤池光博、楠元範明[1]、服部明彦、桜井英博[1]、井上和仁（神奈川大・理・応用生物、[1]早稲田大・教育・生物）

光合成細菌ヘリオバクテリアは鉄硫黄型の反応中心を持つ。しかし、ヘリオバクテリアの反応中心は酸素に対して極端に不安定で、いまだ光還元される鉄硫黄センターを保持した反応中心複合体の単離精製法が確立していない。このため、その構造と機能についてはいまだ不明な点が多い。我々は今回、反応中心の単離精製の全過程で嫌気性を保つよう細心の注意を払うことにより、光還元される鉄硫黄センターを有する *Heliobacillus mobilis* の光化学反応中心複合体を単離精製し、液体ヘリウム温度での ESR 測定と、その構成ペプチドの解析を行ったので報告する。

菌体をバイオネブライザーで破壊後、膜画分から反応中心を界面活性剤 TritonX-100 によって可溶化し、しょ糖密度勾配遠心によって単離精製した。作業はすべて酸素濃度 0.3% 以下で行った。この標品の ESR 測定では g=1.87 付近に光還元される Fe-S と思われる成分が検出された。また、この標品は約10種類のポリペプチドから構成され、このうち47、42kDa ペプチドがシステイン修飾剤でラベルされ、18kDa がヘム染色された。

1aB05

水銀処理によって特異的に破壊された鉄硫黄センターBの機能的再構成条件の再検討

篠崎忠治、楠元範明[1]、服部明彦、桜井英博[1]、井上和仁（神奈川大・理・応用生物、[1]早稲田大・教育・生物）

塩化第二水銀処理によって光化学系Ⅰ(PSI)の電子受容体鉄硫黄センターのうちF_Bのみを特異的に破壊することができる。F_Bの破壊に伴ってNADP$^+$光還元活性は失われるが、閃光照射後の電荷の再結合速度（室温、$t_{1/2}$～35ms）は変わらない。F_Bが特異的に破壊されたPSIを嫌気下でメルカプトエタノール、$FeCl_3$、Na_2SとインキュベートすることによってESR的にF_Bを再構成できることは既に報告した。Mg^{2+}を含まない溶液中での再構成ではNADP$^+$光還元活性の回復は起こらないが、Mg^{2+}存在下での再構成ではNADP$^+$光還元活性の回復がある程度起こる。しかし、ESR測定から見積もられたF_Bの再構成収率に比べて活性の回復は低く、再現性にも乏しい。そこで、より高いNADP$^+$光還元活性の回復が得られるような、再構成法を確立するために、再構成条件の再検討を行った。未処理PSIジギトニン粒子は再構成反応液と嫌気下、18℃で一晩インキュベートしただけでもNADP$^+$光還元活性がかなり低下したが、このとき、鉄硫黄センターの破壊は見られなかった。このことは、鉄硫黄センターの破壊以外のPSIの変性が、現在用いている再構成条件下では起こっていることを示唆しており、変性を防ぐための条件の再検討の必要性を示している。

1aB06

葉緑体にコードされた新しい系Ⅰサブユニット

高橋裕一郎、E. Boudreau[1]、M. Turmel[1]、J.-D. Rochaix[2]（岡山大・自然科学、[1]Laval大・生化学、[2]Geneva大・分子生物）

タバコやゼニゴケの葉緑体ゲノムの読み取り枠orf184は、これまでに調べられた光合成を行うすべての植物の葉緑体ゲノムに保存されている。しかし、その発現は確認されておらず、機能も不明である。本研究では、葉緑体形質転換系が確立している緑藻クラミドモナス（*Chlamydomonas reinhardtii*）のorf184に相当する読み取り枠の一部を大腸菌に大量発現させ、抗体を作成した。

この抗体を利用してクラミドモナス野生株の全細胞たんぱくのウェスタン分析を行うと、20k付近に強いシグナルが検出され、このorfはたんぱくに翻訳され細胞に蓄積されていることが分かった。さらに、チラコイド膜を界面活性剤で可溶化して精製した系Ⅰ複合体画分にこのたんぱくが存在することから、これまでに報告されていない新しい系Ⅰ複合体の構成サブユニットであると結論した。

1aB07

光化学系Ⅰ反応中心に結合した15シス-β-カロテンの検出

Bialek-Bylka, Grazyna[1,2]・槍山哲夫[3]・湯本健司[3]・小山泰[1]（[1]関西学院大・理／[2]ポズナン工科大、[3]埼玉大・理・生化）

光合成系のカロテノイドは光保護作用と補助集光作用という2つの役割を荷っている。紅色光合成細菌の場合、光保護作用がより重要であると思われる光反応中心(RC)では15シス構造が、補助集光作用がより重要であると考えられるアンテナ複合体では全トランス構造が自然選択されている[1]。最近、ほうれん草の光化学系(PS) II RCに結合したβ-カロテンも、15シス構造をとることが明らかにされた[2]。そこで我々は、光化学系Ⅰ反応中心に結合したβ-カロテンについて調べた。

完全な暗所・低温(-4℃)で光化学系Ⅰ反応中心からβ-カロテンを抽出し、2次元検出器を用いてHPLC分析を行いつつ、各成分の吸収スペクトルを測定した。検出された成分は主として全トランス体であったが、15シス体も第2の成分として検出された。この結果は、光反応中心における15シス構造存在の一般性を強く示唆する。

1. Y. Koyama, J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 9 (1991) 265-280.
2. G. E. Bialek-Bylka, T. Tomo, K. Satoh and Y. Koyama, FEBS Letters, 363 (1995) 137-140.

1aB08

光化学系II酸素発生系蛋白質の集合過程

橋本晶子、山本　泰、Steven M. Theg[1]（岡山大・理・生物、[1]カリフォルニア大・生物科学）

*In vitro*合成させた酸素発生系蛋白質(33, 23, 17 kDa)を単離葉緑体へ輸送させると、それらは、包膜、チラコイド膜を通過した後、チラコイド膜の光化学系IIと内腔(ルーメン)に運ばれた。もともと光化学系IIに結合している酸素発生系蛋白質と同様、輸送後、膜に結合したこれらの蛋白質はNaClあるいはNaCl/尿素処理によって、膜から遊離することがわかった。このことは*in vitro*で輸送された蛋白質も生理的に光化学系IIにアセンブリーできることを示している。一方、チラコイドルーメンに輸送された蛋白質はこれらの蛋白質を単離して行った光化学系IIへの再構成実験によって、光化学系IIへアセンブリーする能力をもっていることが示された。さらに、蛋白質が輸送されてアセンブリーが起る過程では33 kDa蛋白質は輸送後、ストロマチラコイドで光化学系IIにアセンブリーするのに対して、23 kDa蛋白質はグラナチラコイドでのみ光化学系IIにアセンブリーすることが示唆された。

1pB01

光合成光阻害に伴う光化学系II蛋白質の分解、架橋および構造変化

山本　泰、中谷悦子、森　宏樹、張　浩明[1]、T. Wydrzynski[1]　（岡山大・理・生物、[1]School of Biol. Sci., Australian National Univ.）

ホウレンソウ光化学系II膜に強光($5000\mu Em^{-2}s^{-1}$)を照射し、光化学系IIの還元側および酸化側の光阻害を起こさせて、それぞれの条件でD1蛋白質とCP43の分解と架橋、膜表在性蛋白質OEC33の膜からの遊離と架橋についてSDS/urea-PAGEとWestern /ECLにより解析した。光化学系II還元側の阻害の条件（未処理の光化学系II膜を使用）では、光照射の結果、D1蛋白質の分解と並行してOEC33の膜からの遊離がみられたが、光化学系II酸化側の阻害（3 mM NH_2OH 処理光化学系II膜を使用）では、短時間（10分）の光照射でみられるD1蛋白質の分解の際にOEC33の膜からの遊離が見られなかった。また電気泳動の結果、OEC33とD1蛋白質またはCP43との架橋産物と思われる高分子量の蛋白質バンドが現れた。光化学系IIの光阻害時に、光化学系IIの還元側阻害と酸化側阻害で、D1蛋白質の損傷を受ける部位が異なることが示されているが、蛋白質の損傷とその後に起こるD1蛋白質の光化学系IIからの離脱過程に関係すると考えられる蛋白質の構造変化について、FTIRによって検討した。

1pB02

光化学系II複合体の電子線三次元構造解析

中里　勝芳[1・2]、石川　尚[2]、真柳　浩太[2]、米倉功治[3]、豊島　近[4]、井上　頼直[2]（[1]新技団さきがけ、[2]理研・光合成科学、[3]東工大、[4]東大分生研）

我々は昨年，非イオン性界面活性剤n-heptylthioglucosideで可溶化した光化学系II複合体を透析法により二次元結晶化する方法を報告した。SDS-PAGE及び免疫化学的分析により、結晶内の系II複合体を構成するサブユニットはCP47、D1、D2、シトクロム *b*-559及び*psb*I蛋白であることが明らかになった。

系II複合体の立体構造情報を得るために、負染色した二次元結晶を電子線に対して60°まで傾斜させ像を撮影した。それらの画像のフーリエ変換から振幅及び位相情報を得ることにより、系II複合体の三次元再構成を行う予定である。

1pB03

光化学系II複合体チューブ状結晶の作製と構造解析

中里　勝芳[1・2]、真柳　浩太[2]、石川　尚[2]、榎並　勲[3]、井上頼直[2]（[1]新技団さきがけ、[2]理研・光合成科学、[3]東理大・理）

チューブ状結晶内でタンパク質が螺旋対象性を保って配列しているならば、チューブ一本のクライオ電子顕微鏡像を用いてタンパク質の三次元構造情報を得ることが可能となる。

我々はn-heptylthioglucosideで可溶化した光化学系II複合体を用い透析法によりチューブ状結晶を作製する方法を見い出した。氷包埋したチューブの電顕像からチューブの直径はほぼ一定であり（45 nm）、長さは1-8 μmであった。SDS-PAGE及び免疫化学的分析により、結晶内で系II複合体を構成するサブユニットはCP47、CP43、D1、D2、cyt*b*-559及び*psb*I蛋白であることが示唆された。氷包埋像及び負染色像の画像解析により得られたチューブ状結晶の特徴について報告する。

1pB04

シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803の新規光化学系IIタンパク質（11kDa，13kDa）の遺伝子のクローニング

加藤浩，池内昌彦（東京大，教養，生物）

われわれはすでにシアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の光化学系I欠失変異株からドデシルマルトシドを用いて，光化学系II複合体を単離し，そのタンパク質組成のほぼ全容を明らかにし，11kDa，13kDaの2つの新規系IIタンパク質を報告した．本研究では，これらのタンパク質の機能を明らかにする目的で，そのN末端アミノ酸配列に基づいてオリゴヌクレオチドを選定し，2段階のPCR法によって遺伝子をクローニングした．遺伝子とタンパク質のN末端アミノ酸配列から，13kDaタンパク質は111アミノ酸残基からなり，分子量12459の酸性，表在性のタンパク質であった．この遺伝子は，データベースにすでに登録されている紅藻(*Porphyra purpurea*)や灰色藻(*Cyanophora paradoxa*)の葉緑体DNA上のORF115-112やアラビドプシスのcDNAクローンと高い相同性が認められ，植物に広く分布している．一方，11kDaタンパク質は，110アミノ酸残基からなり，分子量12218の塩基性，表在性のタンパク質であった．このタンパク質はさらに24残基のシグナル配列をもっており，チラコイド膜の内腔へ輸送されるのではないかと考えられる．データベースには，この11kDaタンパク質と相同なものは認められなかった．現在，これらの遺伝子の機能を明らかにするために遺伝子破壊株を作成中であり，その結果も含めて報告する．

1pB05

HおよびL蛋白質（光合成光化学系Ⅱ複合体）の高収量迅速精製法

手島圭三、橋本信弘、赤堀興造（広島大、総合科学）

光化学系Ⅱ複合体（ＰＳⅡ）の反応中心の近傍には進化上近縁関係にある紅色細菌などの細菌型には存在しない、H、L、n-5.0、n-4.1、K蛋白質などの低分子量蛋白質が存在する。この中で特にHおよびL蛋白質はＰＳⅡのQ_A活性の発現に重要であると言われているが、単離することが難しいために明確な役割は未だ解明されていない。

前回、我々は尿素と界面活性剤存在下でのDEAE-Sephacelイオン交換ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰにより、5.0kDaの二つの蛋白質を含む小画分を得、逆相ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰからLと燐酸化L蛋白質の会合したものであると結論した。しかし、0.04M NaClで溶出される主画分は三つ以上の蛋白質を含み、逆相ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰによる主画分からの蛋白質の単離には成功しなかった。今回、試料の前処理およびイオン交換ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰにおける溶出を4℃ではなく20℃で行ったところ、0.04M NaClで溶出される主画分は三つに分かれ、0.02M NaClで溶出される新たな主画分はSDS-PAGEからほぼHとL蛋白質から成ることがわかった。さらに6M尿素による前処理とTSKgel-Octa-decyl 4PWを用いた逆相ｸﾛﾏﾄｸﾞﾗﾌｨｰによってHとL蛋白質を分離することができた。以上の方法は迅速で高収量である。現在、他の重要なn-5.0、n-4.1およびK蛋白質の分離条件も検討中である。

1pB06

ホウレンソウチラコイド膜のビオラキサンチンデエポキシダーゼの精製

桑原朋彦、高市真一[1]（筑波大・生物、[1]日医大・生物）

ビオラキサンチンデエポキシダーゼ（VDE）はビオラキサンチンをゼアキサンチンに脱エポキシ化し、過剰な光エネルギーを熱エネルギーとして安全に消散させる生理的機能を担う。

VDEをホウレンソウのチラコイド膜から50 mM Tris-HCl (pH 7.5)/1 mM $MgCl_2$/5 mM アスコルビン酸中で超音波処理により抽出し、Mono S, Mono Q, Cherating Superoseを用いたカラムクロマトグラフィーにより精製した。VDE活性は文献に従って測定された [1,2]。精製VDEはSuperose 12を用いたゲルろ過クロマトグラフィーでは36-48 kDaに溶出し、SDS-PAGEでは41kDaのポリペプチドを示した。従って、VDEは溶液中では単量体で存在することが示唆された。

[1] Yamamoto H.Y. and Higashi, R.M. (1978) Arch. Biochem. Biophys. 190, 514-522. [2] Hager, A. and Holocher, K. (1994) Planta 192, 581-589.

1pB07

ユーグレナ光化学系Ⅱの光阻害と光化学系Ⅱ蛋白質の挙動

石川靖夫、[1]山本　泰（岡山大・自然，[1]理・生物）

ユーグレナの光化学系Ⅱ複合体については、その膜表在性蛋白質に関して、組成が高等植物のものとは少し異なること、光化学系Ⅱの膜内在性蛋白質との結合状態が高等植物の場合に比べてルーズであることがこれまでの研究で明らかにされた。また、ユーグレナは、強光を当てると光源から遠ざかる動きを見せ、そのチラコイドを用いた研究において、高等植物よりも光に対して感受性であることが以前から示されていた。このような特徴をもつユーグレナ光化学系Ⅱが強光照射の下で光阻害を受けたとき、反応中心結合蛋白質D1やその他の光化学系Ⅱ構成蛋白質がどのような挙動を示すかを、チラコイドについてSDS/urea-PAGE およびWestern/ECL により検討した。強光を照射すると、高等植物よりも短時間の照射で光化学系Ⅱの還元側および酸化側阻害（Tris処理チラコイドを使用）の両条件において、D1タンパク質が、分子量の高分子側へとシフトすることが観察された。ATP欠乏条件（+apyrase）では、このシフトがほとんど観察されないので、恐らくD1蛋白質のリン酸化によるものと思われる。また、このD1蛋白質の変化はカタラーゼの添加で著しく抑えられた。この結果は、ユーグレナチラコイドの酸素発生系では、OECの光化学系Ⅱへの結合がルーズなために活性酸素分子が生じ、それがD1蛋白質に損傷を与えているという可能性を示している。

1pB08

大量発現系と再構成法を利用したＰＳⅡ-Lタンパク質(*psbL*)の機能解析

小林　徹、杉山立志、小澤真一郎、椎名　隆、豊島喜則（京大、人間・環境学研究科）

ＰＳⅡ複合体構成タンパク質の一つであるLタンパク質(*psbL*発現産物)はＰＳⅡにおけるQAの機能に関与していることは既に報告した。再構成法によりLタンパク質の機能を解析する目的で、大腸菌中での大量発現系を確立し、それ(L *E.coli*)を用いてQA機能の再構成実験を行った結果、L *E.coli*はホウレンソウから単離したLと同様のQA機能回復を示した。このL *E.coli*を用いて行った以下の研究結果①-③について報告する。

① 再構成系に加えるLタンパク質の反応中心に対する相対量を変化させた時のQA活性の回復率の測定から、複合体中のLタンパク質の分子数を推定した。

② 蔗糖密度勾配遠心法により、再構成された複合体をそれ以外の成分から分離し、再構成複合体に結合したキノン(PQ-9)分子数を決定して、PQ-9の複合体への再結合性に対するLタンパク質の関与を調べた。その結果とQA活性を比較し、QA活性能に対するLの作用機構を明らかにした。

③ 大腸菌での発現系を用いて、発現プラスミドベクター中に変異を導入し、Lタンパク質中のアミノ酸を欠失もしくはタンパク質全領域にわたる部位指定置換変異体を10種作成した。これらの変異体を用いて、再構成法によりQA機能回復に関与する領域を調べた。

1pB09

光化学系II阻害剤PNO8によるD1タンパク質切断は光照射によりトリガーされる

中島芳浩[1,2]、吉田茂男[2]、井上頼直[1]、小野高明[1]、
（理研・[1]光合成科学・[2]植物機能、）

光合成光化学系IIのD1タンパク質は、光照射により特異的に損傷を受け、系II還元側のQ_B部位で選択的に切断された後、分解されることが知られている。以前我々は、フロログルシノール骨格を有する系II阻害剤であるPNO8 (*N*-octyl-3-nitro-2,4,6-trihydroxybenz-amide)がQ_B部位に結合すると、完全暗所でもD1タンパク質の選択的切断が起こることを見い出した。

本研究では、このPNO8依存性D1切断の機構解明を目的とし、D1切断におよぼす光の効果について検討した。ホウレンソウから単離した系II膜断片を短時間前照射した後、暗所でPNO8を添加すると、PNO8によるD1の切断が著しく促進されることが明かとなった。この促進効果はチラコイド膜、系IIコア複合体でも認められた。前照射効果は暗所で徐々に減衰し、半減期は25℃で約1時間であった。更に、光強度ついて検討したところ、促進効果は酸素発生の飽和に必要な強度の約10%で飽和した。以上の結果より、PNO8は、前照射によって生じたある特定な状態のD1タンパク質のみを切断することが示唆された。

1pB10

通過ペプチドをもったD1タンパク質の単離葉緑体への輸送とD1部分のPSIIコア複合体への組み込み

呉　国江、渡辺　昭（東京大・院・理系・生物科学）

D1タンパク質の代謝回転機構を解析するために、我々は、RuBisCO小サブユニットの通過ペプチドを持ったD1タンパク質を*in vitro* で発現させ、これを単離葉緑体へ輸送する実験系を確立した（95年度年会）。

本研究では、輸送後の葉緑体からPSⅡ粒子を調製し、*n*–dodecyl β–D–maltosideで可溶化して、PSⅡコア複合体を精製し、また、チラコイドのトリプシン限定分解を行うことによって、チラコイド膜に移行したキメラD1タンパク質が、本来のD1タンパク質と同じ膜貫通構造をとってPSⅡ複合体に組み込まれていることが確認された。さらに、脱共役剤（CCCP、Nigericin、Valinomycin.）と、アジ化ナトリウムの存在下で葉緑体への輸送実験を行った結果、D1タンパク質のチラコイド膜への移行が、チラコイド膜のプロトン勾配やSecAタンパク質の働きには依存しないことが明らかになった。

1pB11

活性酸素による光化学系Ⅱ D1蛋白質切断の温度依存性

岡田克彦、山本直樹、徳富（宮尾）光恵（農水省・生物研）

光化学系 Ⅱ (PSII) を強光にさらすとD1蛋白質は特異的断片に切断される。PSII を過酸化水素・一重項酸素などの活性酸素で処理すると強光照射下と同様にD1蛋白質が切断されることから、強光照射によるD1蛋白質の切断は活性酸素の作用による化学的な切断である可能性を報告してきた。一方、強光照射による切断は顕著な温度依存性を示すことが知られており、これがプロテアーゼの関与を示す根拠と考えられている。本研究では、活性酸素によるD1蛋白質の切断の温度依存性を調べ、プロテアーゼの関与を再検討した。

活性酸素による切断も温度に依存し、0℃で活性酸素処理を施すとD1蛋白質断片の生成量は過酸化水素処理の場合25℃の約2/3、一重項酸素の場合約1/3に低下した。また、0℃で活性酸素処理を施した標品を25℃で静置すると、D1蛋白質の断片が徐々に増加した。過酸化水素処理の場合、25℃での断片の増加はわずかであったが、一重項酸素処理の場合、約30分間で25℃で処理を行った場合とほぼ等量の断片が生成した。一方、25℃で処理を施したのち引き続き25℃で静置した場合には、断片量は増大しなかった。

以上の結果から、強光照射下でのD1蛋白質切断の温度依存性は必ずしもプロテアーゼの関与を支持するものではなく、活性酸素による蛋白質切断の温度依存性を反映している可能性が示唆された。

1pB12

In vitro 翻訳系を用いたエンドウD1蛋白質合成の光制御機構の解析

黒田洋詩、小橋久美子[1]、佐藤公行[1,2]（岡山大・自然科学、[1]理・生物、[2]基生研）

高等植物や藻類において、D1蛋白質の合成は光により翻訳段階で制御されている。エンドウ単離葉緑体では、暗所・ATP存在下で翻訳を行わせると、ポリペプチドの伸長は特定の段階で停止し、全長の蛋白質合成のためには光合成電子伝達反応の進行により形成される何らかの因子が必要であることが示されている（1995年度植物学会年会発表）。本研究では、この因子の同定を目標に、以下に示す*in vitro* の解析を行った。

翻訳中のポリソームの結合したチラコイド膜に、エンドウ葉緑体から抽出した翻訳伸長因子等を含むS100画分とアミノ酸等を加え、蛋白質合成を行わせると、明暗両条件下で成熟サイズのD1蛋白質が蓄積した。ところが、このS100画分を10 mMの酸化型グルタチオン(GSSG; E_0', -100mV)で処理すると、単離葉緑体で観察されたD1蛋白質の翻訳中間体が蓄積した。GSSGを透析除去したS100を用いても同様も結果が得られ、また一方、この時の反応液にジチオスレイトール(E_0', -330mV)や2-メルカプトエタノール等の還元剤を添加すると、全長のD1蛋白質の合成能が回復した。以上の結果は、D1蛋白質の翻訳に必要な因子が蛋白質であり、その活性がチオール基の酸化還元により調節されていることを示唆している。

1pB13

D1-ポリペプチドcd-ヘリックス上のグルタミン酸-189における部位特異的変異体の解析

皆川純、小野高明、井上頼直、[1]A.R. Crofts
（理研・光合成科学、[1]Illinois大・生物物理）

私たちは、緑藻*Chlamydomonas reinhardtii*を用い、光合成系II D1-ポリペプチドの189番目のグルタミン酸(E189)の置換体3種類を、intron-free *psbA* 遺伝子を利用した部位特異的変異体導入系を用いて作製した。この残基はlumen側cd-ヘリックスに存在することから、酸素発生部位近傍に位置する可能性が指摘されてきた。光独立栄養条件では、E189Qは野生株と同程度、E189Lは非常に遅く生育したが、E189Dは全く生育しなかった。酸素発生能も光独立栄養生育能と同様の結果を示した。熱発光の解析、単フラッシュ後の蛍光収率の立ち上がりと減衰のキネティクスの解析から、E189QとE189LではScheme Iにおけるk_{-4}の異常に大きな成分が通常の$S_1 Y_Z^+ \leftrightarrows S_2 Y_Z$のものに加えて現れること、E189DではS-stateのturn-overがないことがわかり、この残基が酸素発生に関与しうる位置を占めることが示唆された。

$$S_n Y_Z P^+ \overset{K_3}{\Leftrightarrow} S_n Y_Z^+ P \underset{k_{-4}}{\overset{k_4}{\leftrightarrows}} S_{n+1} Y_Z P \qquad \text{Scheme I}$$

1pB14

アスコルビン酸の光化学系IIへの電子供与

真野純一，浅田浩二 （京都大・食研）

アスコルビン酸（AsA）は葉緑体ストロマで活性酸素消去に中心的役割をはたすが，チラコイド内腔での機能は明らかでない。本研究ではH_2Oオキシダーゼが阻害される条件でのAsAからPSIIへの電子供与を証明した。

ホウレンソウチラコイド膜のChl蛍光の解析から，qN=0.59の時，ΔF/Fm'は5 mM AsAによりpH 8では変化しなかったが，pH 4, nigericin共存下では約30秒で5倍に増大し，同時にFvが上昇した。即ちpH 4でAsAからPSIIへの電子供与により電子伝達が促進された。Fv/Fmで評価したQ_A還元能のAsAによる増大はpH 4で90%, pH 4.5以上では5%以下であった。トリス処理するとpH 8でもAsA添加後約10秒でFvとΔF/Fm'が増大した。即ちAsAはpH 8でも膜を透過するが，H_2Oを酸化するPSIIでは光酸化されない。モノデヒドロアスコルビン酸（MDA)レダクターゼ+NADPHにより膜の外側のMDAを消去すると，MDAの光生成は検出されないが，トリス処理すると，レダクターゼが接触できない内腔で，電子伝達に依存したMDA生成が観測された。

ストロマには10-20 mMのAsAが含まれており，強光下でΔpHが形成されH_2Oオキシダーゼ活性が抑制されたときAsAが生理的電子供与体となる可能性が示唆された。

1pB15

ヤブガラシの光合成器官の熱耐性に関する研究

羅烈紅、山下 巍[1]（筑波大・バイオシステム、[1]筑波大・生物）

高等植物の熱失活は酸素発生系に存在する3種類の表在性タンパク質（33kDa、24kDa、18kDa）及び4原子のMnの反応中心からの解離と密接に関連している。しかし、これらの研究は、ほとんどホウレンソウを材料としたもので、他の耐熱性高等植物を用いた研究は少ない。私達は、様々な植物の葉のクロロフィル蛍光期誘導期現象を指標として耐熱性植物を探索したところ、約40℃で熱失活するホウレンソウと異なり、50℃でもFv/Fmが低下しない蔓性ヤブガラシ（*Cayratia*）を見出した。また、調製した葉緑体では、ホウレンソウで40℃、ヤブガラシでは47℃で熱失活が見られた。そこで、本研究ではヤブガラシの光合成耐熱性機構解明の第一歩として、ホウレンソウとヤブガラシの葉葉緑体及び光化学系II膜の熱抵抗性を、主に45℃と50℃の熱処理で比較して調べた。

ヤブガラシの葉を45℃で熱処理した後、葉から単離した葉緑体は、熱処理してない葉から単離した葉緑体を熱処理したものより、酸素発生能が約25%高かった。一方、ホウレンソウでは、ヤブガラシと逆に、葉を熱処理してから単離した葉緑体の酸素発生能が著しく失活していた。この結果、ヤブガラシの葉の細胞質中に、耐熱性に関与する成分の存在が推定された。

また、単離した光化学系II膜を50℃で熱処理すると、ホウレンソウでは、酸素発生能が9・3%、Mn含量が50%以下に下がった。一方、ヤブガラシでは、酸素発生能は34%、Mn含量が76%も保持されていた。同様に、耐熱性のヤブガラシの33-kDa タンパク質の熱失活による解離は、耐熱性の低いホウレンソウのものより少ない事が確認された。

1pB16

光化学系IIでのベンゾキノン誘導体の還元反応－pHおよび温度依存性

岡本ゆう子、菓子野康浩、小池裕幸、佐藤和彦（姫路工大・理・生命）

私たちは光化学系II Q_B部位における電子伝達の具体的な反応様式を解明するために、プラストキノンのアナログとしてベンゾキノンのメチル基および塩素基置換体存在下での酸素発生反応の解析を行った。その結果、ベンゾキノンはQ_BとPQのふたつの部位で電子を受け取ることや最大反応速度の測定法を明らかにした。本大会ではこの2カ所での反応のpHと温度の影響を調べたので、報告する。

好熱性ラン色細菌*Synehcococcus vulcanus*のチラコイド膜を界面活性剤*n*-heptyl-β-D-thioglucosideで処理して得た系II標品を材料とした。Q_BおよびPQ部位での*Vmax*、*Km*のpH依存性からふたつの部位でのキノンの親和性および還元反応に影響を与える物質のpKaを推定することができた。また、温度の影響を調べることにより、この部位での電子伝達反応における活性化エネルギーおよび熱力学的諸エネルギーの値を得ることができた。活性化エネルギーは16°Cに特異点を持ち、この温度を境にしてその値が大きく変化した。これまでにも他の方法での測定により16°Cに特異点があることが報告されている。チラコイド膜の相転移温度は約30°Cなので、これとは別の変化が16℃で起こることが示唆された。

2aB01

光化学系II反応中心よりカロチノイド色素の選択的抽出とその役割

鞆　達也[1,2], 岩城　雅代[1], 小林　正美[3], 三室　守[1], 伊藤　繁[1], 佐藤　公行[1,2]　([1]基生研, [2]岡山大・理, [3]筑波大)

単離された光化学系II反応中心は、Chl、Car、Pheo分子をそれぞれ6：2：2の比で保持している。この色素比は紅色光合成細菌のそれ（4：1：2）とは異なっており、光化学系IIに余分に含まれるこれら色素の役割を解明する目的で、有機溶媒（エーテル）処理による選択的な抽出を試みた。その結果、エーテルの水飽和度を変化させ処理することにより、反応中心当たりのβ-Carを2，1，0分子含む標品を活性を保持したままで調整することが可能になった。一方、この条件下でChlの分子数は5分子まで減少したが4以下に減少することはなかった。β-Carの抽出に関しては、吸収スペクトルや蛍光励起スペクトルの測定により、その選択性が認められた。またこのCarの数の異なる標品に対して光処理を行うとCarの数に対応してChlの光退色の速度に差が観測され、またCarの存在しない標品は、光照射により活性が著しく減少した。これらの実験結果に基づき光化学系II反応中心に含まれる色素の存在状態と機能について考察する。

2aB02

光合成アンテナ色素ケトカロテノイドの蛍光特性

三室　守、[1]山野由美子、[1]伊藤允好、[2]菊地浩人、[3]長岡伸一（基生研、[1]神戸薬大、[2]日本医大・物理、[3]愛媛大・理）

【目的】黄色植物において光合成系アンテナ色素として機能するカロテノイドは、「８つの共役２重結合にケトカルボニル基が s-*trans* 位で共役しており S_1 状態からの発光が見られる」という共通の特徴を示す。こうした性質の起源（励起緩和過程）を明らかにするため数種のアナログを合成し解析した。

【方法】蛍光は、日立８５０蛍光光度計を用いて２０℃で測定し、感度補正を施した。

【結果】ケト基を６員環でロックしたアナログを合成しその蛍光を測定すると、 s-*trans* 位、s-*cis* 位のどちらも、S_1、S_2のふたつの状態から蛍光を示し、予想と大きく異なっていた。一方、吸収特性では、s-*trans* 位の方が s-*cis* 位に比較して、振動構造が明らかであり、この点も予想と異なっていた。これらの結果について、 s-*trans* 位での共役の場合、ケト基を含むπ電子系の環構造の平面性が大きく壊れ本来の共役よりは弱くなると考えると、S_2 状態からの有意な発光を説明することができる。さらにπ電子系全体の対称性の観点から振電相互作用を含めた議論を行う。

2aB03

光合成光化学系Ⅱ光阻害初期過程における β-Car の役割

黒岩繁樹、勝原弘樹、手島圭三、赤堀興造（広島大・総合科学）

我々は昨年の発表に引き続いて、光化学系Ⅱ（ＰＳⅡ）反応中心複合体において、強光照射の結果として起こる光阻害の初期過程に関して、Q_A光還元活性の減少、機能分子（特に β-カロチン，PQ_A）の損傷、および非ヘム鉄との関係に注目して、PMSF 存在下における赤色光照射実験を行った。

測定試料として、ＰＳⅡの集光性蛋白質を除去し、さらに、Tris処理を行い、水分解系を失活させ光阻害環境を形成させた試料(PSⅡRC)とPSⅡRCよりFe^{2+}を除去した試料（-Fe^{2+}-PSⅡRC）を調製した。光照射は、還元側で生じる阻害のモデル系として、人工電子供与体 Mn^{2+} を加えた条件、酸化側阻害のモデル系として人工電子受容体フェリシアナイドを加えた条件で行った。また、還元側の阻害は酸素存在下で起こり、酸化側の阻害は無酸素条件下でも起こると言われているため、酸素、さらに非ヘム鉄の有無の影響も調べた。

Q_A活性の時間変化はレーザーフラッシュフォトリシス法により、ΔA_{325}の吸光度変化として観測した。このとき観測される半減期100～200 μsの環状電子移動量も測定した。さらに、光照射後の試料を陰イオン交換カラムを通して、系より離脱した機能分子を取り除いた後、ＨＰＬＣにより試料中の各機能分子の定量を行った。

その結果、β-カロチンはMn^{2+}がある場合、反応中心当たり８個中６個が半減期１分以下の半減期で損傷し、残り２個が緩やかに損傷した。このときPQ_Aは６個のβ-カロチンがほぼ破壊された後、離脱を開始した。また、β-カロチンは、環状電子移動量とも密接な関係があり、光阻害時に電荷の緩衝剤的機能を持つ可能性が示唆された。

2aB04

光合成系IIにおけるアクセサリクロロフィルの分子相互作用

野口　巧、井上　頼直（理研・光合成科学）

光合成系IIの反応中心中には４分子のアクセサリクロロフィルが存在していると考えられているが、それらの結合位置や相互作用、系IIにおける役割については明らかとなっていない。本研究ではMn除去した系II膜標品において、特定のアクセサリクロロフィルがP680への電子供与体として働くことを利用し、その光誘起フーリエ変換赤外スペクトル(FTIR)を測定し、反応中心蛋白質内での構造及び相互作用を調べた。得られたスペクトルには、1736cm^{-1}及び1684cm^{-1}に、それぞれカルボメトキシ及びケトC=O伸縮振動が、また1614cm^{-1}にマクロサイクルC=C振動が観測された。これらの振動数から、このアクセサリクロロフィルは相互作用のないカルボメトキシC=Oと、水素結合しているか高い極性環境下にあるケトC=Oを持ち、５配位構造をとって存在していることが明らかとなった。

2aB05

光合成細菌 *Rhodobacter sphaeroides* における *puf* オペロンのトランス因子(SPB)遺伝子近傍の塩基配列の決定と解析

溝口寛、増田建、西村浩二、島田裕士[1]、太田啓之、塩井祐三、高宮建一郎（東工大・生命理工、[1]キリン基盤技術研究所）

これまで我々は、紅色非イオウ細菌 *Rhodobacter sphaeroides* の *puf* オペロンのトランス因子(SPB)の精製およびクローニングについての報告を行い、SPB がロイシンジッパー様のモチーフを持ち、光照射によって *puf* オペロン発現のリプレッサーとして働くことを明らかにした。*spb* 遺伝子は、*Rhodobacter capsulatus* において、helix-turn-helix モチーフを持ち、*puf* および *puh* オペロン発現のアクティベータとして働く *hvrA* 遺伝子と約50%の相同性を有していた。今回我々は *R. sphaeroides* の *spb* 遺伝子の近傍の塩基配列を決定した。

その結果、*spb*遺伝子は *R. capsulatus* の *hvrA* に相当する領域に位置していた。また *spb* の下流域3.6kbp の全塩基配列の決定を行ったところ、3 つの *orf* が存在していた。データベースの検索の結果、2 つの *orf* は *R. capsulatus* の *hvrA* の下流に位置する *orf5*、*ahcY* と高い相同性を示した。*ahcY* は *R. capsulatus* のバクテリオクロロフィル生合成に関与していることが報告されているが、*orf5* の機能については未知であり、今後の検討を必要とする。また 3 つめの *orf* は *E. coli* のリポ多糖の生合成に関与する glycosyl transferase の遺伝子 *rfaI*、*rfaJ* のコンセンサス配列と有意な相同性を示した。しかしながら *R. sphaeroides* では、*R. capsulatus* の *hvrA* の下流に位置し、*orf5* と *ahcY* の光応答性に関与する転写因子である *hvrB* に対応する *orf* は見出されなかった。このため *R. sphaeroides* ではこれらの遺伝子の光による発現制御が *R. capsulatus* とは異なることが考えられ、現在これら 3 つの遺伝子の発現様式について解析中である。

2aB06

光合成細菌のDMSO還元系遺伝子の転写活性化因子

○宇治家武史　山本勇　佐藤敏生　（広島大・理・生物科学）

光合成細菌*Rhodobacter sphaeroides* f. sp. *denitrificans*のDMSO還元系遺伝子*dmsCBA*の上流には、細菌の情報伝達を担う二成分転写制御系のDNA結合因子であるOmpRなどと相同なタンパク質DmsRの遺伝子dmsRがあることを報告した。今回DmsRタンパク質の性質をさらに調べた。

自殺プラスミドpJP5603を用いて作成した*dmsR*変異株ではDMSO還元酵素(DmsA)が合成されない。一方、*dmsCBA*のプロモーター領域を含む89bpのDNAフラグメントを用いたgel-shift assayにより、DMSO存在下で培養した光合成細菌には、この領域とより多く結合するタンパク質が見つかった。*dmsR*を発現ベクターpKK223-3に組み込み大腸菌での発現を試みたところ大腸菌で発現したDmsRもgel-shift assayで上記と同じDNAフラグメンと結合した。この結果からDmsRはDMSO存在の情報を受けてdmsCBAの転写を活性化するトランス因子と考えた。現在DmsRタンパク質の活性化、不活性化の機構等を検討している。

2aB07

遺伝子タギングを利用したラン藻*Plectonema boryanum*の変異導入系の構築

高橋康弘、道井貴子、明石哲行[1]、藤田祐一[1]　（大阪大・理・生物、[1]大阪大・蛋白研）

ラン藻*Plectonema boryanum*は光合成独立栄養条件に加えて、完全暗所でも従属栄養的に生育でき、かつ電気穿孔法による形質転換が可能なため、種々の生理機能（光合成、呼吸、色素合成）に対する遺伝学的解析にきわめて有用である。私たちは、タギングによる変異体の作製を目的として、プラスミドpTAF10（*neo* 遺伝子とΩ断片を含むpUC12誘導体）を構築した。pTAF10に*P. boryanum*のDNA断片を繋いで細胞に導入すると、相同組換によりプラスミド全体が染色体に組み込まれ、遺伝子の挿入失活や下流遺伝子の転写阻害が期待できる。その後適当な制限酵素で切り出せば、隣接領域をクローニングすることも簡便である。このプラスミドの有用性を検討するために、*chlL*（光非依存性Pchlide還元酵素のサブユニット）遺伝子の3' 側領域を繋いで細胞内に導入し、予想通りプラスミド全体が染色体の*chlL*領域に組み込まれた変異体を得た。この変異体は*chlL*遺伝子の部分2倍体（一方は完全な遺伝子）であるにも拘わらず、*chlL*遺伝子破壊株と同じ形質(暗下Pchlideの蓄積)を示すことから、Ω断片内の転写終結配列が下流遺伝子の発現に対して阻害的に機能していることを確認した。*P. boryanum* DNAの*Sau* 3A部分分解物をpTAF10に繋いで細胞内に導入し、種々の生育条件下でコロニーの蛍光や色（色素合成系？）と明暗所での生育能（エネルギー代謝？）を指標にスクリーニングを行い、現在数十種類の変異体を得ている。

2aB08

好酸性細菌 Acidiphilium 属における光合成遺伝子の検索

永島賢治、嶋田敬三、松浦克美、平石 明[1]、若尾紀夫[2]（都立大理・生物、[1]コニシ(株)環境バイオ研、[2]岩手大・農・応用生物）

絶対好気性でありながら紅色細菌型の光合成装置を持ついわゆる好気性光合成細菌は、通常の紅色細菌に較べバクテリオクロロフィル(BChl)含量の少ないことから、進化の過程において光合成能を失いつつある細菌群である可能性も考えられている。

好気性好酸性菌として知られる Acidiphilium属においては、現在認められている７種の内５種に BChlが見出されているが、その含量には大きな差がある。我々はこれらの種及びいくつかの未記載種における光合成遺伝子の有無あるいは変化の可能性を調べるために反応中心タンパク遺伝子に対するプローブを用いて Acidiphilium 属各株を検索した。その結果、反応中心のＬおよびＭサブユニットに対するプローブにより７株において光合成遺伝子がＰＣＲ法により増幅された。これらの塩基配列は互いに異種とは思われないほど高い相同性を示し、またこれまで知られてきた通常の紅色細菌のものとも高い相同性を示した。このことは BChl含量が微量のものでも少なくとも反応中心遺伝子は機能しうるものを持っており BChlの寡多は構造遺伝子以外のものに起因することを示唆する。またこの好酸性細菌群では反応中心タンパクの変化を小さくする何らかの選択圧がかかっている可能性も示された。

2aB09

クロロフィルaとbを持つ外洋性ピコ植物プランクトンの光化学系II集光色素複合体の性質

本庄さおり，大城　香（東海大・海洋・海洋科学）

外洋の亜表層に細胞の直径が2μm以下の単細胞藻類（ピコ植物プランクトン）が数多く生息がすることが明らかになっているが，その多くは生息場所の強度・波長ともに限られた光を光合成に利用するための集光性色素系を発達させていることが示唆されている．我々が日本近海の黒潮海域から分離したクロロフィルaとbを主な光合成色素として持つピコ植物プランクトンは直径1μm以下でカップ型の1個の葉緑体を持ち，クロロフィルab比が緑藻や高等植物に比べて低かった（1.2～1.4）．分離株の1つのNIBB8001株のチラコイドからドデシルマルトサイドで可溶化し蔗糖密度勾配遠心法により分離した光化学系II集光色素複合体（LHCII）ホロ複合体は，非変成PAGE上で見かけの分子量約62kDaを示した．ホロ複合体はSDSPAGE上では見かけの分子量が約22kDaのたん白として分離され，ホウレンソウのLHCIIαに対して作られた抗体とは反応しなかった．このLHCII分画は細胞クロロフイルの約45%を含み，クロロフィルab比は約0.8であった．高いクロロフィルb含量が有光層下部の青色から青緑色の波長の光の吸収に有効であることが考えられた．

2aB10

ホウレンソウのジチオスレイトール感受性プロテアーゼのタンパク質分解活性とポリフェノールオキシダーゼ活性

相澤幸子[1]、増田哲也[1]、桑原朋彦[1,2]（[1]筑波大・バイオシステム、[2]筑波大・生物）

ホウレンソウから単離されたジチオスレイトール感受性プロテアーゼ(DSTP)は、最近、ポリフェノールオキシダーゼ(PPO)と同一物であることが明らかになった［1］。このタンパク質はチラコイド内腔に局在するが、生理的な機能は未解明のままである。

ホウレンソウDSTPをチラコイド膜から超音波処理によって抽出し、HiTrap Q Sepharose FF, anti-DSTP IgG-conjugated Sepharose 4B およびSuperose 12カラムにより精製した。精製DSTP標品を阻害試薬で処理した後、PS IIの表在性23-kDaタンパク質を20 kDa断片に分解する活性と、PPO活性（DL-DOPAに依存した酸素吸収活性）を測定した。その結果、0.1% SDSは分解活性に対しては阻害的に、しかし、PPO活性に対しては促進的に作用することを見い出した。この事実は、2つの活性は別々の反応中心による、あるいは、同じ反応中心によるものの酵素の基質選択性がSDSによって変化することを示唆している。

[1] Kuwabara, T. FEBS Lett. 371, 195-198 (1995)

2aB11

緑藻 *Chlorococcum littorale* の光化学系IIの活性に及ぼす高CO_2ストレスの効果

岩崎郁子，藏野憲秀，宮地重遠（（株）海洋バイオテクノロジー研究所，釜石研究所）

高CO_2濃度の培養条件に対して耐性を持つ緑藻 *Chlorococcum littorale* は、空気から40%CO_2へ移行すると光化学系IIの活性が一時的に低下し、やがて回復する(Pesheva et al. 1994 Plant Cell Physiol. 35: 379-387)。この系IIの活性の低下は光阻害が原因の一つと考えられる。そこで高CO_2条件におけるこの細胞の光合成の光エネルギー利用効率の変化を探るため、PAMシステム(パルス変調蛍光計)を用いて測定した。

(1) 40%CO_2へ移行後24時間以内でこの細胞は酸素発生活性が急激に低下し、同時に系II反応中心の第一電子受容体Q_Aの過還元状態を意味するF_mレベルの低下、photochemical quenching (qQ)の値の低下が観察された。量子収率Φ_{II}も空気培養の時の40%以下に低下した。この時系IIの阻害の可能性を示すnon-photochemical quenching (qN)の増加が見られた。

(2) 粗チラコイド膜標品の系IIのDCIP光還元活性は24時間以内で50%残っており、2日目に最低となった。

(3) 4日目頃から(1),(2)の回復が見られ、やがて空気培養のレベルあるいはそれ以上の活性が観察された。

本研究は新エネルギー・産業技術総合開発機構の委託研究『細菌・藻類等利用二酸化炭素固定化・有効利用技術研究開発』の一環としておこなわれたものである。

2aB12

セントポーリア葉の低温障害に伴う光合成失活と特異な蛍光挙動

加藤哲也、尹在吉[1]、安田ゐう子[2]、林孝洋[1]、矢沢進[1]（京都大・理・植物、[1]京都大・農・花卉園芸、[2]京都パストゥール研）

セントポーリアの葉で葉温を急に降下させると瞬時に光合成が停止し，クロロフィル由来の蛍光は20-30秒でF_0レベルまで減衰する。この変化は不可逆で一度低温処理を受けた葉は光合成活性も蛍光も回復しない。最初に起こる出来事は遅延蛍光の減衰で、低温処理の8秒後には最低レベルまで低下し、蛍光の減衰、系I活性の失活がそれに続くが、系II活性はこれらより安定で、数時間後まで活性が保存される。低温処理による蛍光減衰は嫌気条件下でも、DCMUで前処理した葉でも同様に起こる。低温傷害を受けた葉の液体チッソ温度での蛍光収量は無傷葉のそれの20%程度に低下するが、蛍光発光スペクトルは正常葉と同一で、また、色素構成にも変化は見られない。電子顕微鏡による観察では、ストロマラメラの膜構造の崩壊が最初の数秒の間に起こり、グラナラメラの拡張がこれに続いた。低温障害を受けた葉では$P700^+$の還元が著しく遅く、Q_Aが系Iによって酸化されない状況にあると思われる。以上のことから、低温処理でQ_Aと系IIの電子供与体の間に短絡が形成され、蛍光収量の低下をおこすものと推論される。

2pB01

ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002の酸素発生複合体の高温耐性に関与する13-kDaタンパク質

西山佳孝[1]、Dmitry A. LOS[1]、林秀則[2]、村田紀夫[1]
（[1]基生研、[2]愛媛大・理・化学）

酸素発生は、一連の光合成活性のなかで最も高温による失活を受けやすい反応である。我々は、酸素発生系の高温耐性に関与する物質を明らかにするため、ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC 7002のチラコイド膜を生化学的に解析してきた。昨年の本大会では、酸素発生の高温耐性に、単離チラコイド膜に保持される複数の表在性タンパク質が関与し、その一成分としてシトクロム*c*-550が機能することを示した。今回、高温耐性に関与する別のタンパク質成分を新たに単離し同定したので報告する。チラコイド膜を低濃度のTriton X-100で処理し、膜から遊離する成分を種々のカラムクロマトグラフィーに供して分画し、酸素発生の熱安定性を増大させる成分を精製した。その結果、分子量13-kDaのタンパク質が単離された。N末端のアミノ酸配列をもとに、13-kDaタンパク質の遺伝子を同種ラン藻からクローニングした。推定されるアミノ酸配列から、このタンパク質は好熱性ラン藻で見つかっている光化学系II複合体の表在性9-kDaタンパク質と相同であることが判明した。

2pB02

アジドラジカルによるPSII活性の阻害機構

高梨　寿，真野純一，浅田浩二（京都大・食研）

Tris処理PSII膜をAzide存在下で光照射（Azide-光処理）するとAzideの光酸化でアジドラジカル($N_3^{\bullet}$)が生成し、それと共にYzラジカルが減少し、H_2O_2/Mn^{2+}→DCIP光還元活性が失活する[Kawamoto *et al*. (1995) *PCP* 36 : 1121-1129]。この現象は donor side-induced photoinhibition のモデルとなるだけでなく、PSIIの電子伝達機構解明の新たな手掛かりを提供する。ここでは、Azide-光処理によるPSII阻害の阻害分子種とPSIIのターゲット部位を調べた。Azide-光処理の際に生成する$N_3^{\bullet}$量をDMPO-スピントラップESR法により求めた。$N_3^{\bullet}$生成量は電子受容体としてのDMBQ添加で多くなり、同時にDCIP光還元活性の失活も大きくなって$N_3^{\bullet}$が阻害分子種であることが示唆された。一方、Chl蛍光測定からAzide-光処理により阻害されたPSII膜では電子供与体としてDPCを添加してもQ_Aは光還元されなかった。従って$N_3^{\bullet}$はQ_AとQ_B間ではなくYzとQ_A間を阻害することが明らかになった。現在、D1蛋白質の$N_3^{\bullet}$による修飾部位の特定を試みている。

2pB03

生葉での光酸素ストレスのモノデヒドロアスコルビン酸による検出

大野千晶，真野純一，三宅親弘，Ulrich Heber[1]，浅田浩二
（京大・食研，[1]ドイツ Würzburg 大）

葉緑体で光生成した活性酸素は、アスコルビン酸(AsA)によりトラップされ、その1電子酸化物であるモノデヒドロアスコルビン酸 ラジカル(MDA)を生じる（A）。MDAは還元型Fd、MDA レダクターゼで還元される（B）が、A>Bとなる環境条件下ではMDA レベルが上昇することが期待される。MDAは常温でESRを用いて検出できるので、生葉の光酸素ストレスの内在性プローブとしてMDAを検出する方法を確立し、種々の環境条件下でのMDAの消長を調べた。定量には、P700^{+}を内部標準として、MDAのスピン濃度を見積もった。

トウモロコシ葉では、MDAシグナルは暗所では検出されないが、強光照射直後には現れ、10秒程度で消失する。これは、光照射直後には酸素が電子受容体となり活性酸素が生成するが、炭酸固定系が光活性化されると活性酸素の生成が減少することに対応する。様々な処理（Methylviologen、シアンガス、浸漬、強光、乾燥）により、また、老化した葉では、光照射時に観測されるMDAシグナルは大きくなり、（A）の増大または（B）の低下、またはその両者を反映した。このようにMDAの消長から、わずかな光酸素ストレスも感度よく検出することができる。

2pB04

ACTIVE OXYGEN AND MONODEHYDRO-ASCORBATE RADICAL PRODUCTION IN *VICIA FABA* LEAVES AND ISOLATED THYLAKOID MEMBRANES UPON UV-B IRRADIATION

Éva HIDEG[1,2], Junichi MANO[1] and Kozi ASADA[1]
[1]Res. Inst. Food Sci., Kyoto University, Uji, Kyoto and
[2]Inst. Plant Biol, Biol. Res. Cent., Szeged, Hungary

UV-B irradiation of photosynthetic organisms brings about a complex series of reactions resulting in oxidative stress. The primary site of damage is at the photosynthetic apparatus, in photosystem (PS) II. Long term exposure to UV-B results in complete loss of photosynthetic functions and subsequent irreversible changes in membrane structure and pigment composition.

In the present work, increased monodehydroascorbate (MDA) radical production, an endogeneous probe of oxidative stress is demonstrated both in UV-B irradiated thylakoid membranes and broad bean (*Vicia faba*) leaves by EPR spectroscopy. As it was shown earlier, UV-B damaged PS II centers in thylakoid membranes produce hydroxyl radicals as detected by spin trapping EPR spectroscopy. Comparison of the time course of this OH radical production and UV-B induced changes in the kinetics of photoproduction of MDA and its decay suggests increased hydrogen peroxide production in UV-B impaired PS II centers.

These experiments may serve as a model for the understanding of the deleterious effect of increasing solar UV-B radiation on terrestial plants.

2pB05

真核・原核藻類の光化学系II量子収率制御の戦略

遠藤　剛、浅田浩二（京都大・食研）

光合成生物は、光・酸素ストレスによる障害をさけるため、還元力の供給源であるPS IIの量子収率を光環境の変動に依存しすみやかに調整する機構をもつ。PS IIの潜在的量子収率(△F/Fm)の変化は、クロロフィル蛍光の non-photochemical quenching (qN)として観察可能であり、チラコイド膜のpH勾配に依存する"down regulation"(qE)以外に、PS IIとPS Iの光エネルギー分配比を変える、state transition (qT)、光阻害(photoinhibition)にともなうD1タンパクの急速分解(qI)もPS IIの量子収率の調節機構としての側面をもつ。

阻害剤よる方法、およびqNの緩和kineticsの差を利用する方法でqNを分別し、それぞれの制御機構の寄与を見積もった。その結果*Chlamydomonas*では飽和閃光の間欠的照射でqEが、連続光でqTが観察された。高等植物(*Pisum*)では、どちらの照射条件でもqEが見られ、逆に*Synechocystis*では、両条件ともにqTのみが観察された。また*Synechocystis*では暗所でqTが生成し、呼吸基質によるプラストキノンの還元がPS II制御に寄与していることが示唆された。これらの光合成生物のPS II制御戦略の違いが何故生じたのか検討している。

2pB06

トリス処理光化学系II膜の電子伝達反応による高電位型チトクロム*b*559の回復

水澤直樹、宮尾（徳富）光恵[1]、山下巍　（筑波大・生物、[1]農水省・生物研）

私達は、前学会でトリス処理により Mn を除去した光化学系II膜に Mn^{2+}・Ca^{2+} を加え弱光照射（光活性化処理）した際、その初期反応において 活性化前に存在した低電位型チトクロム*b*559のうち約50%が高電位型に回復する事、また、この回復した高電位型チトクロム*b*559が、Mn-クラスターの再構築の際に電子受容体として働く可能性を報告した。本研究では、この高電位型チトクロム*b*559の回復が酸素発生系の光活性化以外の条件においても起こるかどうか調べた。

トリス処理系II膜の弱光処理の際に、光活性化に用いる Mn^{2+} 以外の電子供与体として、NH_2OH、DPC、セミカルバジド、ベンジジン及び I^- をそれぞれ加えてみたところ、NH_2OH、DPC 又はセミカルバジドを加えた系で、Mn^{2+} 添加系に匹敵もしくはそれを上回る高電位型チトクロム*b*559の回復が観察された。 一方、ベンジジンや I^- を加えた系ではその回復は、見られなかった。 これらの事は、光活性化反応における高電位型チトクロム*b*559の回復は Mn の系II反応中心への結合によってではなく、Mn^{2+} を電子供与体とする系IIの電子伝達反応によって起こる事を示唆している。 更に、この高電位型チトクロム*b*559の回復が DCMU では阻害されないが Q_A からの電子受容能のある DCBQ や DBMIB で阻害される事から、Q_A^- の形成が高電位型チトクロム*b*559の回復に重要である事が示唆された。

2pB07

ラット CYP1A1 およびその酵母 NADPH-P450 還元酵素融合酵素のタバコクロロプラストへの輸送と光化学系Ⅰとの相互作用

杉浦美羽[1]、村中俊哉[2]、薮崎義康[2]、大川秀郎[1,3]
（[1]神戸大・自然科学、[2]住友化学・生命研、[3]神戸大・農）

【目的】真核細胞のミクロソーム膜に存在するシトクロムP450モノオキシゲナーゼ系はNADPHを電子供与体とし、FMNとFADを含む NADPH-P450 還元酵素とヘムを持つシトクロム P450 が電子伝達系を構成し、脂溶性化合物に対して一原子酸素添加反応を触媒する。我々はラット CYP1A1 の cDNA、および、その酵母 NADPH-P450 還元酵素との融合酵素の遺伝子をタバコ植物体で発現させ、各々をクロロプラストへ輸送することにより、光化学系Ⅰとの相互作用を検討した。

【方法】バイナリーベクターの CaMV 35S プロモータと NOS ターミネータとの間に rbcS クロロプラスト輸送シグナルとラット CYP1A1 cDNA を結合した、また、同輸送シグナルに CYP1A1 と 酵母 NADPH-P450 還元酵素の融合酵素の遺伝子を結合したバイナリープラスミドを、アグロバクテリウムを介してタバコ植物体に導入した。

【結果】形質転換タバコを作出し、それから調製した粗クロロプラスト画分を用いて 7-エトキシクマリン *O*-脱エチル化活性を測定した。その結果、CYP1A1、および、その融合酵素を発現したタバコは共にコントロールタバコの 3 から 10 倍の高い活性を示した。また、CYP1A1 を発現したタバコから単離したクロロプラスト画分は、光照射下で NADPH 無添加の条件において高い活性を示した。このことから、クロロプラストに輸送した CYP1A1 は光化学系で生成した NADPH を電子供与体とし、フェレドキシン-$NADP^+$ 還元酵素によって還元された結果、基質に対して一原子酸素添加反応を触媒したものと考えられる。

2pB08

ラン藻におけるフェレドキシン遺伝子(*petF*)欠損株の解析

松村智裕、奥原宏明、藤田祐一、長谷俊治
(大阪大・蛋白研)

我々は、トウモロコシに見出される２種類のフェレドキシン(Fd)、FdI(光合成型Fd)とFdIII(非光合成型Fd)の機能特性の違いを、*in vivo*、*in vitro*の両面から解析を行っている。昨年度の本大会において、これら２種のFdをラン藻*Plectonema boryanum*で発現させ、それぞれのFdが[2Fe-2S]クラスターを備えた機能分子として存在することを報告した。今回は、ラン藻の内生Fdが存在しない細胞でFdIとFdIIIの細胞内機能を解析することを目的として、ラン藻のFd遺伝子欠損株の単離を試みた。

まず、*P. boryanum*よりFd遺伝子(*petF*)をクローニングし、その塩基配列を決定した。サザン解析から、*petF*はゲノム中に1コピー存在することが示唆された。*petF*遺伝子の破壊実験を野生株、FdI発現株、FdIII発現株のそれぞれについて行ったところ、FdI発現株でのみ*petF*欠損株が単離できた。この*petF*欠損株は、光独立栄養条件下ではコントロールと同様に生育したが、暗所で従属栄養的に生育することができなかった。これらのことから、FdIは、ラン藻Fdの光合成的な機能は相補するが、非光合成的な機能は相補できないことが示唆された。

2pB09

光合成電子伝達系の最少要求プラストキノン数について

津山孝人、柴田勝、北川恭浩、小林善親
（九大・農・林）

いろいろな被陰条件下（0.3%～70%の環境光）で生育させた樹木葉を用いて、系IIと系Iの間に蓄積する電子プールサイズ（e^-/P700）、$VK_1$2個当りのPQ数（PQ/P700）、Q_AおよびP700の酸化還元状態、光合成活性（葉の電子伝達速度、CO_2依存O_2発生活性）などの測定を行った。環境光強度の低下とともに、電子プールサイズの減少が観察された。被陰強度3%～70%の範囲においてe^-/P700比とPQ/P700比の間には直線関係があった。しかし、さらに強く被陰（0.3%, 1.5%）した時は、PQ/P700比が増加したが光合成活性は極度に低下した。これらの結果から電子伝達に必要な最少のe^-/P700比およびPQ/P700比は、それぞれ10および3であることが示唆された。光照射にともなうQ_AおよびP700の酸化還元状態は、e^-/P700＝10～15の間で大きく変化した。プールサイズの大きな葉の酸素発生速度および電子伝達速度は高く、また光飽和点は強光側へシフトした。これらの結果は、光化学系IIと光化学系Iの間の電子プールサイズの増加は、両光化学系の量子収率の上昇に寄与し、O_2発生および電子伝達速度を高めることを示している。

2pB10

光合成エネルギー変換反応の性質とストイキオメトリーについて

小林善親、U. Heber（九大・農・林学、Würzburg Univ.）

光合成のエネルギー変換反応におけるストイキオメトリー、すなわちH^+／e、H^+／ＡＴＰ比を明らかにするため、定常状態におけるノンサイクリック電子伝達、サイクリック電子伝達、H^+輸送、ΔH^+、e／O_2比、ＡＴＰ、光強度、量子収率、CO_2固定などの測定を行った。このような測定により、ノンサイクリック電子伝達におけるH^+／e比は3（Fecy存在下では2）、ＡＴＰ合成におけるH^+／ＡＴＰ比は4、サイクリック電子伝達におけるH^+／e比は2～3であることが示唆された。ここでは、チラコイド膜、無傷葉緑体、葉における電子とΔH^+の関係、サイクリック電子伝達、量子収率などの測定結果について化学量論比をもとに考察する。

2pB11

緑藻 *Pediastrum boryanum* におけるプラストシアニンの銅による発現制御

中村真樹，吉崎文則，杉村康知（東邦大・理・生物）

一部のラン藻・緑藻では培地中の銅イオン濃度に依存して，光合成電子伝達系のプラストシアニン（以下 PC と略す）とチトクローム c_6 の両タンパク質が切り替わって発現している．我々は緑藻 *Pediastrum boryanum* において，無細胞翻訳と免疫沈降の実験によって，PC の翻訳可能な mRNA が銅添加細胞には検出されるが銅無添加細胞には見られないことを示した (Nakamura *et al.*, 1992)．PC mRNA の蓄積を直接調べるため，PC cDNA クローンを用いて全 RNA のノーザン分析を行った結果，銅無添加細胞由来の PC mRNA の方が銅添加細胞由来のものよりも変性ゲル中を速く移動することを見出した．また，銅無添加細胞への銅の添加後 60 分間以内に速い RNA バンドが遅いバンドに置き換わった．これらの結果から“大きい”RNA（遅いバンド）は翻訳可能であり，“小さい”RNA（速いバンド）は正常な翻訳に必要な配列を持っていないことが示唆された．

2pB12

緑藻オオハネモの光合成電子伝達系と集光性クロロフィルタンパク質の組成

鈴木孝尚、上村保麿、山崎淳也、山崎武信、加藤栄（東邦大・理・生物）

海産の緑藻オオハネモ葉緑体の大きな特徴は、クロロフィル *b* の含量が相対的に多いことであり、そのクロロフィル *a*/*b* 比は 1.5 で陸上の種子植物の半分にしかすぎない。これは LHC II が多く、系 II の集光能が系 I と比べて大きいことを示唆する。そこで本研究では、オオハネモ葉緑体において、効率よく光合成を進行させるのに必要な系 I と系 II のバランスがどのように保たれているかを検討した。

系 I と系 II の反応中心はいずれも約 700 クロロフィルに 1 の割合で存在していた。チトクローム f や *c*-553 もほぼ同量含まれている。しかしチトクローム *c*-550 は、存在しているとしてもその量は系 II よりはるかに少なかった。系 II は不均一で、アンテナサイズの小さな β センターが多く含まれていた。また界面活性剤でチラコイドを処理し、ゲル電気泳動を行うことにより集光性クロロフィルタンパク質が分離できた。測定された光合成電子伝達系の構成を基に、系 I と系 II の間の機能的バランスを推論する。

3aB01

Parallel Polarization EPR で見た光化学系Ⅱ水分解系

山内　忠彦，三野　広幸，河盛　阿佐子　(関西学院大・理)

光合成光化学系Ⅱ（ＰＳⅡ）内に存在する水分解系は、４個のマンガン原子で構成されるマンガン錯体から成ると考えられ、酸素発生の過程においてその酸化状態によりS_0～S_4の５つの状態を形成する。しかし、S_1状態において通常のＥＰＲ信号は得られていない。

これに対し Dexheimer 等は、通常のＥＰＲとは異なり振動磁場と静磁場の方向を互いに平行な向きに取る Parallel Polarization EPR を用いた測定によりS_1状態における新たな信号を観測した。

我々は、同様に Parallel Polarization EPR を用いることによりS_1信号を観測し、また、S_2Multiline 信号及び g=4.1 信号との相関関係を確認した。また、さらに配向したＰＳⅡサンプルを観測することによりS_2状態において異方性のある信号を観測した。この信号は温度変化の観測を加えることにより励起状態の信号である事が判った。

本会では種々の処理によるS_1信号の観測結果を交えてこの信号の帰属等について議論する。

3aB02

光合成Mn安定化蛋白質の構造解析（２）：アミノ酸置換体による構造、機能解析

元木章裕[1]、臼井美奈[1]、鳥津恒夫[1]、平野昌彦[1]、加藤栄[2]
([1]東レリサーチサンター、[2]東邦大・理・生物)

我々は、好熱性シアノバクテリア*Synechococcus elongatus*を用い、水分解反応に重要な役割を果たしているMn安定化蛋白質(MSP)の構造および機能部位について研究を進めている。昨年度の本大会では、MSPのプロテアーゼに対する反応性を調べ、優先的に分解される領域が存在することを示し、またその領域が構造と機能に重要な役割を果たしている可能性を報告した。本研究では、このプロテアーゼに感受性の高い領域について部位特異的アミノ酸置換体を作製し、結合能と活性におよぼす影響を調べたので報告する。

Val148～Gly163は種々のプロテアーゼで優先的に分解を受け、２次構造予測によるとループを形成し蛋白質の表面に存在することが推定された。我々はこの領域に存在する塩基性アミノ酸を中性アミノ酸に置換した変異体を作製し、その結合と活性を評価した。これらの変異体は光化学系Ⅱ蛋白質複合体(PSII)への結合能を保持しているにも関わらず水分解活性を完全に失っていた。一方、この領域以外の塩基性アミノ酸についても同様なアミノ酸置換体を作製し解析したところ、結合能、活性とも保持していた。このことは、この領域がMnクラスターの近傍に存在し、水分解活性の安定化に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。

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からの委託を受けて実施した。

3aB03

光合成酸素発生系Ｍｎクラスターの機能における塩素イオンの役割 －Ｘ線吸収スペクトルによる解析－

小野高明[1]、野口巧[1]、井上頼直[1]、楠正美[2]、山口博隆[3]
大柳宏之[3]（[1]理研・光合成科学、[2]明大・理工、[3]電総研）

光合成酸素発生には塩素イオンが必須である。熱発光測定、等より塩素イオンの除去による長寿命のS_2が形成と、それに伴うS_2からS_3への遷移の阻害が酸素発生能の壊失の原因であると推定された。S_2の形成に伴いＭｎクラスターの１電子酸化が起こり、その結果、２Ｍｎ（３価／４価）の磁気相互作用に由来するＥＰＲ信号（マルチライン）が観測される。一方、塩素イオンを除去した系Ⅱは光照射によってもマルチライン信号を示さない。塩素イオンが存在しない状態のＭｎクラスターの酸化状態に関する情報は、塩素イオンの作用機作を理解する為に不可欠である。本研究ではＭｎクラスターの電子状態を直接知ることが出来るＸ－線吸収法、特にＫ吸収端近傍構造スペクトル（ＸＡＮＥＳ）の測定より、塩素イオン除去状態におけるＭｎクラスターの酸化状態と、閃光照射による酸化状態の変化を詳しく解析した。暗順応した系ⅡのＫ吸収端エネルギーは6552.1eVであり、酸素発生能を持つＭｎクラスターとほぼ同じであった。この結果は塩素イオンによりクラスターの電子状態がほとんど変化していない事を示しており、塩素イオンの有無はクラスターの構造に大きな影響を与えないと結論された。また、１閃光照射後、Ｋ吸収端エネルギーは約0.7eV高エネルギー側へシフトし、塩素イオン除去下においてもＭｎクラスターが１電子酸化を受けることが直接証明された。

3aB04

Mn 安定化蛋白のリジンとアルギニンの化学修飾

三浦太郎[1,2]、高橋正太郎[1]、加茂政晴[1]、元木章裕[3]、平野昌彦[3]、太田尚孝[1]、井上康則[2]、榎並　勲[1]（[1]東理大・理・生物、２東理大・理工・応生、[3]東レリサーチセンター）

酸素発生に必須なMnクラスターの安定化と機能保持に重要な役割をもつ表在性の33kDa蛋白 (Mn 安定化蛋白) は系II膜蛋白複合体と静電結合および水素結合により結合している。我々は、これまで33kDa蛋白の正・負どちらの表面電荷が膜蛋白との結合に重要であるか、化学修飾法により調べてきた。その結果、①Glu や Asp のカルボキシル基を修飾し33kDa蛋白の負電荷を消失させても、膜蛋白への再結合も酸素発生の再活性化能も全く影響されないが、②Lysのアミノ基を修飾し正電荷を消失させると再結合能も再活性化能も完全に阻害される、事を報告してきた。この結果から、33kDa蛋白のLysの正電荷が膜蛋白への結合に重要であると結論した。しかし、これらの修飾により33kDa蛋白の構造に変化が生じた可能性も残る。そこで、本研究では、まず修飾33kDa蛋白のCDスペクトルを測定してみた。その結果、33kDa蛋白の８個以上のカルボキシル基を修飾してもCDスペクトルはほとんど変化しないが、７個のLysアミノ基を修飾するとCDスペクトルが顕著に変化することが判明した。この事は、Lysが33kDa蛋白の構造維持に重要であることを示している。そこで、正電荷をもつArgも修飾してみた。その結果、33kDa蛋白に存在する６個のArgの内、４個のArgを修飾すると、膜蛋白への再結合も酸素発生の再活性化も完全に阻害された。しかし、Argの修飾ではCDスペクトルはほとんど変化しなかった。これらの結果から、33kDa蛋白のLysやArgが、その蛋白の構造維持や膜蛋白への結合にどのように関与しているかについて討論したいと考えている。

3aB05

キュウリ子葉からの２つの*hemA* cDNAの単離と解析

田中亮一、吉田和市、中屋敷徹[1]、増田建[2]、辻英夫、井口八郎[1]、田中歩（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律速段階は、高等植物においては、glutamyl-tRNA^{Glu}のglutamate 1-semialdehydeへの還元であると考えられている。この反応を触媒する酵素は、*hemA*遺伝子にコードされている。

今回、我々はキュウリ子葉から２つの*hemA*のcDNAクローンを得た。一方の遺伝子（*hemA1*）は、子葉や胚軸といったクロロフィルの合成されている器官で発現しており、このmRNAの蓄積は光によって促進された。もう一方の遺伝子（*hemA2*）の発現はすべての器官にみられ、また、このmRNAの蓄積は、子葉では光によってわずかに増え、また、胚軸では減少した。これらの結果から、*hemA1*の発現はクロロフィル合成を調節し、*hemA2*の発現はクロロフィル以外のポルフィリン化合物の合成の調節に関与しているのではないかと予想される。

3aB06

原子間力顕微鏡による好熱性ラン色細菌のチラコイド膜標品の観察：大気中測定及び液中測定による比較検討

市村　年昭　（工技院・生命工研）

光合成機能の構造面からの解析を目指して、走査型プローブ顕微鏡の応用について検討している。原子間力顕微鏡（ＡＦＭ）は試料を液体中でも観察することが可能で、生体膜のような構造体の形状を計測するのに適する。本研究では、好熱性ラン色細菌 *Synechococcus elongatus* から分離したチラコイド膜標品を種々の条件で基板表面に吸着させ、大気中および緩衝液中でタッピングモードＡＦＭにより観察し、結果を膜表面のフィコビリソームの配列を指標として比較検討した。大気中ＡＦＭ測定の場合は、化学固定した膜試料を基板上に吸着させ水で洗浄後乾燥させた。一方、液中測定では、膜試料を基板に温和な条件で共有結合的に結合させた。測定の結果、大気中の方が液中より分解能は高かったが、液中では測定中に緩衝液を置換し、その前後の差異を観察することが可能になった。例えば、フィコビリソームが解離していく様子が観察できた。現在、よりin vivoに近い環境で観察が可能な液中での分解能を高める条件を検討中である。

3aB07

好熱菌F_1由来α・βサブユニットと葉緑体CF_1由来γサブユニットによるキメラ複合体の性質

久堀　徹、吉田賢右、天野豊己、P.Kroth[1]、H.Strotmann[1]（東工大・資源研、[1]Heinrich-Heine Univ. Düsseldrof, Germany）

葉緑体共役因子(CF_1)は、電子伝達系に連結したチオレドキシン系によってその活性を調節されている。我々は、この調節機構を明らかにするため、調節機構を担っているγサブユニットの大量発現系を構築した。発現したγサブユニットを８Ｍ尿素を用いて可溶化した後に、好熱菌 *Bacillus* PS3 由来のF_1のα・βサブユニットと混合し、透析により尿素を除くことによってキメラ再構成複合体を得た。得られた複合体については、DTT による活性化、酸化剤$CuCl_2$による活性の低下が観察された。以上の結果をもとに、γサブユニットのS-S結合の還元を介した酵素活性の調節機構の実体に関して考察する。

3aB08

ゼンマイ緑色胞子のチラコイド膜内在24-kDa蛋白の単離とその性質

井上　弘，関島聖子，藤田泰輔，蒲池浩之，星名哲[1]，和田敬四郎[1]　（富山大・理・環境，[1]金沢大・理・生物）

ゼンマイ胞子葉緑体からチラコイド膜を分離して，チラコイド膜における蛋白質のリン酸化を調べた．光照射下において，LHCPをはじめ数種の蛋白が強くリン酸化されるが，暗中でもリン酸化される蛋白がいくつか存在する．24-kDa蛋白もその一つである．この蛋白質のリン酸化量は，胞子の発芽とともに減少する．その直接の原因は，発芽とともにチラコイド膜から24-kDa蛋白が消失することにある．この24-kDa蛋白のリン酸化反応の意味を明らかにするために，先ず，その分離・精製を試みた．この蛋白はチラコイド膜に非常に強く結合しているため，チラコイド膜をクロロフォルム・メタノールで脱脂後，SDSで可溶化し，ヒドロキシアパタイトカラムクロマト，逆相クロマト，ゲルろ過クロマトを組み合わせて単離した．Ｎ末端アミノ酸配列分析の結果，78kD Glucose Regulated Proteinに似た部分の存在が認められた．

3aB09

Synechocystis sp. PCC 6803における12 kDa光化学系II表在性蛋白質の検出とその遺伝子のクローニング、欠損変異株の作成及び性質

沈　建仁・井上頼直（理研・光合成科学）

12 kDa蛋白質は、好熱性ラン色細菌ホルミディウムやシネココッカスで見つけられた、光化学系II表在性蛋白質の一つであるが、常温性ラン色細菌で存在するかどうかはまだはっきりしていない。本研究では、常温性ラン色細菌である*Synechocystis* sp. PCC 6803から12 kDa蛋白を検出し、その遺伝子をクローニングしたので、報告する。*Synechocystis* sp. PCC 6803の細胞を超音波で破壊し、高塩処理により可溶性画分を分取し、その中に12 kDa蛋白が含まれていた。この蛋白のN-末端配列を決定し、この情報を用いてその遺伝子をクローニングした。得られた遺伝子(*psb*U)は、131個のアミノ酸をコードしており、その内、最初の36個は成熟タンパクではなくなっており、トランジト・ペプチドであることが分かった。このトランジト・ペプチドは典型的な原核生物型膜通過トランジト・ペプチドの特徴を備えており、本蛋白がチラコイド膜の内側に存在しているというこれまでの結論を裏付ける結果となった。現在、12 kDa蛋白遺伝子を欠損させた変異株を作製しており、その性質を合わせて報告する予定である。

3aB10

クラミドモナスのクロロフィル*b*欠損株の解析

伊藤寿、吉田和市、田中亮一、田中歩　（京大・理・植物）

高等植物や緑藻は光合成色素としてクロロフィル*a*と*b*を持つ。クロロフィル*a*から*b*への変換反応には分子状酸素が使われること以外は、酵素の性質や反応機構などほとんど明らかになっていない。そこでクロロフィル*b*合成酵素の遺伝子の同定を目的として、クラミドモナスを用いてプラスミドを挿入し、クロロフィル*b*欠損株を作成した。

細胞壁を持たない硝酸還元酵素を欠くクラミドモナスと、硝酸還元酵素をコードする遺伝子を含むプラスミドを、グラスビーズとともに攪拌すると、プラスミドが核ＤＮＡにランダムに挿入される。それによってクラミドモナスが硝酸を窒素源として成育できるようになるとともに、プラスミドが挿入された部分の遺伝子が破壊される。このようにしてクロロフィル*b*欠損株を単離し、その解析を行った。

3aB11

クロロフィル*b*からクロロフィル*a*への転換とクロロフィルと蛋白質の会合

大塚達之、伊藤寿、田中歩　（京大・理・植物）

我々は最近単離葉緑体を用いてクロロフィル*b*が7-ハイドロキシメチルクロロフィルを経てクロロフィル*a*に転換されることを明らかにした。この代謝は光化学系の再構築時に重要な役割を果たしていることが想像される。このことを確かめるため、クロロフィル*b*から合成されたクロロフィル*a*がクロロフィル蛋白質複合体へ分配されるのかを単離葉緑体で調べた。

^{14}Cでラベルしたクロロフィライド*b*を葉緑体とインキュベートした後、クロロフィル蛋白質複合体を単離し、取り込まれたクロロフィルを調べた。その結果、クロロフィル*b*は主にLHCIIに、クロロフィル*a*はLHCIIとCP1に取り込まれていた。7-ハイドロキシメチルクロロフィルはどのアポ蛋白質にも取り込まれなかった。このことはクロロフィル*b*はチラコイド膜上で7-ハイドロキシメチルクロロフィルを経てクロロフィル*a*になりCP1に移行したことを示している。

3aB12

イネのクロロフィル*b*欠損株における系Iと系IIの集光能と電子伝達能のバランス

山崎淳也、上村保麿、加藤栄、寺尾富夫[1]（東邦大・理・生物、[1]国際農水センター）

光合成が効率よく進行するためには、系Ⅰと系Ⅱの集光能および電子伝達能のバランスが重要である。クロロフィル b-欠損変異株では、LHC Ⅱの減少による系Ⅱの集光能の低下を、系Ⅱ反応中心を多くすることにより補っていると考えられている。しかしこれにより、強光下では、電子伝達能のバランスが失われ、光阻害を受けやすい情況を作り出す。イネ農林８号から得られた３種類の変異株について閃光あたりの酸素発生量を調べたところ、いずれも系Ⅱセンターの約 50%が電子伝達に不活性であることが見出され、さらにこれらは活性系Ⅱセンターのアンテナとして働いていることが示された。この結果は２つの光化学系は、集光能においても電子伝達能においても、釣り合いがとれていることを示す。従来よく用いられている蛍光誘導期の Fpl と Fm の測定から不活性系Ⅱセンターの割合を求める方法では、20%以下という値が得られた。この方法の問題点についても議論する。

C 会 場：光合成2・窒素代謝

キーワード：窒素代謝，炭酸同化，らん藻，光合成細菌

第一日目 午前	
開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aC01
9:45	1aC02
10:00	1aC03
10:15	1aC04
10:30	休 憩
10:45	1aC05
11:00	1aC06
11:15	1aC07
11:30	1aC08

第二日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	2aC01
8:45	2aC02
9:00	2aC03
9:15	2aC04
9:30	2aC05
9:45	2aC06
10:00	2aC07
10:15	2aC08
10:30	休 憩
10:45	2aC09
11:00	2aC10
11:15	2aC11
11:30	2aC12

第三日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	3aC01
8:45	3aC02
9:00	3aC03
9:15	3aC04
9:30	休 憩
9:45	3aC05
10:00	3aC06
10:15	3aC07
10:30	3aC08
10:45	3aC09
11:00	3aC10

第一日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	1pC01
13:15	1pC02
13:30	1pC03
13:45	1pC04
14:00	1pC05
14:15	1pC06
14:30	1pC07
14:45	1pC08
15:00	休 憩
15:15	1pC09
15:30	1pC10
15:45	1pC11
16:00	1pC12
16:15	1pC13
16:30	1pC14
16:45	1pC15
17:00	1pC16

第二日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	2pC01
13:15	2pC02
13:30	2pC03
13:45	2pC04
14:00	2pC05
14:15	2pC06
14:30	2pC07
14:45	2pC08
15:00	休 憩
15:15	2pC09
15:30	2pC10
15:45	2pC11
16:00	2pC12

1aC01

ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 の亜硝酸イオン特異的能動輸送系

岡村将人、前田真一、小俣達男（名大・農・応用生物科学）

ラン藻は亜硝酸を窒素源として利用することができる。弱酸である亜硝酸は、亜硝酸イオン（NO_2^-）の能動的な輸送と非解離型亜硝酸（HNO_2）の受動的な膜透過の２つの機構により細胞内に吸収されるが、*Synechococcus* PCC7942 においては、ABC 型の硝酸イオン輸送体（以下 NRT と略）が亜硝酸イオンを能動輸送することが知られている。ところが我々は、NRT を欠く変異株が、HNO_2 の受動的膜透過が無視できる条件下（pH9.6、NO_2^- 濃度 100 μM）でも野生株の約 30 % の速度で亜硝酸イオンを取り込むことを見出した。この条件下での亜硝酸イオンの取り込みは、亜硝酸イオン濃度約 100 μM で飽和し、その最大速度は 10 μmol/h/mg Chl で、亜硝酸還元酵素の in vivo での V_{max} 値の 17% であった。また H+-ATPase の阻害剤である DCCD は、pH7.2 での亜硝酸の取り込み（主として HNO_2 の膜透過による）をまったく阻害しなかったが、pH9.6 における亜硝酸イオンの取り込みを完全に阻害した。以上の結果により、*Synechococcus* PCC7942 は NRT 以外にも亜硝酸イオンの能動輸送系（以下 NIT と呼ぶ）を持つことが明らかとなった。NIT の K_m 値は約 20 μM であり、約 1 μM の K_m 値をもつ NRT に比べて基質親和性は低かった。また、NIT の活性は NRT の活性と同様、培地へのアンモニアの添加により可逆的に阻害された。

1aC02

ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC7942 の*nirB* 遺伝子の機能の解析

愛知真木子，鈴木石根，小俣達男（名大・農・応用生物科学）

我々は *Synechococcus* sp. PCC7942 の亜硝酸還元酵素(NiR)の構造遺伝子*nirA* の上流にあり*nirA* と逆向きに転写される*nirB* 遺伝子の機能の解析を進めている．*nirB* は他の遺伝子とオペロンを構成しているが，*nirB* に in frame で欠失を導入するとNiR活性が野生株の３分の１に低下し，この*nirB* 欠失変異株(MB1)にプラスミドベクターを用いて *nirB* を再導入するとNiR活性が回復することから，*NirB*自体がNiRの最大活性の発現に必要であると結論した．さらに，MB1 の *nirA*mRNAの量が野生株の 1.5 倍程度であることから，NirB は転写活性化因子ではないと判断した．NiR は Fe-S クラスターおよびシロヘムをコファクターとして持つ酵素なので，NirBの機能としてはNiRの複合構造の安定化，コファクターの合成の活性化，および複合構造の形成の補助の３つの可能性が考えられた．まず転写阻害剤であるリファンピシンの存在下での NiR活性の低下から *in vivo*におけるNiRの安定性を調べたところ，野生株とMB1の間に差異は見られなかった．次に*E.coli*のシロヘム合成酵素遺伝子をMB1に導入して大量発現させてもNiR活性の上昇はみられなかったが，MB1に*NirA*を大量発現させると NiR活性は野生株と同程度にまで回復した．以上の結果から，NirBはNiRの安定化やシロヘム生合成の活性化に関与するのではなく，NirAポリペプチドに直接作用して NiRのアッセンブリーを補助しているものと推定した．

1aC03

ラン藻におけるグルタミン酸合成酵素の分子生物学的解析

奥原宏明、松村智裕、藤田祐一、長谷俊治
（大阪大・蛋白研）

植物はグルタミン酸合成酵素 (GOGAT) として、フェレドキシン依存型 (Fd-GOGAT) と、ピリジンヌクレオチド依存型 (NADH-GOGAT) を有する。我々は植物における GOGAT アイソザイムの生理的役割を検討するために、遺伝学的解析が容易であるラン藻を用いて研究を行った。

ラン藻 *Plectonema boryanum* の粗抽出液中には両方の GOGAT 活性が検出された。PCR を利用して*P. boryanum* の GOGAT 遺伝子のクローニングを試み、約8.5-kb断片を得た。本断片の塩基配列を決定した結果、植物の NADH-GOGAT の大小二つのドメインと高い相同性を示す、二つのORF(ORF1530、ORF492)を見出した。この内 ORF1530 を欠失させた変異株は、NADH-GOGAT活性を失うことから、ORF1530 が*P. boryanum* の NADH-GOGAT をコードしていると結論した。現在、Fd-GOGAT をコードする遺伝子のクローニングを進めている。

1aC04

ラン藻*Synechocystis* PCC 6803の光混合栄養下での生育におけるグルタミン酸合成酵素の必要性

寺内一姫、池内昌彦、大森正之(東京大・教養・生物)

ラン藻*Synechocystis* PCC 6803は、光独立栄養及び従属栄養下で生育可能で、グルコースによる光混合栄養下では生育はさらに良い。これにEMSで変異原処理を行い光混合栄養下でのみ生育できない変異株を単離した。

突然変異部位を同定するために、*Synechocystis* 6803株のDNAライブラリーから、光混合栄養下での生育を回復させることができるクローンを探し、変異株（PR5）を相補する5.6kbpのDNA断片を得た。その塩基配列を決定したところグルタミン酸合成酵素と思われる遺伝子の一部が含まれていた。遺伝子の残りの部分をコロニーハイブリダイゼーション法により単離し、全塩基配列の決定した。その結果、この遺伝子は全長4668bpで、1556アミノ酸残基からなるフェレドキシン依存型グルタミン酸合成酵素のタンパク質をコードしていることが明らかになった。

さらに抗生物質耐性遺伝子を挿入しこの遺伝子を破壊したところ、光混合栄養下でのみ生育できないというPR5と同じ変異形質が得られた。グルタミン酸合成酵素の突然変異が、光混合栄養下では生育できないという表現型の直接的な原因となっていることが明らかになった。グルタミン酸合成酵素が光合成と従属栄養の代謝の調節に重要な役割を果たしていることが示唆された。

1aC05

亜硫酸の藻類による取り込みとその光合成、ＡＴＰレベルに対する影響

桜井英博、岸田宏幸、持丸真里、降旗　敬（早稲田大、教育、生物）

Ziegler らのグループは、*Chlorella* による亜硫酸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、30秒以内に起こる急激な取り込みとそれに続くゆっくりした取り込みがあると報告している。しかし、[^{3}H] mannitol により細胞膜外の液相を補正すると、初期の急激な取り込みは見られず、取り込みは時間に対してある程度直線的に増加することが判った。亜硫酸取り込みは外液のｐＨに大きく依存し、その初速度はｐＨが低いほど大きかった。取り込みは、細胞内ＡＴＰレベルの低下や、膜 ATPase 阻害剤によっては阻害されなかった。これらの事実は、亜硫酸取り込みは非解離型分子種が膜の脂質層を濃度勾配に従って単純拡散することによって起こるという仮定と矛盾しない。しかし、標識した弱酸による細胞内ｐＨと取り込みの関係の研究からはこの説によっては完全には説明しきれない部分が残る。

亜硫酸取り込み後の藻体を強光照射すると主として PSII が阻害された。上記の仮定が成り立つとすると、「亜硫酸濃度」x「取り込み時間」の積が常に一定の阻害効果を生じるはずであるが、実際は、低濃度・長時間の方が高濃度・短時間のインキュベートよりも阻害効果が高かった。なお、これとは別に、亜硫酸取り込みに伴って細胞内ＡＴＰレベルが急激に低下した。

1aC06

従属栄養硝化細菌*Alcaligenes faecalis* によるヒドロキシルアミンの亜硝酸への酸化

大野泰史、牧野直純、星野芳子、庄子和夫、山中健生（日大・理工・工化）

従属栄養硝化細菌の硝化活動は、細菌一個体の活性は非常に低いが、地球表面全体を考えると数が多いので独立栄養硝化細菌の場合に匹敵するといわれている。しかるに、従属栄養硝化細菌による硝化のメカニズムはほとんどわかっていない。

われわれは*Alcaligenes faecalis* IFO13111におけるNH_2OHの酸化機構を酵素レベルで明らかにすることができた。この細菌のヒドロキシルアミン酸化酵素は非ヘム鉄タンパク質で、NH_2OHをピルビン酸と水素供与体（たとえばアスコルビン酸）の存在下でNO_2^-に酸化する。しかし、この酵素は必要とする水素供与体の20倍量のNO_2^-を生成することからモノオキシゲナーゼとは考えられない。いずれにしても、この細菌のヒドロキシルアミン酸化酵素は*Nitrosomonas europaea* の酵素とは異なる分子形態のものである。

1aC07

Rhodobacter capsulatus の *rnfABC* 産物への分子標識付加と局在性・配向性解析

熊谷浩高、佐伯和彦（阪大・理・生物）

私達は*R.capsulatus* のフェレドキシンI遺伝子周辺の解析によってこの細菌の窒素固定に必須な,しかし既知の*nif*遺伝子とは類似性のない遺伝子群*rnfABC*を見出してきた。予想される一次構造からRnfAとRnfBは膜蛋白質、またRnfBとRnfCは鉄硫黄蛋白質であると考えられ、これらの産物が膜結合型の電子伝達酵素系を構成することが期待された。興味深いことに、最近全ゲノムの塩基配列が決定された非窒素固定菌*Haemophilus influenzae*にも*rnfAB*と極めて相同性の高い連続したORFが見いだされ、類似産物の機能が窒素固定系にとどまらないことを示した。今回これらの*rnf*遺伝子産物の局在性と配向性、ならびに分子標識の付加が活性に与える影響を解析した。

1）RnfA の６ヶ所の親水領域に大腸菌･アルカリ性ホスファターゼ(PhoA)を融合させるキメラ遺伝子を作成し*R.capsulatus*野生株に導入した。導入株の菌体および細胞分画後のPhoA活性の測定、更に抗PhoA抗体を用いたWestern解析を行った結果、Ｃ末端がペリプラズムに存在し、親水領域が膜を挟んで交互に存在すると示唆された。また、*rnfA*破壊株の相補実験から、Ｃ末端へのPhoA融合産物が生理活性を保持することを確認した。

2）RnfB はＮ末端、Ｃ末端に$(His)_6$を付加させるようなキメラ遺伝子を作成し、*rnfB*破壊株への導入による相補実験を行った。結果はＣ末端に付加した物のみが生理活性を保つことを示した。

3）RnfC　はゲノム上の遺伝子を破壊した株を作製した。この遺伝子破壊株に対し、RnfCのＮ末端に$(His)_6$を付加させる融合遺伝子を導入し、産物が生理活性をもつことを確認した。

1aC08

Rhodobacter capsulatus の新規な窒素固定必須遺伝子 *rnfX* および *rnfY* 産物の諸性質

佐伯和彦　　（阪大・理・生物）

生物窒素固定にはニトロゲナーゼ以外にも，この酵素の成熟あるいは還元力の供給に関わる多くの遺伝子産物が必要である．著者らはこれまでに，光合成細菌*R.capsulatus*のフェレドキシン遺伝子*fdxN*の下流に既知の他の細菌の*nif*遺伝子とは類似性を示さない２つの窒素固定遺伝子*rnfXY*が存在することを明らかにしてきた．今回、これらの産物の構造上の特徴に検討を加え、局在・配向性を調べるため遺伝子融合と抗体による解析を行うとともに、活性型の分子標識産物の作製を試みた。

1）RnfX：Ｃ末端側に膜貫通部分となり得る２つの疎水セグメントを持つRnfXについては、Ｃ末端へのLacZおよびPhoA融合蛋白質遺伝子を作製し、*R. capsulatus* 野生株に導入した。菌体レベルではLacZ融合産物のみが活性を示し、細胞分画試料のうち膜画分のみに抗LacZ抗体と反応する融合ポリペプチドが確認されたことから、この蛋白質は膜に結合しＣ末端を細胞質側に露出していることが示された。Ｃ末端に$(His)_6$配列を付加するキメラ遺伝子を作製して*rnfX*破壊株に導入したところ、導入株は野生株と同程度の窒素固定による生育能を示した。

2）RnfY：Ｎ末端に分泌シグナル様配列を持つRnfYについても、Ｃ末端へのLacZおよびPhoA融合蛋白質遺伝子を作製して上記と同様の解析を加えた。菌体および膜画分がPhoA活性を示し、膜画分に抗PhoA抗体と反応する融合ポリペプチドが確認された。RnfY蛋白質は、ペリプラズム側にＣ末端を露出する膜表在蛋白質であることが示唆された。Ｃ末端への$(His)_6$付加体は、野生型産物には劣るものの生理活性を維持していた。

1pC01

CAM 型ｱｲｽﾌﾟﾗﾝﾄ葉緑体のﾋﾟﾙﾋﾞﾝ酸輸送に対する Na^+の効果

是枝 晋, 山下 卓, 金井龍二 (埼玉大・理・分子生物)

ｱｲｽﾌﾟﾗﾝﾄ (*Mesembryanthemum crystallinum*) は高濃度の塩による水ｽﾄﾚｽで C_3 型光合成から CAM (Crassulacean acid metabolism)型光合成へと転換する。このとき CAM 経路関連酵素とともに、葉緑体による光依存性ﾋﾟﾙﾋﾞﾝ酸 (PA) 能動輸送の活性も誘導される（日本植物生理学会 1995 年度年会）。一方、C_4光合成でも葉肉細胞葉緑体が光依存的に PA を取り込むが、C4 種によって、H^+と共輸送する場合と Na^+と共輸送する場合とがあることが知られている。

我々は、ｱｲｽﾌﾟﾗﾝﾄ葉緑体でもこれらのｶﾁｵﾝが PA 能動輸送に関与するかどうかを明らかにするため、CAM 型ｱｲｽﾌﾟﾗﾝﾄから葉緑体を単離し、ｼﾘｺﾝｵｲﾙ層濾過遠心法を用い ^{14}C-PA 取り込みに対するこれらのｶﾁｵﾝの効果を調べた。CAM 型葉緑体に 0.2 mM ^{14}C-PA を与えたところ、暗所での取り込みは少なかったが、光照射により著しく促進され、30 秒間でｽﾄﾛﾏ中の PA 濃度は、外液の 2 から 3.5 倍に達した。また、暗所で ^{14}C-PA 添加と同時に外液中の H^+または Na^+の濃度を上昇させたところ、PA 取り込みに対し前者では効果がなかったが、後者では光照射と同程度に促進した。このことは CAM 型ｱｲｽﾌﾟﾗﾝﾄ葉緑体は PA と Na^+を共輸送する可能性を示唆する。

1pC02

ベンケイソウ型酸代謝のリンゴ酸輸送･脱炭酸系の概日リズム

荒田博行、森永由紀（九大・理・生物）

CAM 植物は、夜間 CO_2 を固定し、リンゴ酸にして液胞にたくわえる。昼間は気孔を閉じて液胞のリンゴ酸を脱炭酸し、カルビン回路による光合成の炭素源としている。CAM の特徴的な一日を周期とするリズムは、昼夜の環境の変化のない恒常条件でも持続する。この概日リズムを形成する機構として現在知られているのは、phosphoenolpyruvate carboxylase（PEP-C）のリン酸化である。CAM 植物は CO_2 のない環境でも、リンゴ酸の脱炭酸により得られる CO_2 を用いて光合成を行い、酸素を発生する。私たちは、*Kalanchoë daigremontiana* の葉を用いて このリンゴ酸に依存した光合成にともなう酸素発生を測り、PEP-C 以外に、リンゴ酸の液胞からの排出、脱炭酸にかかわる過程のどこかが概日リズムによって制御されている可能性があることを、昨年の植物生理学会で示した。リンゴ酸の脱炭酸にかかわる NADP-malic enzyme を *K. daigremontiana* の葉から抽出して活性を測ると日周リズムを示す。しかし、このリズムは、リンゴ酸に依存した光合成のリズムとは対応していない。また、連続明条件で見られるリンゴ酸に依存した光合成のリズムも NADP-malic enzyme の活性のリズムでは説明できない。リンゴ酸輸送系が概日リズムによって制御されている可能性が高い。

1pC03

形質転換植物を用いたC_4光合成関連遺伝子の発現解析

千徳直樹[1,3], 谷口光隆[2], 杉山達夫[2], 石丸健[3], 大杉立[3], 土岐精一[3] ([1]北大・理・生物、[2]名大・農・応用生物、[3]農水省・生物研)

C_4植物では大気中のCO_2はホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ(PEPC)によって捕集される。これまで我々は、トウモロコシのC_4型PEPC遺伝子をタバコに導入し、PEPC活性が2倍に増加し、高温下でも量子収率が低下しない形質転換タバコを作出してきた。本研究では、キビのミトコンドリア型アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(mAspAT)遺伝子およびサイトゾル型AspAT（cAspAT)遺伝子を上記のPEPC高発現タバコおよび非形質転換タバコ（SR-1）へ導入することを試みた。ノーザンブロッティングの結果、mAspAT遺伝子をSR-1に導入した個体では、外来mAspAT遺伝子の発現が認められたが、PEPC高発現タバコに導入した個体では外来mAspAT遺伝子の発現が認められなかった。SR-1にmAspAT遺伝子を導入した個体のウェスンブロッティングの結果、mAspATタンパク質が増加した植物体が得られ、その形質転換体から誘導したカルス由来のミトコンドリア分画におけるAspAT活性はおよそ2倍に増加していた。cAspAT遺伝子をSR-1に導入したタバコにおいても、外生のcAspATタンパク質の発現が認められ、葉の抽出物のAspAT活性はおよそ2倍に増加していた。現在、これらの形質転換体を材料として生理学的解析を行っている。

1pC04

Eleocharis vivipara におけるC３，C４光合成特性の発現：ピルビン酸・正リン酸ジキナーゼ isogene の解析．

東江 栄[1]・甲斐元士[2]・高辻博志・上野 修

農業生物資源研究所, [1]学術振興会特別研究員・九州大学農学部, [2]北海道警察科学捜査研究所

カヤツリグサ科の水陸両生植物，*Eleocharis vivipara*は，陸上ではＣ４型，水中ではＣ３型の光合成を示し，Ｃ３，Ｃ４光合成特性の発現制御機構を解析する上で興味深い植物である．このような環境変化に伴う光合成変換機構の分子生物学的基礎を解析するため，pyruvate, orthophosphate dikinase (PPDK; EC2.7.9.1) のisotype2種をコードしていると推定されるcDNA（*ppdk1, ppdk2*）を*E.vivipara*の陸生型から単離し，構造解析を行った．両者の比較から，*ppdk1*には，N末端近傍にtransit peptideと思われるアミノ酸配列が確認され，これ以外には高い相同性が認められた．これら遺伝子の転写産物の蓄積レベルを，器官別並びに*Eleocharis*属の他種水陸両生植物と比較したところ，器官特異性と種間差が見出され，この違いは，光合成のC4化程度と関連づけられることが示唆された．これらの結果を，*Eleocharis*におけるＣ４光合成の進化の問題とからめ論議する．

1pC05

常緑樹の光合成速度が低いのは細胞間隙中のCO_2拡散が悪いためではない

寺島一郎，彦坂幸毅[1]（筑波大・生物，[1]東北大・理・生物）

一般に常緑広葉樹の光合成速度は一年生の陽地性草本の光合成速度に比べて低いが，両者の葉面積あたりの葉の窒素やrubisco含量はそれほど違わない。近年，常緑木本植物の葉緑体内のCO_2濃度がかなり低いことが様々な手法によって示唆され，これらの葉ではCO_2の拡散に対する"内部"抵抗が大きいと言われはじめてきた。しかし，内部抵抗の実体はまだ明らかでない。本研究では，その一つの候補である細胞間隙中の拡散抵抗について検討した。

シラカシ，アラカシなどの常緑広葉樹の葉について解剖学的にもとめた拡散有効経路面積などの実測値を組み込んで，葉内の二酸化炭素拡散モデルを構築し，細胞間隙の抵抗の大きさについて検討した。その結果，細胞間隙の抵抗は小さく，気孔腔から葉肉組織内の最も気孔から遠い部分までにおこる二酸化炭素分圧の低下は，たかだか2 Pa (20 ppm)であった。したがって，細胞間隙抵抗は葉緑体内の二酸化炭素濃度を低下させる主な要因ではない。

1pC06

高CO_2環境がイネの光合成特性に及ぼす影響

仲野 廣美、牧野 周、前 忠彦 (東北大・農・応生化)

C_3植物の高CO_2環境下の光合成速度は、光化学系あるいは糖合成に伴うPiの再生産能力に律速される。そしてRubiscoのポテンシャルとしての酵素的能力は光合成全体のバランスの中では過剰となり、短時間の応答としては一部が不活性化されているという。我々は、植物がその様な高CO_2環境に長期間さらされた時、それらの能力間のバランスに変化が現れるかどうかについてイネ(ノトヒカリ)で調べた。環境調節装置内で第8葉身展開期から2-3週間高CO_2処理(100 Pa)を行い、同時に3段階の窒素栄養区を施し、その処理期間内に完全展開した葉身のみをサンプルとした。結果 高CO_2処理区の葉は面積あたりの全N量が減少し、みかけ上光合成能力が低下する傾向にあった。しかし葉身N量あたりでその光合成能力を詳細に評価すると、例えば低CO_2分圧下(葉内CO_2分圧=20 Pa)での光合成速度(A_{20})は、高CO_2処理区でやや低下している傾向が認められたものの、Piの再生産能力に律速されるCO_2飽和下の光合成速度は対照区と全く差がなかった。一方、A_{20}を律速するはずのRubiscoの量にも両区において差がなく、A_{20}でみられた差は単純に対照区に比べて2-9倍もstarchが蓄積したことによる物理的なCO_2拡散の障害と考えられた。このように、イネ葉の光合成の各能力間のバランスは長期的な高CO_2処理によっても変化しないと結論した。

1pC07

ゼニゴケ葉緑体遺伝子*cemA*のラン藻を用いた機能解析：CO_2濃縮機構における役割

依田尚文、李根植、福澤秀哉、大山莞爾（京大農・農化）

ゼニゴケ葉緑体ゲノム上の未知遺伝子*orf434* (*cemA*)は、膜貫通型タンパク質をコードしており、エンドウではCemAが葉緑体包膜の内膜に存在する。今回、*cemA*の機能を知るために、葉緑体と類似した性質を持つラン藻(*Synechocystis sp.* PCC6803)から相同な遺伝子をクローン化し、その解析を行った。

ゼニゴケ葉緑体遺伝子*cemA*をプローブとしてラン藻からクローン化したラン藻*cemA*は、ゼニゴケ*cemA*と27%の相同性を示し、特にC末端において相同性の高い部位が存在した。形質転換によりラン藻*cemA*を破壊した変異株は、CO_2の取り込みが野生株の約1/3まで減少していた。また、野生型ラン藻では*cemA*のmRNA蓄積量が低CO_2条件で増加しており、その発現はCO_2濃度によって調節を受けることが明らかになった。ラン藻及び葉緑体CemAのCO_2濃縮機構における役割について検討する。

1pC08

高濃度CO_2の*Euglena gracilis* Zの光合成への影響

浜崎和恵、奥野裕美、竹中重雄[1]、宮武和孝、中野長久（大阪府大・農・応用生化,[1]羽衣学園短大・家政・食物）

高濃度のCO_2の存在下ではCO_2自身の毒性と無機炭酸の溶解に伴う培地の酸性化により微細藻類は生育不可能であるといわれている。しかし我々は酸性の生育条件を好む*Euglena gracilis* Z（ユーグレナ）が高CO_2条件下で生育可能であり、独立栄養的な生育において40%以下のCO_2条件下では大気条件下と比較して良好な生育を示すこと、またCO_2分圧が60%に達すると生育不可能であることを明らかにした。そこで我々はユーグレナの光合成への高濃度CO_2の影響について検討を行った。

大気条件（0.04% CO_2）で生育させたユーグレナを60%CO_2条件下に暴露すると光合成による酸素発生が減少し、PS II活性も同様に低下した。しかしPS I活性は減少しなかった。これらの結果から生育限界を超えた高CO_2条件下におけるユーグレナの光合成の抑制にPS IIの不活性化が関与していることが示唆された。

1pC09

Chlorella regularisの低CO_2誘導性カルボニックアンヒドラーゼ

佐藤朗，白岩善博（新潟大・理・生物）

単細胞緑藻Chlorella regularis IAM C-533の低CO_2（通常の空気）適応細胞は、積極的なCO_2輸送活性を示し、低CO_2条件への適応時に98および24 kDaポリペプチドを誘導することを$^{35}SO_4^{2-}$を用いたラベル実験により見いだした。さらに、24 kDaポリペプチドは酸性pH域特有の、98 kDaはpH非依存性のCO_2輸送機構に関与する蛋白因子である可能性を示唆した（日本植物生理学会 1995）。一方、微細藻類一般では、カルボニックアンヒドラーゼ（CA）がCO_2輸送機構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、本種におけるCAのCO_2輸送における関与は小さく、その役割も不明であるので、その解明のためにまず、CAの分子特性の解析を行なった。

①可溶性画分について、陰イオン交換液体クロマトグラフィーを行ない、比活性が約290倍の部分精製CA画分を得た。②Native-PAGEによるCAの分子量は約100 kDaであった。③Native/SDSの２次元電気泳動により、100 kDaの可溶性CA蛋白は、54 kDaと41 kDaからなるヘテロ２量体であることが示唆された。したがって、CAは上述の低CO_2誘導性蛋白とは異なる別の蛋白であることが示された。

1pC10

クラミドモナス突然変異株における細胞内ホスホグリコール酸レベル

鈴木健策（農水省・東北農試・生理生態研）

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 *pgp1*-18-7Fは生育に高いCO_2濃度が必要で、大気条件下では生育できない（Suzuki *et al.* 1990）。これは、光呼吸の最初の産物ホスホグリコール酸の蓄積により光合成が著しく阻害されるためと考えられるが、この株にさらに突然変異を起こさせ、大気条件下でもよく生育できる二重突然変異株を選抜したところ、光呼吸が著しく小さくなったと考えられる株が得られた（Suzuki 1995）。これらの株の5%CO_2培養細胞では、野性株より明らかに光合成のCO_2に対する親和性が高く、大気条件下での光合成阻害も起こらない（Suzuki 1995）。今回これらの株における光呼吸の大きさを知る目的で、イオンクロマトグラフを用いてホスホグリコール酸レベルの変動を調べたところ、7FR2F、7FR2N等の二重突然変異株の5%CO_2培養細胞を大気条件に移した直後のホスホグリコール酸の蓄積速度は18-7Fの３分の１程度である、24時間大気条件に適応させた後の蓄積量は18-7Fの半分程度である等の結果を得た。

1pC11

ラン藻CO_2濃縮機構におけるカルボキシソームの役割

佐藤良平、姫野道夫、和田野晃（大阪府大・農・応用生化）

ラン藻は細胞内に無機炭素（Ci）を蓄積し効率良く利用する、CO_2濃縮機構（CCM）を持つ。CCMはCi輸送系と、RuBisCOの局在したカルボキシソームと呼ばれるタンパク質性顆粒により構成されている。カルボキシソームはCCMにおいて必須であることが示されているが、CCMに与える影響に関する定量的な情報はほとんど得られていない。そこで本研究では、カルボキシソームのRuBisCO活性に及ぼす影響を明かにし、カルボキシソームのCCMにおける機能を定量的に評価することを目的とした。

RuBisCOがカルボキシソームに存在することにより受ける影響を調べるために、カルボキシソームに存在した形のRuBisCO標品と遊離のRuBisCO標品を調製した。それぞれのRuBisCO活性に及ぼす基質の影響を調べた結果、RuBisCOがカルボキシソームに存在することにより、みかけの親和性が低下することが明かとなった。また、RuBisCOの反応生成物である3-ホスホグリセリン酸及びH^+のカルボキシソーム内での定常状態濃度が、反応中に上昇する可能性が示唆された。このような現象はカルボキシソームが基質などの低分子の拡散を抑制するためであると考えられる。さらにこのようなカルボキシソームの性質を考慮して、CCMにおけるカルボキシソームの機能について考察する。

1pC12

ラン藻*Synechocuccus* PCC7942の形質転換体における無機炭素濃縮機構の適応の変異

西野　徹、姫野　道夫、和田野　晃　（大阪府大・農・応用生化）

ラン藻は細胞外の無機炭素（Ci)濃度の減少に伴ない、Ciを濃縮する能力の誘導を受ける。しかし、この低濃度Ci条件下への適応を誘導するシグナルの本質は解明されていない。そこで、ラン藻の低濃度Ci条件下への適応を誘導する機構の解明のために、*Synechococcus* PCC7942にCO_2に対する親和性が高い紅色光合成細菌*Chromatium vinosum*由来のRuBisCOの遺伝子およびクロラムフェニコール耐性遺伝子を含むプラスミドを導入した変異株MT1を作製し、その無機炭素の濃縮および光合成能を調べた。その結果、MT1では、5%CO_2濃度条件下で生育した細胞の空気条件下（400ppm CO_2）への適応時のCO_2取り込み量の経時的変化および空気条件下で培養した細胞の細胞外無機炭素濃度に対するみかけの光合成の親和性にwild typeとの違いが見られた。また、*Synechococcus* PCC7942にクロラムフェニコール耐性遺伝子のみを含むプラスミドを導入した変異株303についてもMT1と同様の生理的機能を調べたところMT1と類似した結果が得られた。これらの結果より、ラン藻の低濃度Ci条件下への適応を誘導するシグナルには、細胞内の環境の変化が関与していることが示唆された。

1pC13

インゲンマメ第一葉の光合成活性に対するミクロシスチン-LR の効果

安部俊彦，　Tracy Lawson[1], Jonathan D. B. Weyers[1], Geoffrey A. Codd[1]（東海大・海洋・海洋科学, [1]Dept. Biol. Sci., Univ. Dundee）

インゲンマメ葉をプロテイン・フォスファターゼ 1,2A の阻害剤ミクロシスチン-LR(MC-LR)で処理したところ、処理後 8 時間で光合成活性は未処理の葉の 50%以下となり、数日後にこれらの葉でネクロシスが生じた。この阻害効果は 10μM 以上でのみ観察されたが、10μM では処理後 5 日間で光合成が回復したのに対し、100μM で処理した場合の光合成活性は 8 日後においても対照葉の 42%であった。また、20nM の MC-LR で 2 日おきに処理したインゲンマメ葉の光合成は未処理の対照葉に比べて有意に低かった。従って、この MC-LR の光合成に対する阻害効果は、インゲンマメを高濃度の MC-LR で 1 回処理するよりも低濃度で間欠的に処理する方がより効果的であると結論された。

1pC14

異なる光環境下におけるイネの生長と光合成特性

牧野　周・仲野広美・佐藤哲也・前　忠彦（東北大・農・生化）

私達は、イネ（ノトヒカリ）を材料に、異なる光条件、1000 μmol m^{-2} s^{-1}(強光) と 300 μmol m^{-2} s^{-1}(弱光)を設定した人工気象室内で様々な窒素濃度区をもうけ 70 日間水耕法により栽培した。それらの環境下で生育した植物個体の生長解析と個葉の光合成特性について調べた。

植物体の総乾物生産量は窒素栄養に大きく依存し、かつ強光下植物でその生産量は圧倒的に大きく、弱光下植物で小さかった。しかし、56-70 間での両区の RGR(相対生長速度)には同一窒素栄養区間ではほとんど差がなかった。その理由の一つとして、弱光下植物には、LAR(葉面積比) と T/R(top/root ratio)において著しい増加が認められていた。

個葉の光合成特性についてみると、弱光植物では窒素含量あたりの Chl の増加が認められ、弱光下での光合成速度は弱光植物のほうが高かった。しかし、窒素含量あたりの Rubisco 量、SPS 活性等には両区で差はなく、必ずしも生育した光環境に適応した窒素の最適分配がなされている訳ではなかった。事実、強光下で測定された光合成速度もそれらの結果を反映し、両区において差はなかった。以上の結果より、植物の弱光への適応戦略とその限界について論議する。

1pC15

高発現型ショ糖リン酸合成酵素（ＳＰＳ）遺伝子を導入した形質転換イネの解析

里澤智美，赤木宏守，坂本正弘，藤村達人
（三井東圧化学ライフサイエンス研究所）

<目的>我々はイネの多収を目指し、ソース器官の糖合成系とシンク器官のデンプン蓄積系に分け、植物の強化を試みている。イネでは、ソース器官（葉）からの糖の転流はショ糖が中心であり、そのショ糖合成のキーエンザイムとなるのがショ糖合成リン酸酵素（ＳＰＳ）である。我々はすでにイネからＳＰＳ遺伝子を単離したことを報告した（1,2）。今回、その遺伝子を利用して、ＳＰＳ遺伝子を強化した形質転換イネを作成し、その酵素の発現、活性について調べたので報告する。

<方法と結果>ＳＰＳ活性の増加を目的とし、発現の弱いＳＰＳ遺伝子のプロモーター部分を葉で強く発現するLHCPII（３）遺伝子のプロモーターに変換し、イネ（日本晴）に電気穿孔法で導入した。その結果、１０株の形質転換イネを得た。これらの形質転換イネについてタンパクを粗抽出し、活性測定を行なった結果、１株でＳＰＳ活性が通常の日本晴に比べ4倍に上昇していた。さらに、この株ではＲＮＡおよびＳＰＳタンパクの発現量においても上昇がみられた。現在、この活性上昇が糖の合成系・転流系の強化に結びつくものか検討中である。

（1）坂本ら，日本植物生理学会講演要旨集p121 (1993)
（2）Sakamoto M. *et al*;Plant Science, in press (1995)
（3）Sakamoto M. *et al*; Plamt Cell Physiol. 32:385 (1991)

本研究は、通産省の地球環境産業技術研究開発制度の一環として、NEDOより委託を受けた（財）RITEより、さらに再委託を受けて実施したものである

1pC16

トウモロコシの根型ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼのcDNAクローニングと大腸菌における発現系の構築

増田隆男、河村敬夫、畑信吾、泉井桂
（京都大・農・農生）

高等植物は、個体中に数種類のホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ（PEPC）アイソザイムを有することが知られている。トウモロコシでは、少なくとも３種類のPEPCが存在している。

これまでに我々はC4型、C3型、そして部分的ではあるが根型のPEPCのcDNAをクローン化してそれぞれの塩基配列や発現様式を明らかにしてきた。今回我々はトウモロコシの根から根型のPEPCをコードすると推定される完全長のcDNAを得て、その全塩基配列を決定した。本酵素は960個のアミノ酸から構成されるものと推定された（分子量の計算値109.4kDa）。そのアミノ酸配列はC4型、C3型の本酵素と80.7%、85.0%相同であった。また、N末端より7番目には、C4型およびC3型酵素と同様にリン酸化酵素の基質となりうるセリン残基が存在していた。したがって、この根型酵素もリン酸化による活性調節を受けている可能性が考えられる。

現在、大腸菌内において根型のPEPCの遺伝子を発現させることを試みている。

2aC01

Analysis of promoter activity of photosynthetic genes with improved transient assay system

Maurice S. B. KU., Mitsutaka TANIGUCHI[1], Tatsuo SUGIYAMA[1], Makoto MATSUOKA[2], Bot. Dept., Washington St. Univ., Pullman, WA 99164, U.S.A., [1]Faculty of Agri., [2]BioSci. Center, Nagoya Univ., Nagoya 464-01

To study the promoter activity of photosynthetic genes, we have improved the transient assay system in maize mesophyll protoplasts after electropolation with bicarbonate in the incubation medium. Bicarbonate greatly enhanced the expression of the reporter gene GUS, driven by the promoters of 35S and several photosynthetic genes, in a concentration-dependent manner under the light condition. However, the enhancements were much greater for the phtosynthetic genes, such as C_4-*ppdk* and *cab*, whose expressions are light-dependent. Thus, this condition is important for the identification of the light-responsive elements of photosynthetic genes. Interestingly, the promoter of *rbcS* showed very little response to bicarbonate in the light while it was suppressed by bicarbonate in the dark, in contrast to other photosynthetic genes. The physiological consequences of these observations will be discussed.

2aC02

低CO_2で誘導されるラン藻*Synechocystis* sp.PCC6803遺伝子の解析

大河浩[1]　園田雅俊[1]　青木摂之[2]　石浦正寛[2]
近藤孝男[2]　小川晃男[1]（[1]名大・生物分子応答研究センター、[2]名大・理・生物）

ラン藻は無機炭素濃縮機構を持っている。本機構に関する遺伝子には、ccmやndh遺伝子のように低CO_2濃度下で強く発現するものがいくつか知られている。一方、高CO_2濃度下で培養した細胞は高いCO_2輸送活性を示すが、HCO_3^-輸送活性は低CO_2条件下でのみ強く発現する。我々はこれらの低CO_2条件下で誘導される遺伝子を明らかにすべく以下の実験を行った。

プロモーターレスの発光細菌ルシフェラーゼ（luxAB）遺伝子上流にPCC6803genomeの断片を組み込んだPlasmidをラン藻に形質転換して、プロモータートラッピング用のライブラリーを作成した。高CO_2と低CO_2条件の時の発光強度をそれぞれ比較することにより、低CO_2でのみ、あるいは低CO_2でより強く発現を誘導するプロモーター領域をクローニング、その下流の遺伝子を解析することを試みた。約６００００コロニーをスクリーニングした結果、明らかな差のある19の陽性クローンを得た。現在それらのクローンの解析を進めている。

2aC03

Synechocystis PCC6803のｃｏｔＡ遺伝子産物の同定

加藤　彰[1]，Ｋｅｕｎ－Ｓｉｋ　Ｌｅｅ[2]，
福沢秀哉[2]，大山莞爾[2]，小川晃男[1]（[1]名古屋大・生物分子応答研究センター，[2]京都大・農化・植物分子生物）

我々はラン藻*Synechocystis* PCC6803よりCO_2濃縮機構に関与する遺伝子ｃｏｔＡを単離した。ｃｏｔＡが変異した株におけるCO_2輸送活性は、野生株の約１／３であった。ｃｏｔＡ翻訳産物（ＣｏｔＡ）はＰｅａの葉緑体包膜（内膜）に存在するＣｅｍＡに相同性を持ち、四回膜貫通構造を持つ分子量約29ＫＤａのタンパクであると予測された。ＣｏｔＡの局在性を調べるために、ＣｏｔＡのＣ末端領域とＧＳＴの融合タンパクに対するウサギ抗体を作製した。ラン藻の膜及び可溶性画分のウエスタン分析を行った結果、ＣｏｔＡが細胞膜画分とチラコイド膜画分に存在し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥで５２ｋＤａタンパクとして移動することが明らかになった。

2aC04

***Synechococcus* PCC7942 における *cotA* 近傍の遺伝子の解析**

園田雅俊、加藤彰、小川晃男（名大・生物分子応答研究センター）

ラン藻の CO_2 濃縮機構には CO_2 と HCO_3^- の輸送が関与しているが、その詳細は明らかでない。我々は、HCO_3^- 輸送活性が野生株と同等であるが、CO_2 輸送活性が 1/3 に低下した変異株を *Synechocystis* PCC 6803 より単離し、相補試験によって *cotA* を単離した。

本研究において、我々は *Synechocystis* の *cotA* をプローブとして *Synechococcus* PCC 7942 より *cotA* を単離し、その周辺の塩基配列について解析を行った。その結果、*cotA* の下流に 180 アミノ酸残基をコードする遺伝子が存在し、この遺伝子は *cotA* とオペロン構造を形成していることがノーザン解析により示唆された。推定されるアミノ酸配列はシアノコバラミン合成酵素の１つ cobinamide kinase / cobinamide phosphate guanylyltransferase と高い相同性を示した。*cotA* とその下流の遺伝子の機能解析のため、現在それぞれの遺伝子破壊を行っている。

2aC05

ラン藻*Synechocystis* sp. PCC 6803野生株および*ndhB* 欠損変異株の塩ストレス応答

田中義人[1]，日比野隆[1]，小川晃男[2]，高倍昭洋[1,3]　([1]名城大・理工・化学，[2]名古屋大・生物分子応答センター，[3]名城大・総合研究所)

ラン藻および葉緑体にはミトコンドリアのNADHデヒドロゲナーゼサブユニットと相同性のある遺伝子が存在する。しかし、これらNADHデヒドロゲナーゼ遺伝子の生理的役割についてはあまり分かっていない。今回我々は、野生株およびNADHデヒドロゲナーゼサブユニット遺伝子欠損変異体を用いて、塩ストレスに対する応答を比較した結果、両者の間に差がみられたので報告する。

ラン藻*Synechocystis* sp. PCC 6803の野生株および*ndhB* 欠損変異株（M55）を種々の濃度のNaClを含む培地で生育させると、塩濃度が高くなるに従い、ラン藻の生育速度は低下したが、野生株と比べて、変異株では低い塩濃度でも生育速度の低下が大きかった。ラン藻を高塩濃度の培地に移し、塩ストレスをかけると、塩ストレスをかけた直後には、野生株、変異株ともに光合成の酸素発生速度は著しく低下した。野生株ではその後、酸素発生速度は塩ストレスをかける前のレベルまで回復したが、変異株ではほとんど回復しなかった。また、いくつかの光合成電子伝達成分の部分活性についても測定し、塩ストレスによる光合成の阻害部位、および阻害からの回復過程におけるNADHデヒドロゲナーゼ遺伝子の役割について検討した。

2aC06

ラン藻における非アルカリ耐性突然変異株の単離とその性質に関する研究

石井洋・安部俊彦・熊澤修造(東海大・海洋・海洋科学)

ラン藻の生育にはナトリウムが必要不可欠であり、光合成の基質であるCO_2の細胞内への輸送を促進する。*Synechococcus leopoliensis* UTEX 625においてもアルカリ性条件下でNa^+による光合成の促進が観察された。本研究では突然変異誘発剤によりpH 9.0で生育しないか、もしくは生育不良な株を単離した。それらの変異株においてpH 9.0で光合成活性を測定したところ、数株のKm値が野生株に対して高く、最も活性の低い変異株のKm値は野生株の40倍であった。従ってこの変異株はpH 9.0において炭酸固定系，無機炭素輸送系，pHの調節系のいずれかに損傷があると推測された。

2aC07

リン酸欠乏に対するラン色細菌の応答

石川圭吾、菓子野康弘、小池裕幸、佐藤和彦（姫路工大・理・生命科学）

ラン色細菌をリン酸濃度を減少させた培地中で培養すると、アルカリ性フォスファターゼ等の酵素が誘導されることが知られている。我々は、*Synechococcus vulcanus* を材料に、培地中のリン酸濃度の減少に伴い、アルカリ性フォスファターゼ活性の上昇の他に数種類のタンパク質が誘導されることを見いだしたので報告する。

我々が利用しているDyer and Gafford の培地中には、3.3 mMのリン酸が含まれている。対数増殖期の細胞をリン酸を全く含まない培地か、リン酸を千分の一の濃度に薄めた培地に移し、培養を数日間続行した。増殖は両方の場合ともコントロールに比べてほんの少し減少しただけであった。この事はリン酸欠乏条件下でも数日間は細胞内に貯蔵されたリン酸で生育できるという事を示してる。色素に関しては、フィコビリン含量の若干の減少が観察された。

一方タンパク質としては、約 34 kDaの分子量を持つものが誘導されてくる事が分かった。このタンパク質はその内部アミノ酸配列からリン酸の輸送と関係したリン酸結合タンパク質と考えられるSphXと同定された。これ以外でも、約 10 kDa, 7 kDaの分子量の未知のタンパク質が誘導されることが確認された。

2aC08

ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 におけるPhosphoribulokinaseの活性調節様式

西川　圭祐、平橋　智裕、姫野　道夫、和田野　晃　(大阪府大・農・応用生化)

Phosphoribulokinase (PRK) はすべての光合成炭素還元回路(PCR cycle) において、CO_2固定反応の基質となるRibulose 1,5-bisphosphateをRibulose 5-phosphate (Ru5P) の、ATPによるリン酸化により合成する反応を触媒する酵素である。本酵素は高等植物等から単離され、光活性化機構や代謝中間体の影響について検討されている。しかし、本酵素の反応機構や正確な基質等の基礎的な酵素化学的性質については分かっておらず、代謝中間体の及ぼす影響を検討し、PCRcycleのシミュレーションを行うにあたり、現在の知見だけではでは不十分である。そこで本研究では、ラン藻 *Synechococcus* PCC7942 から精製したPRKを用いて、基質のMg^{2+}の必要性、反応機構についての検討を行うことを目的とした。

アフィニティークロマトグラフィー等により、培養したラン藻からPRKを精製した。このアフィニティークロマトグラフィーへの本酵素の吸着にはMg^{2+}が必須なことと、Mg^{2+}濃度によるPRK活性の変化の測定から、真の基質はMg^{2+}-ATPと遊離のRu5Pであることが判明した。また、最初に結合する基質は高等植物において推測されているRu5Pではなく、ATPであった。PRK活性の生成物による阻害実験からは、ラン藻PRKの反応機構はOrdered Bi Bi 機構であることが判明した。この結果を考慮して、ラン藻PRKの代謝中間体に対する影響を再検討し、本酵素の活性調節機構についても考察する。

2aC09

広いCO_2濃度範囲における好熱性ラン藻の生育

宮入 祥夫　（工技院　生命工学研）

好熱性ラン藻*Synechococcus elongatus*は広い範囲のCO_2濃度条件下で活発に生育する。固体培地では2% CO_2下で空気下の2倍以上の速度で増殖した。以下の結果は全て液体培地での実験で得られた。52℃、空気下、5%および80%CO_2下でdoubling timeがそれぞれ4.7, 3.3, 11.1 hで生育した。5% CO_2 + 95% airの場合と 5% CO_2 +95% N_2 の場合では生育速度は殆ど変わらないので外からの酸素は必要としない。100%CO_2下では生育しなかった。培地は予めNaOHでpH7.5に調整してあるが、CO_2を吹き込むと低下し、100%CO_2により5.2になった。培地のpHを予めHClで5.0付近に調整すると生育しなかった。この結果はCO_2によるpHの低下がラン藻の生育を阻害する可能性を示している。また本ラン藻が常温性のラン藻に比べて高濃度のCO_2で生育できるのは、高温においてCO2の溶解度が低いことによると考えられる。

2aC10

完全寄生植物ネナシカズラ属に特徴的な*rbcL*遺伝子C末端コード領域の伸長

四方幸治、若杉達也、古橋勝久[1]、Lytton J. Musselman[2]、山田恭司（富山大学・理・生物、[1]新潟大学・理・生物、[2]Old Dominion Univ.）

我々は最近、完全寄生植物であるネナシカズラ属(*Cuscuta*)が、光合成による独立栄養を営めないにもかかわらず、10種以上の光合成系遺伝子の相同配列を保持していることを見いだした。それらのうち*rbcL*相同配列に注目し、調べたところ、ネナシカズラ属の2種(*C. japonica, C. pentagona*)には、*rbcL*遺伝子が存在し、しかも転写されていることが明らかになった。これら2種の*rbcL*遺伝子の構造を緑色植物と比較した場合、高い相同性を保持しているものの、C末端側に21アミノ酸残基長いタンパクをコードをしうるという特徴を持っていた(第58回 日本植物学会、1994年)。本研究では、このような*rbcL*遺伝子の構造的特徴に注目し、アメリカ産ネナシカズラ属の3種(*C. compacta, C. gronovii, C. indecora*)について解析をおこなった。

まず、ゲノミックサザンによる解析を行なったところ、3種の全てに*rbcL*相同配列が存在することがわかった。そこで、3種のうち*C. compacta*の*rbcL*相同配列の塩基配列を解析した。その結果、*C. compacta*においても塩基配列から予想されるRbcLタンパクのC末端は、*C. japonica*や*C. pentagona*と同じ長さだけ伸長していること、さらに、そのアミノ酸配列も保存的であることが明らかになった。ヨーロッパ産の*C. reflexa*においても同じ構造的特徴が見いだされたことから、ネナシカズラ属植物では、*rbcL*遺伝子のC末端側コード領域の伸長が保存されていることがわかった。*C. japonica*において*rbcL*遺伝子のcDNAを解析した結果、ゲノミックDNAと同じ配列であった。したがって、少なくとも*C. japonica*においては、C末端の伸長したRbcLタンパクが実際に発現している可能性が考えられる。ネナシカズラ属に見いだしたRbcLタンパクの構造上の特徴と光合成活性との関連についても考察する。

2aC11

異なる窒素供給下でのヒマワリ第一葉の光合成産物量と*rbcL*、*rbcS*の発現量の変化

小野清美、渡辺昭（東京大・院・理系・生物科学）

細胞内の糖レベルによる光合成系の遺伝子の発現の制御は、これまで主として葉切片や遊離細胞を用い、外から糖を与えることによって研究されてきた。そこで我々は、個体についたままの葉の糖レベルを操作することによっても、上記の現象が見られるのかを調べるために実験を行った。材料には人工気象室内で水耕栽培により生育させたヒマワリを用い、葉内の光合成産物の蓄積量を、窒素条件を操作することによって変え、そのときに見られる光合成系の遺伝子の発現量の変化を調べた。光合成産物としては、グルコース、スクロース、スターチ量を調べ、光合成系の遺伝子としては、RuBisCOをコードする*rbcL*や*rbcS*の発現量をノーザンハイブリダイゼーションを用い調べた。低窒素（0.8 mM NO_3^-）条件下では、個体の成長に伴って光合成産物量は増加した。このような個体を高窒素（8.0 mM NO_3^-）条件に移すと、蓄積していた光合成産物量は減少し、かつ、遺伝子の発現量は増加していた。一方、遊離アミノ酸量は、糖含量ほど大きな変化を示さなかった。これらの結果は、光合成産物によって光合成系の遺伝子の発現が制御されている可能性を示唆する。

2aC12

キビ維管束鞘細胞ミトコンドリアの機能分化に伴う2-オ キソグルタル酸/リンゴ酸トランスロケーターの発現

谷口光隆，杉山達夫（名古屋大・農・応用生物科学）

NAD- マリックエンザイム型C_4植物キビの維管束鞘細胞ミトコンドリアはC_4光合成回路に組み込まれ，光合成を司るオルガネラとして形態的および機能的な分化をとげている．この機能分化の一面として，ミトコンドリア膜間の高い輸送能を維持するための効率的な代謝産物輸送機構があげられる．我々は昨年度の本大会でキビ葉ミトコンドリア膜局在性の2- オキソグルタル酸/ リンゴ酸トランスロケーター(OMT) のcDNAを単離したことを報告した．今回我々は維管束鞘細胞のOMTとのみ反応するcDNAプローブや特異抗体を用いて，維管束鞘細胞ミトコンドリアの機能分化とOMTの発現の相関性について解析した．黄化葉の緑化過程においては光合成酵素遺伝子の発現誘導がみられるが，この時ミトコンドリア膜局在のATP/ ADPトランスロケーターやATP合成酵素の相対的なmRNA量は減少する一方，OMTmRNA量の増大が観察された．次に，キビ緑葉の基部から先端部にかけての葉細胞の分化・発達に伴う維管束鞘細胞ミトコンドリア局在性酵素の比活性を調べたところ，光呼吸系やエネルギー転換系酵素の活性は一定あるいは減少するのに対して，OMTタンパク質は他の光合成酵素と同様に増大していた．したがって，維管束鞘細胞ミトコンドリアが光合成オルガネラへと機能分化していく過程で，マトリクス内の光合成酵素と協調して，膜中の輸送体タンパク質の発現誘導が引き起こされていることが明らかとなった．

2pC01

共役系の末端の側鎖がカロテノイドの電子吸収・^{1}H-NMRスペクトルに与える影響

坂 佳三、溝口 正、Richard J. Cogdell[1]、小山 泰
(関西学院大・理、[1]グラスゴー大・生物化)

カロテノイドは光合成系において効率良く可視光を吸収し、クロロフィルへ一重項エネルギーを伝達するという補助集光作用を担う。長い共役系の末端の官能基と側鎖は、共役系の電子状態に影響を与えると思われる。今回我々は、光合成細菌に存在し骨格構造のよく似た一対のカロテノイド、すなわち共役系の末端にカルボニル基を持つOkenoneと、持たないChlorobactene（ただし他端にメチル基を持つ）の電子吸収・^{1}H-NMRの測定を行った。

紅色光合成細菌*Chromatium purpuratum* 及び緑色光合成細菌*Chlorobium limicola* よりカロテノイドを抽出・精製した後、再結晶により各々の主成分の全トランス体を分取した。これらの極性・非極性溶媒中での電子吸収スペクトルを比較したところ、カルボニル基の結合により共役系が長くなった結果としてBu^+エネルギーの減少は見られたが、溶媒の分極率に対する依存性に大きな差異は認められなかった。しかし、これらの^{1}H-NMRスペクトルを測定して、化学シフト値の変化を調べたところ、共役系の両末端付近のオレフィン^{1}Hにおいて①末端のメチル基から電子が供与されたことによる高磁場シフト、②末端のカルボニル基が電子を吸引したことによる低磁場シフトが見られた。すなわち局部的な置換基の影響が^{1}H-NMRにより検出することができた。

2pC02

バクテリオクロロフィル a Q_y吸収帯の溶媒効果

坂本 俊、Leenawaty Limantara、長江裕芳[1]、
小山 泰 (関西学院大・理、[1]神戸市外大)

光合成細菌中でのBChl **a** による光の吸収のメカニズムを理解するために、溶液中(極性溶媒37種、非極性溶媒２７種)でのBChl **a** の電子吸収による溶媒効果について測定した。カロテノイドの様な直線状の共役系を持つ分子の溶液中の電子吸収による溶媒効果の理論[(1),(2)]は既にあるが、今回の測定結果よりBChl **a** の様に円盤状の共役系をもつ分子でもその理論を当てはめることができることが分かった。

測定結果より電子吸収スペクトルのQ_y吸収帯のエネルギーは溶媒の分極率に比例する値$R(n)=(n^2+1)/(n^2+2)$ と直線関係で表される。$R(n)=0$ のエネルギーを外挿により求めると極性溶媒の方が非極性溶媒よりも低いエネルギーを持つことが分かった。また直線の傾きは極性溶媒の方がゆるやかで、その結果 $R(n)=0.3$ 付近で非極性溶媒の直線と交わる。このことは次のように説明される。周りの極性溶媒の永久双極子モーメントの揺らぎにより生じた電場がBChl **a** を取り囲みBChl **a** を分極させる。その電場によりQ_yエネルギーを安定化させ、また溶媒による分散相互作用を小さくするため分極率に対する吸収帯のエネルギーの変化が小さくなる。

(1) M. Kuki, H. Nagae, R. J. Cogdell, K. Shimada and Y. Koyama (1994) *Photochem. Photobiol.* **59**, 116-124
(2) H. Nagae, M. Kuki, R. J. Cogdell, K. Shimada and Y. Koyama (1994) *J. Chem. Phys.* **101**, 6750-6765

2pC03

紅色細菌*Rhodospirillum rubrum*のカロテノイド生合成遺伝子変異株であるST4株のカロテノイド分析

古森美香[1]，高市真一[2]，溝口正[1]，胡英[1]，Robin Ghosh[3]，小山泰[1]，九鬼導隆[4]（[1]関西学院大・理，[2]日本医大・生物，[3]ジュネーブ大・植物，[4]神戸高専・応化）

我々は、紅色細菌*Rhodospirillum rubrum*のカロテノイド生合成遺伝子とその遺伝子産物を解明するため遺伝子を変異させた変異株のカロテノイドの分析を進めている．本実験では，変異株のうちの１つであるST4株のカロテノイドを分析した．菌体よりアセトン/メタノールでカロテノイドを抽出し，HPLCで分析したところ４種類のカロテノイドが検出された．このうち，主成分ともう１種のカロテノイドをアルミナカラムで分離・精製し，FD-MSによる分子量決定と^{1}H-NMR，^{1}H-^{1}H COSY，^{1}H-^{1}H Long Range COSY，^{1}H-^{1}H ROESYによる構造解析を行った．その結果，主成分のカロテノイドは分子量600の3,4,3',4'-tetrahydrospirilloxanthin，もう１種のカロテノイドは分子量586の新種のカロテノイド3,4-dihydororodovibrinであることがわかった．この２つは、共に共役二重結合が11個であり，可視紫外吸収スペクトルが一致することから残りのカロテノイドも共役二重結合が11個と予想される．よって、3,4-位，3',4'-位のdesaturationのみが行われていないと考えられる．以上の分析結果から，ST4株ではlycopene以降のカロテノイド生合成が3,4-desaturationの反応をとばして進んでおり，3,4-desaturaseをコードしている遺伝子が変異を起こしていると考えられる．

2pC04

緑色光合成細菌*Chlorobium*フェレドキシンの精製とNADP+光還元活性

富岡 厚、楠元範明、中村有希、井上和仁[1]、桜井英博
（早稲田大・教育・生物，[1]神奈川大・理・応用生物）

好熱性緑色光合成細菌*C. tepidum*からフェレドキシン（Fd）を精製した。菌体破砕液を遠心分離して得られた上清の45-80%飽和硫安画分を陰イオン交換（DEAEセルロース)、ゲルパーミエーション（Sephadex G-50）クロマトグラフィーにかけ、更にSuperdex 75（FPLC)、Mono Q（FPLC）により、電気泳動的に単一に精製した。Fdの吸収スペクトルは、385, 283 nmに吸収極大、300 nmに肩を持ち、A_{385}/A_{280}比は0.7以上であった（*C. thiosulphatophilum*についての文献値は0.71）。

FdとFNRとの反応性は NADPH→FNR（ホウレンソウ）→Fd（*C. tepidum*）→O_2 の系により確認した。アスコルビン酸, DCPIPを電子供与体としたときの*C. tepidum*膜断片および精製反応中心標品（Triton X-100可溶化、5種のサブユニットより成る）のNADP+光還元活性を*C. tepidum* Fd、ホウレンソウ FNRの系で測定したところ、それぞれ113および39 μmole/mgBchl *a*/hrの活性を示した。

2pC05

ラン藻 *Synechocystis* PCC 6803 の従属栄養条件下におけるカロテノイド組成

古川健一，小濱由紀子[1]，和田元[1]，正元和盛（熊本大・教育・生物，[1]九州大・理・生物）

ラン藻 *Synechocystis* PCC 6803（以下 *Synechocystis*）での培養光強度および従属栄養条件によるカロテノイドの組成変動を調べた．

単細胞ラン藻 *Synechocystis* を用い，BG-11—5mM HEPES 培地中 25℃で，白色蛍光灯下強光（1300 $\mu Em^{-2}s^{-1}$；PFD）および弱光（40 PFD）条件下で培養した．光パルス従属栄養条件は，5mM グルコース存在下 30℃で，10min / day 白色蛍光灯照射（20 PFD）とした．さらに，暗中での培養も行った．各カロテノイドは，逆相 HPLC でメタノール／エタノール勾配で流し，450 nm で検出した．

Synechocystis は，強光下では細胞散乱強度あたりで較べてザントフィル（ミクソザントフィル，エキネノン）量の増加が見られた．また，光パルス従属栄養などの条件下では，細胞散乱強度あたりのカロテノイドの含有量は，弱光下に較べて１／２であったが，カロテノイド／chl *a* 比で見ると，カロテノイドの組成に差は見られなかった．また，光パルス従属栄養条件の細胞の chl *a* あたりの光合成活性は，弱光下の 71～87％であった．

これらのことは，ラン藻 *Synechocystis* は，従属栄養条件下においても十分な光合成能を持ち，光合成色素組成も変わらないことを示す．

2pC06

*Erythrobacter*属に近縁な好熱性好気性光合成細菌

花田智、川瀬芳恵、桜木由美子、五十嵐直樹、高市真一[1]、松浦克美、嶋田敬三、永島賢治 （都立大・理・生物、[1]日本医大・生物）

伊豆の温泉から単離したBchl *a*を含む淡水性の新単離株0T3株は16Sリボソーム RNA配列に基づく系統解析から好気性光合成細菌*Erythrobacter・Erythromicrobium・Porphyrobacter*属に近縁であることが示された。 この新菌株の最適生育温度域は37-47℃と、他の好気性光合成細菌が25-30℃であるのに比べ高温で、この菌はこのグループで初めて発見された好熱性細菌である。 細胞は0.5-0.7μmφ×0.7-1.0μmの大きさを持つ桿菌であった。 培養液およびコロニーはオレンジ色を呈し、その吸収スペクトルは870、800nmに光捕集系の吸収ピークを持っていた。 これらの吸収ピークは近縁の淡水性好気性光合成細菌である*Pb. neustonensis*に近く、海洋性の*Eb. longus*に比べ多少長波長よりであった。 カロテノイド組成は*Eb. longus*に類似していたが、β-caroteneの水酸化はより進んでいた。 反応中心タンパク質の配列比較も含め、この細菌は好気性光合成細菌となった後、好熱性に進化したと考えられる。

2pC07

紅色光合成細菌*Rhodopseudomonas acidophila*の光捕集色素タンパク質LH1への各種カロテノイドの再構成

丸山 忍、松浦克美、嶋田敬三、三室守[1]（都立大・理・生物、[1]基生研）

光合成細菌のもつカロテノイドは非常に多様であることが知られているが、その意義については不明な点が多い。

我々は今までに、紅色光合成細菌から単離された光捕集色素タンパク質LH1のsubunit formであるB820はカロテノイドが外れやすく、この状態にカロテノイドを加えて再構成すると１種類のカロテノイドを含んだ多量体（B880）である再構成LH1が得られることを示してきた。今回はこの系を用いて多種多様なカロテノイドのタンパク質に対する結合能およびBChlへの励起エネルギー伝達効率を測定した。

強光培養した相対的にLH1含量の高い紅色光合成細菌*Rps. acidophila*の膜を、界面活性剤n-Octyl β-D-glucopyranosideで可溶化すると、直接カロテノイドの外れたB820が得られた。

このB820にカロテノイドの再構成を行ったところ、*Rps. acidophila* のLH1には本来存在しないカロテノイドをも含む様々なカロテノイド分子（spheroidene、okenone、R.g.-ketoII、シス型のカロテノイドであるbacteriorubixanthinalなど）が再構成可能であり、そのカロテノイド→BChl へのエネルギー伝達効率は、本来そのカロテノイドをもつ菌種における場合と同様であることが分かった。これより、紅色光合成細菌のLH1ペプチドおよびBChlとカロテノイドとの相互作用は、菌種に関わらず同様であることが示唆された。

また、再構成LH1 におけるエネルギー伝達効率は、$n_{c=c}$=11以上では二重結合の数の増加に伴い低下した。二重結合の数がカロテノイド→BChl 間の励起エネルギー伝達効率を変える最も大きな要因であることが示唆された。

2pC08

緑色光合成細菌のクロロソームにおけるバクテリオクロロフィルｃ集合体の高次構造モデル

松浦克美，広田雅光，嶋田敬三，三室　守[1]
（都立大・理・生物，[1]基生研）

緑色光合成細菌の光捕集系であるクロロソームでは、バクテリオクロロフィルｃ（BChl c）が高密度に存在し、弱光条件に適応した効率の良い光捕集と励起エネルギー移動を行っている。BChl cは色素分子の集合によるロッド構造を形成することが知られているが、その分子構築は明らかにされていない。そこで、構造モデルを分子模型を使って検討した。ラマン散乱の測定から明らかになった高次構造を形成する要因（水素結合、配位結合）を保ちながら、以下の実験結果を再現することを考慮してモデルを構築した。(1) タンパク質を含まない色素と脂質からクロロソームの基本構造と性質が再現されること、(2) ヘキサノール処理とその可逆的回復過程でダイマーやオリゴマーと考えられる吸収帯が観察されること、(3) BChl c のQｙ遷移軸の方向がクロロソームの長軸方向とほぼ平行であること、(4) CD強度が構造に応じて変化しやすいこと、である。

すでに提唱されたモデルを含め検討した結果、強く相互作用した平行な2列のBChl c 分子鎖が集まって相互に斜めに円柱を形成し、長い炭化水素鎖が中心部と周辺部をおおったモデルが最適と判断した。

2pC09

紅色光合成細菌 *Rubrivivax gelatinosus* の反応中心結合型チトクロム欠損株および野生株の生理学的比較

吉田 真、永島 賢治、嶋田 敬三、松浦 克美 (都立大・理・生物)

多くの紅色光合成細菌の光化学反応中心複合体は、ペリプラズム側に結合型チトクロムサブユニットを持ち、この中のヘム *c* は光酸化されたバクテリオクロロフィル二量体への電子供与体として機能している。このとき酸化されたヘム *c* は、ペリプラズム空間の可溶性の電子運搬体蛋白質によって再還元される。一方、このサブユニットを持たない種も存在し、これらの種においては、ペリプラズム空間の可溶性蛋白質によって直接に電子がバクテリオクロロフィル二量体に供与される。このような二種類の細菌が存在しているため、このサブユニットの持つ生理学的意義は興味深い。

我々は *Rubrivivax gelatinosus* を用いてこのサブユニットの欠損株を作成することに成功し、チトクロムサブユニットの有無を生理学的に比較することを可能とした。この欠損株は野生株の約半分の速度ではあるが光合成的に生育可能であった。両株の生育速度の違いは培地中の炭素源により影響を受け、炭素源の酸化還元レベルの影響が考えられた。また、還元的な炭素源により生育した細胞では可溶性のチトクロム含量が減少する傾向が見られた。さらに、膜標品で光合成電子伝達反応の酸化還元電位依存性を解析したところ、欠損株より野生株の方が、より還元的な条件でも光化学反応が観察された。これらの結果は、結合型チトクロムが、より還元的な環境でも生理的意義があるという仮説を支持する。

2pC10

クロロフィル *d* を主要光合成色素とする新規光合成原核生物の色素組成と酸素発生

宮下英明、藏野憲秀、宮地重遠（海洋バイオテクノロジー研究所・釜石研究所）

クロロフィル(Chl.) *d* を主要な光合成色素として有する酸素発生型の光合成原核生物を分離した。細胞は714-718nmに赤色光の吸収ピークを有していた。HPLCによる脂溶性色素分析により微量のChl. *a* の他に、Chl. *b* や *c* とは異なる大量の緑色色素を含んでいた。各種溶媒中での吸収スペクトルおよびNMR分析からこの物質をChl. *d* と同定した。Chl. *b* や *c* は検出されなかった。水溶性色素画分にはフィコビリン色素の吸収がみられた。細胞中のChl.比(*a*/*d*)は、0.03-0.042程度であった。最大光合成速度(P_{max})は高く、Chl. *d* の光合成への関与が推察された。

Chl. *d* を主要光合成色素とする唯一の生物であり、新たな光合成機構を有するものと期待される。

本研究開発は産業科学技術研究開発の一環として、新エネルギー・産業技術総合開発機構から委託を受けて実施したものである。

2pC11

NMR分光法による8-ethyl-12-ethyl farnesyl Bacteriochlorophyll **c** 会合体の研究：メタノール-クロロホルム混合溶液中での会合体モデル

溝口 正、Leenawaty Limantara、松浦克美[1]、嶋田敬三[1]、小山 泰 (関西学院大学・理、[1]東京都立大学・理)

溶液中の Bacteriochlorophyll **c** (BChl **c**)会合体構造の研究は、クロロゾームの構造形成のメカニズムの基礎的情報を与えると期待される。溶液中に存在する会合体の種類は、電子吸収スペクトルの Q_y 吸収帯で分類されている[Q_y 吸収帯 668 nm (単量体), 675 nm (Form I), 705 nm (Form II)]。今回、BChl **c** のクロロホルム溶液へのメタノール滴定を行い、会合体を単量体へと徐々に変化させ、各段階での NMR 測定を行った。

これらの NMR スペクトルについて、①マクロサイクルの環電流効果を反映するケミカルシフトと②会合体形成によるシグナルのブロードニングを反映するシグナル強度の変化に着目して、BChl **c** 会合体の構造を決定した。すなわち、Form I は Mg···OH 間に配位結合を持つ"piggy-back stacking dimer"構造 (この構造は、分子間 ^{1}H-^{1}H NOE シグナルからも裏付けられた)、Form II は Form I の dimer が重なってできた"傾いたカラム状の構造"をとると考えられる。

2pC12

同位元素置換クロロフィル *a* のラマンスペクトル

佐島徳武、藏野憲秀[1]、宮地重遠[1]、小山 泰（関西学院大・理、海洋バイオテクノロジー研究所[1]）

昨年の本大会で励起一重項状態（S_1）、三重項状態（T_1）のクロロフィル（Chl）*a* 、*b* のラマンスペクトルを報告した。この時点で帰属が曖昧なS_1、T_1のラマン線をより明確に帰属するため、^{15}N-Chl *a* 、^{13}C-Chl *a* のラマンスペクトルを測定した。

^{15}N-Chl *a* 、^{13}C-Chl *a* は各々、$(^{15}NH_4)_2SO_4$または$^{13}CH_3{}^{13}COONa$を含むTAP培地で培養した*Chlamydomonas reinhardtii* C-9 から抽出した。①基底状態（S_0）のラマンスペクトルはArレーザー457.9nm の連続光で測定した。$^{14}N \rightarrow {}^{15}N$では1300-1100cm^{-1} と1000-900cm^{-1} の領域、$^{12}C \rightarrow {}^{13}C$では1650-1450cm^{-1} の領域のラマン線が大きく低波数シフトしたので、各々νC-N、νC=Cと帰属した。②T_1、③S_1のラマンスペクトルは各々457.9、390nm のパルス光で測定した。①の帰属と同様に、②T_1では1566、1238、1099cm^{-1} をνC=C、νC-H、νC-Nと帰属した。③S_1では1542、1338cm^{-1} をνC=C、pyrrole breathing と帰属した。帰属に基づき励起によるマクロサイクルの結合次数の変化を議論したい。また、同位元素置換したChl *b* のラマンスペクトルも測定し、マクロサイクルの側鎖の違いがT_1、S_1のラマンスペクトルにどのような影響を与えるかも検討する予定である。

3aC01

光合成細菌のDMSO還元酵素は分泌直後は完全還元型状態である

松崎雅広、山口陽子、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（DMSO）呼吸の末端還元酵素であるDMSOレダクターゼは、1分子のモリブデンコファクター(Mo-co)をもつペリプラズム酵素である。スフェロプラストによるDMSOレダクターゼの分泌系を作製し、分泌直後の酸化還元状態を調べた。

培地に分泌されたタンパク質は、Mo-co欠損株のスフェロプラストでは、活性高次構造型(N型)とジチオスレイトール（DTT）によって完全還元型に変化するU型であった。野性株のスフェロプラストでは、タンパク質はN型のみが認められた。しかし、野性株でもヨードアセトアミドを含む培地に分泌されたタンパク質は、N型とU型の両方が認められた。これらの結果から、DMSOレダクターゼはペリプラズムに分泌された直後は、完全還元型の状態であることが示唆された。

3aC02

TRANSIENT RAMAN SPECTROSCOPY OF ^{2}H-SUBSTITUTED BACTERIOCHLOROPHYLL *a*: AN EMPIRICAL ASSIGNMENT OF THE EXCITED-STATE RAMAN LINES

Leenawaty LIMANTARA, Mima MASCI[1], Ingrid KHATHEDER[1], Hugo SCHEER[1] and Yasushi KOYAMA (Fac. Sci., Kwansei Gakuin Univ., Nishinomiya 662, [1]Botanisches Institut der Universität München, Munich, Germany)

^{2}H-substituted bacteriochlorophyll ***a*** (BChl ***a***) was extracted from the cells of *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1 grown in a deuterated medium. The T_1 Raman spectrum of ^{1}H- (^{2}H) BChl ***a*** was obtained as the difference of high-power spectrum minus low-power spectrum, both of which were measured by using 420 nm, 5 ns pulses. The same type of subtraction was made for S_1 measurement by using the 351 nm pico-second pulses (duration 50 ps and repetition 1 kHz). A set of empirical assignments of T_1 (S_1) Raman lines which is based on shifts upon $^1H \rightarrow {}^2H$ substitution will be presented. The S_0 Raman spectra of ^{1}H- (^{2}H) BChl ***a*** was also obtained by using the 457.9 nm CW beam, and a set of assignments of the S_0 Raman lines was also given for comparison.

3aC03

重水素置換スフェロイデンの*R. sphaeroides* R26光反応中心への再構成とラマンスペクトルの測定

河内直美、ヨハン　ルクテンバーグ[1]、小山　泰（関西学院大・理・化、[1]ライデン大・化）

我々は5種類の重水素置換化合物 (14d、15d、14'd、15'd、15,15'd_2) スフェロイデンをカロテノイドを持たない突然変異株*Rhodobacter sphaeroides* R26の光反応中心 (RC) に結合し、液体窒素温度で514.5 nmの光を用いてS_0ラマンスペクトルを測定した。重水素置換によるシフトをもとに、RCに結合した15シススフェロイデンのラマン線の経験的な帰属を行った。その結果からRCに結合したスフェロイデンは「C15=C15'周りでねじれかつ-C15H=C15'H-面内で変形した15シス構造」をとっていることが結論された。

また、再構成RCについて600 nmの光を用いてバクテリオクロロフィルを励起し、三重項エネルギー移動で生じたT_1スフェロイデンのラマンスペクトルを532 nmでプローブすることにより測定した (100 K、遅延時間1.6 μs)。重水素置換によるシフトから、T_1状態の構造についても議論を行う予定である。

3aC04

嫌気下で光化学系の発現を促進するセンサーRegBの自己リン酸化能とレギュレーターRegAへのリン酸基転移

中原昌明、飯坂崇、永井徹、C. E. Bauer[1]、井上和仁（神奈川大学・理・応用生物、[1]Indiana大・生物）

紅色非硫黄光合成細菌*R. capsulatus*の光化学系の発現は好気下で抑制され、嫌気下で促進される。この調節にはセンサーキナーゼRegBとレギュレーターRegA が関与している。RegBとRegAは原核生物の転写制御系であるtwo-componentシステムの一員である。今回、大腸菌に発現後精製したRegB'（RegBの膜貫通部分の大部分を取り除いてある）とRegAを用いてRegB'の自己リン酸化能とRegB'からRegAへのリン酸基の転移について検討した。

RegB'は6M尿素で変成後、Mg^{2+}存在下で一晩透析によって尿素を取り除きリフォールディングさせた。自動リン酸化能はRegB'を[γ-^{32}P]ATPとインキュベート後、SDSゲル電気泳動、オートラジオグラフィーによって測定した。リフォールディングを単に空気下で行った場合には、自動リン酸化能を持たないが、気相を窒素置換した嫌気条件では自動リン酸化能が認められた。DTTを5mM加えてリフォールディングすると更に強い活性が得られた。DTT存在下でリフォールディングされたRegB'とRegA及び[γ-^{32}P]ATPをインキュベートするとRegB'に依存したRegAのリン化が起こるが、この反応が酸素によって阻害されるかどうか現在検討中である。

3aC05

ラン藻 *Synechocystis* PCC 6803 NAD(P)H dehydrogenase (NDH) の誘導と精製

松尾道憲、遠藤剛、浅田浩二（京都大・食研）

ラン藻のロテノン感受性NDHは、呼吸鎖で機能すると同時に、光合成の循環的電子伝達系でも機能することを示してきた[Mi *et al*. *PCP*. 36: 661-668 (1995)]。しかし、NDHの分子的性質はまだ明らかにされていない。そこで、本研究では *Synechocystis* PCC 6803 でNDHの誘導条件を検討し、精製を試みた。

菌体をフレンチプレス処理して得た粗抽出液のNDH活性を、プラストキノンを電子受容体として測定した。NADPHを電子供与体としたときNADHに比べ約2倍の活性があり、ロテノンによってそれぞれ80%、25% 阻害された。

低CO_2、光従属栄養培養条件下では、高CO_2の場合に比べ2倍以上の活性を示した。また、定常期では対数増殖期に比べ約1.5倍に活性が上昇した。これらのことは、光従属栄養のような呼吸が機能する条件、あるいは低CO_2のようなATP供給のために循環的電子伝達系が必要な条件下で、NDH活性が誘導されることを示している。

粗抽出液についてnative-PAGEを行い、ニトロブルーテトラゾリウムを電子受容体としてNADPHとNADHの酸化活性を調べた。その結果、分子量10万以上の4本のバンドはNADPHに特異的であり、低分子量の2本のバンドはNADPH、NADH両方の酸化活性を示した。現在ロテノン感受性で高分子量のNADPHに特異的なNDHの精製を行っている。

3aC06

好熱性シアノバクテリア *Synechococcus vulcanus* の細胞膜タンパク質の同定

平野篤，[1]井上頼直，[2]池内昌彦（東京電力・エネルギー環境研究所；[1]理研・光合成科学；[2]東大・教養・生物）

我々は，培養温度をシフトすると好熱性シアノバクテリア *Synechococcus vulcanus* の細胞凝集が誘導される現象を見いだした。この現象では細胞表層に何らかの変化が起こっていることが考えられる。本研究では菌の至適増殖温度である55℃と，凝集が誘導される30℃の細胞からそれぞれ細胞膜を単離した。リゾチーム処理，フレンチプレス破砕，ショ糖密度勾配遠心により得られた細胞膜標品は，特徴的なスペクトル特性を持つクロロフィルを少量含んでおり，チラコイド膜の混入はほとんどないと考えられる。細胞膜のタンパク質組成の変化をSDS-PAGEで調べたところ，30℃への温度シフトによって57, 32kDaタンパク質が増加し，15.5kDaタンパク質が減少していた。これらのタンパク質のN末端アミノ酸配列を決定したところ，57kDaタンパク質は *Synechocystis* のORF97，32kDaタンパク質は光依存型プロトクロロフィリド還元酵素と相同であった。15.5kDaタンパク質のアミノ酸配列は得られなかった。さらにその他の細胞膜主要タンパク質のN末端アミノ酸配列決定も試みたところ，8kDaタンパク質は *Synechosystis* のORF70，66kDaタンパク質は大腸菌の熱ショックタンパク質と相同性が認められた。64，42，20，18，11.5，10.5，10，8.5kDaタンパク質のアミノ酸配列と相同なものはデータベースにはないため，新規の細胞膜タンパク質と考える。以上，細胞膜の主要な構成タンパク質を同定するとともに，温度シフトによって特定のタンパク質が増減することを明らかにした。どのタンパク質が関連して細胞凝集が成されるかについては，今後さらに検討が必要であると考える。

3aC07

ラン藻 *Plectonema boryanum* の光依存性プロトクロロフィリド還元酵素の遺伝子 *por* のクローニング

藤田祐一、長谷俊治（大阪大、蛋白研）

被子植物は、暗所でクロロフィル（Chl）を合成することができず黄化してしまう。これは、被子植物が、Chl合成の一過程であるプロトクロロフィリド（Pchlide）還元に、その反応自体に光を要求するNADPH:Pchlide還元酵素（POR）のみを用いているからである。PORは、真核光合成生物に限って分布すると考えられていたが、Chlの合成が光に依存するラン藻の変異株が単離されたことから、原核生物であるラン藻もPORを有していることが示唆された。そこで今回私たちは、光に依存しないPchlide還元酵素の遺伝子 *chlL, chlN, chlB* が同定されているラン藻 *Plectonema boryanum* からPORをコードする遺伝子 *por* のクローニングを試みた。

6種類の植物のPORで完全に保存されたアミノ酸配列に対応するプライマーを用いてPCRを行った。得られたDNA断片をプローブとして *P. boryanum* のゲノムライブラリーから2.0-kbの *Eco*RI断片をクローニングし、334個のアミノ酸残基をコードするORF（ORF334）を見出した。ORF334のアミノ酸配列が、植物のPORの成熟体部分と52～56%、別のラン藻 *Synechocystis* PCC 6803 と72%の相同性を示したことから、*P. boryanum* の *por* 遺伝子と結論した。現在、*por* 遺伝子欠損株の単離を進めている。

3aC08

ラン藻の光依存性プロトクロロフィリド還元酵素の大腸菌での機能的発現とシステイン改変体の解析

高木英典、藤田祐一、長谷俊治（大阪大・蛋白研）

クロロフィル生合成の一過程である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、光に対する依存性の異なる2種の系が存在する。私達は、ラン藻 *Plectonema boryanum* を材料として、光に依存したPchlide還元反応を触媒するNADPH:Pchlide還元酵素(POR)の遺伝子 *por* をクローン化しており、今回、大腸菌での大量発現系を構築し、Cys残基の改変体を解析したので報告する。

まず、*por* 遺伝子の全コード領域をPCRを用いて増幅し、発現ベクターpQE-60に挿入して大腸菌での発現を試みた。その結果、PORは可溶性蛋白質として大量に発現し、その粗抽出液は、NADPHと光とに依存したPchlide還元活性を有していた。

Pchlide還元反応には、PORのCys残基の関与が指摘されている。そこで、酵素活性に寄与するCys残基の同定を目的として、進化的に保存されている3つのCys残基を含む5つのCys残基各々をSer残基に置換した改変体を作製し、大腸菌で発現させて酵素活性を測定した。その結果、238番目のCys残基改変体の活性が減少していた。現在、詳細な酵素化学的解析を進め、光依存性Pchlide還元反応におけるCys残基の役割を検討している。

3aC09

好熱性藍色細菌 *Synechococcus vulcanus* の *psbA* 遺伝子群の解析

松岡正佳、福崎信夫、新村良太、田口真由美、小川隆平（熊工大・応微工）

好熱性藍色細菌 *Synechococcus vulcanus* よりクローン化された光化学系II の遺伝子群を中温性藍色細菌、*Synechococcus* sp. PCC7942 内で発現させ、熱安定なPS II 複合体を単離・解析することを目標とした。今回はまずPS II 反応中心を構成する D1 タンパク質をコードする*psbA* 遺伝子の解析を行った。

D1 タンパク質のアミノ酸配列の保存領域をもとにして増幅した 288 bp の PCR クローンの塩基配列を解析したところ、*S. vulcanus* にはそれぞれコードするアミノ酸配列が異なる少なくとも３種類の *psbA* 遺伝子が存在した。これらを PCC7942 株の３つの *psbA* 遺伝子との相同性に基づいて *psbA1, 2, 3* と命名した。各種制限酵素を用いた*S. vulcanus* のゲノム DNA の Southern 分析では２本のバンドが確認され、２つの*psbA* 遺伝子が密接につながっていることが示唆された。*psbA* 遺伝子を含む２つの *Eco*RI 断片 (6.6 kb, 4.9 kb) を λ gt10 の遺伝子ライブラリーよりスクリーニングし、現在配列を解析中である。予備的解析では D1 と D2 ヘテロ二量体の熱安定化に関与すると考えられた Cys-212 の残基は *psbA2, 3* 遺伝子には見られなかった。

3aC10

ラン藻（*Synechocystis* sp. strain PCC6803 ）ゲノムの構造解析

金子貴一、佐藤修正、小谷博一、田中亜矢子、浅水恵理香、宮嶋伸行、広沢誠、佐塚隆志、杉浦昌弘[1]、田畑哲之（かずさDNA研、[1]名大・遺伝子）

Synechocystis sp. strain PCC6803 は単細胞性ラン藻の一種で、高等植物と類似の酸素発生型の光合成を行う。外来のDNAを用いて形質転換が可能なこと、光従属栄養条件下でも培養できることなどから、光化学系に関する研究のモデル材料として広く利用されている。我々はPCC6803のもつ全遺伝情報を明らかにするために、ゲノム構造解析プロジェクトを進めている。1995年11月現在、約3.5 Mbからなる環状ゲノムのうち75%の領域の塩基配列を決定した。得られた配列をもとに、既知の遺伝情報に対するホモロジー検索やコード領域予測プログラム GeneMarkを用いた解析により、遺伝子領域の同定を行った。機能を推測できる遺伝子については、ゲノム上の配置や推定遺伝子産物の一次構造をゲノムの物理地図や全塩基配列が既に明らかにされている他の生物と比較した。その結果、これまでに以下のような知見を得た。

1) ホモロジー検索により光化学系遺伝子（*apc*D、*apc*E、*ndh*F、*pet*B、*pet*E、*pet*F、 *pet*X、*psa*K、*psa*M、*psb*I、*psb*M、*psb*T、*psb*U、*psb*X）のホモログを同定した。
2) WD-repeatをもつ蛋白質をコードしうるORFが複数ある。
3) ５種類のIS様配列(ISc100、ISc120、ISc203、ISc352、ISc523)を多数同定した。

D 会 場：環境応答 1

キーワード：傷害，病害抵抗性，温度応答，温度障害，光応答

第一日目 午前	
開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aD01
9:45	1aD02
10:00	1aD03
10:15	1aD04
10:30	休 憩
10:45	1aD05
11:00	1aD06
11:15	1aD07
11:30	1aD08

第二日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	2aD01
8:45	2aD02
9:00	2aD03
9:15	2aD04
9:30	2aD05
9:45	2aD06
10:00	2aD07
10:15	2aD08
10:30	休 憩
10:45	2aD09
11:00	2aD10
11:15	2aD11
11:30	2aD12

第三日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	3aD01
8:45	3aD02
9:00	3aD03
9:15	3aD04
9:30	休 憩
9:45	3aD05
10:00	3aD06
10:15	3aD07
10:30	3aD08
10:45	3aD09
11:00	3aD10
11:15	3aD11
11:30	3aD12
11:45	3aD13

第一日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	1pD01
13:15	1pD02
13:30	1pD03
13:45	1pD04
14:00	1pD05
14:15	1pD06
14:30	1pD07
14:45	1pD08
15:00	休 憩
15:15	1pD09
15:30	1pD10
15:45	1pD11
16:00	1pD12
16:15	1pD13
16:30	1pD14
16:45	1pD15
17:00	1pD16
17:15	1pD17

第二日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	2pD01
13:15	2pD02
13:30	2pD03
13:45	2pD04
14:00	2pD05
14:15	2pD06
14:30	2pD07
14:45	2pD08
15:00	休 憩
15:15	2pD09
15:30	2pD10
15:45	2pD11
16:00	2pD12
16:15	2pD13

1aD01

Ri-プラスミド由来アグロピン合成酵素遺伝子プロモーターの傷害誘導性

征矢野敬、近藤弘清、猪口雅彦（岡山理科大・生物化学科）

アグロピン型Ri-及びオクトピン型Ti-プラスミドのT-DNA上にはオパイン合成系としてアグロピン合成酵素遺伝子(以後それぞれRi-*ags*及びTi-*ags*と表記する)がコードされている。我々は、両*ags*遺伝子プロモーターの発現特性の比較解析を行い、前回の本大会において植物ホルモンに対する感受性調査の結果を報告したが、この調査過程においてRi-*ags*プロモーターが葉片を切り出すことにより活性化されることを見出した。今回は、Ri-*ags*プロモーターの傷害誘導性について、Ri-*ags*プロモーターとGUS構造遺伝子との融合遺伝子を導入した形質転換タバコを用いて検討を行ったので報告する。

傷害によるRi-*ags*プロモーターの活性化は、平常時には活性の低い葉及び茎において顕著に観察されたが、元々活性の高い根及びカルスにおいては傷害処理による誘導は見られなかった。また、葉片における傷害誘導は傷害部位に局部的に強く見られ、傷害に対する全身的応答発現は示さなかった。更に、既知の傷害誘導性遺伝子における傷害の情報伝達物質としてエチレン或いはアブシジン酸、ジャスモン酸が知られていることから、これらの３つの物質に対する反応性について調査を行った。その結果、いずれの処理によってもRi-*ags*プロモーターは活性化されず、むしろジャスモン酸においてはプロモーター活性の減少を導いた。この事実から、Ri-*ags*プロモーターの傷害誘導経路はこれらの物質を介していないと考えられる。

1aD02

傷害はシロイヌナズナ葉緑体局在ω-３脂肪酸不飽和化酵素遺伝子（*FAD7*）の組織特異的発現を劇的に変化させる

西内　巧、濱田達朗、児玉浩明、西村光雄、射場　厚（九州大・理・生物）

葉緑体局在ω-３脂肪酸不飽和化酵素遺伝子（*FAD7*）は、緑色組織に特異的で、かつ光依存的な発現を示し、その調節は主に転写レベルで行われている(Nishiuchi　et al., Plant Mol. Biol. (1995) 29: 599-609)。シロイヌナズナの葉における*FAD7*遺伝子の傷害による応答を調べたところ、傷害を与えて４時間後には、mRNA量が約２倍に増加した。シロイヌナズナの*FAD7*遺伝子の*FAD7*プロモーター領域をGUS遺伝子に結合させた融合遺伝子を導入した形質転換タバコにおいて、傷害を与えると、プロモーター活性が葉では約２倍増加するのに対し、茎では７～２９倍、根では４～８倍の顕著な増加が見られた。さらにGUS染色を行うと、傷害を与えてない場合には葉肉組織や茎の表皮下の緑色組織にのみ活性が検出されるのに対し、傷害を与えた場合、茎ではすべての組織で著しい活性が検出され、根では主に維管束で強い活性が検出された。また花や若い果実おいても、傷害による強い誘導が見られた。以上の結果は、通常*FAD7*遺伝子がほとんど発現していない非緑色組織において、傷害が*FAD7*遺伝子の発現を著しく誘導することを示している。

1aD03

傷害により発現が誘導される葉緑体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のタバコからの単離

濱田達朗、西内　巧、児玉浩明、西村光雄、射場　厚（九州大・理・生物）

ω-3脂肪酸不飽和化酵素は小胞体と葉緑体に局在し、リノール酸(18:2)からリノレン酸(18:3)への不飽和化を触媒する。我々は、タバコの葉のcDNAライブラリーから葉緑体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子を単離した。推定されたアミノ酸配列のN端側には葉緑体へのシグナルペプチドの特徴をもつ領域が存在した。この遺伝子のmRNAは葉で検出されたが、根では検出されなかった。タバコの葉における葉緑体および小胞体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の傷害による応答を調べたところ、葉緑体局在型遺伝子のmRNA量は傷害を与えて12時間後に傷害を与えない場合の約2倍に増加した。一方、小胞体局在型遺伝子のmRNA量は傷害を与えても変動しなかった。傷害を与えてから24時間後の葉の脂肪酸組成を測定した結果、主な糖脂質、リン脂質ともにリノレン酸含量が増加していることが明らかになった。

1aD04

傷害応答におけるサイトカイニンとMAPキナーゼの関与

瀬尾茂美[1,5]，岡本雅次[2]，瀬戸秀春[3]，佐野浩[4]，大橋祐子[5]（[1]筑波大・応生化，[2]東亜合成・つくば研，[3]理研・植物機能，[4]奈良先端大・遺伝子，[5]農水省・生物研）

植物の傷害応答におけるシグナル伝達機構は不明な点が多いが，我々は，これに低分子量GTP結合タンパク質とサイトカイニンが関係していることを示唆する知見を得ている[1)・2)]。最近単離されたタバコMAPK（mitogen-activated protein kinase）ホモログ，*WIPK*（wound-induced protein kinase）遺伝子は，傷害に極めて速く応答する。この遺伝子を導入した形質転換タバコを用いた解析から，WIPKがジャスモン酸合成を正に制御する因子である可能性が示唆された[3)]。今回，傷害応答におけるサイトカイニンの役割をさらに理解する目的で研究を行った結果，サイトカイニン処理した野生型タバコでは，*WIPK*遺伝子転写産物の蓄積の増加とJAの促進的な蓄積が見られた。植物の傷害応答におけるサイトカイニンとこのMAPKホモログとの役割について考察したい。

1）H. Sano *et al.* (1994) *PNAS* 91, 10556
2）H. Sano & Y. Ohashi (1995) *PNAS* 92, 4138
3）S. Seo *et al.* (1996) *Science*, in press

1aD05

タバコ培養細胞におけるフェニルプロパノイドによるアルミニウム毒性の阻害効果

蜂谷晶子、山本洋子、松本英明　（岡山大・資生研）

アルミニウム（Al）は、2価鉄（Fe^{2+}）とともに脂質過酸化をひきおこす。この過酸化反応を脂溶性抗酸化剤の添加によって抑制すると、AlとFe^{2+}による増殖阻害も抑制されることから脂質過酸化がAlとFe^{2+}による増殖阻害の原因と考えられる。この場合、細胞内に脂質過酸化を抑制する物質が蓄積すれば、Al耐性になることが考えられる。そこで、対数増殖期の細胞（＋P　細胞）に対してAl耐性を示すリン酸欠乏細胞（－P　細胞）を用いて、細胞内の低分子フェノール性化合物についてHPLCを用いて比較検討した。その結果、＋P　細胞に比べ　－P　細胞には、クロロゲン酸とその類似物質の蓄積が顕著に見られた。さらにクロロゲン酸は、＋P　細胞のAl処理時に添加することによって、脂質過酸化および増殖阻害を抑制した。以上の結果より、クロロゲン酸等のフェニルプロパノイドは、抗酸化剤としてAlとFe^{2+}による脂質過酸化から細胞を防御している可能性が高い。

1aD06

タバコ培養細胞におけるフェニルアラニンアンモニアリアーゼのアルミニウム耐性との関わり

山本洋子、蜂谷晶子、松本英明　（岡山大・資生研）

対数増殖期の細胞（+P 細胞）に比べて、リン酸欠乏細胞（-P 細胞）は、アルミニウム（Al）に対して耐性を示すとともに、抗酸化効果のあるクロロゲン酸及びその類似物質の含量が高い。これらの物質は、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（PAL）を律速酵素とするフェニルプロパノイド代謝系で合成されることが知られている。そこで、+P 細胞と-P 細胞の粗抽出液を用いてPAL活性を比較検討した。-P 細胞のPALの比活性は+P 細胞の活性よりも常に高く、+P 細胞をリン酸欠乏培地で3日間から6日間培養することによって10倍以上に増加した。PALの阻害剤であるAIPを添加したリン酸欠乏培地で6日間培養した場合、PALの比活性は阻害剤を加えない場合の60%に低下するとともに、クロロゲン酸及びその類似物質の含量は著しく低下した。以上の結果より、PALの比活性はリン酸欠乏によって増加すること、PALはクロロゲン酸等のフェノール性抗酸化剤を増加させることによってAl 耐性に関わる可能性が高いことが分かった。

1aD07

凍結保存したらベンダー細胞の再培養の方法について

栗山　昭、渡辺克美、河合文雄、金森正雄（財、環境科学総合研）

培養細胞の凍結保存は、遺伝子資源の安定的な保存法としては有効であるが、融解後の生存率が極めて低い材料が多いのが現状である。本研究では、凍結保存したラベンダー細胞の生存率を向上させる目的で、再培養の方法を改良したので、それについて報告する。

予備凍結法により、液体窒素中に保存した細胞を再培養する際、LS培地（アンモニウムイオン20 mMを含む）からアンモニウムを除去すると、高い生存活性が得られた。凍結傷害を受けた細胞に対するアンモニウムの有毒性についてさらに詳しく調べたところ、アンモニウム除去培地で1日培養した細胞は、その後LS培地に移しても高い生存活性が得られた。一方、LS培地で1日培養した細胞は、その後アンモニウム除去培地に移しても、高い生存活性は得られなかった。これらの結果から、凍結傷害を受けたラベンダー細胞の、アンモニウムイオンに対する感受性は、再培養開始から２４時間以内に、なくなるものと考えられる。

またアミノ酸の効果についても検討したところ、ある種のアミノ酸は、アンモニウム以上に有毒であったが、生存率の向上に効果的なアミノ酸もあった。

1aD08

葉に与えた刺激の根の成長速度に対する効果

河野順帆, 呉基鳳, 松岡英明, 根本泰行
（東京農工大・工・生命工学）

植物個体の異なる器官の間のシグナル伝達機構の解析を目的として、葉に熱刺激を与えた時の根の成長速度の変化を、細胞成長自動解析装置（バイオセルトレーサー）を用いて詳しく測定した。カイワレダイコン（*Raphanus sativus* L.）を材料として用いたところ、刺激を与える前には約 10 μm/min であった根の成長速度が、刺激の 1 分後には約 33 μm/min へと著しく増加した。しかしながら、5 分後には刺激前と同じ成長速度に戻った。同様の現象がタバコ（*Nicotiana tabaccum* L.）においても観察された。しかしながらこれらの実験では、植物材料は重力方向に対して平行に成長していたものを使用していたために、葉に与えられた熱刺激の熱によって、培養系全体や植物個体全体が物理的に膨張した可能性が考えられた。そこで、植物材料を 90 度傾けたり逆さにしたりすることによって根を S の字や U の字の形に曲げて成長させ、熱膨張の効果を排除した試料を作製して実験を行ったが、まっすぐに成長した個体と同様の現象が見られた。また、熱により葉の組織が収縮し、その結果生じた水圧の効果が根の先端に伝わったという可能性も考えられたので、茎を切断することにより刺激を与えたところ、葉に熱刺激を与えたときと全く同じ現象が観察された。従って、本研究で見出された現象は水圧や熱膨張などの物理的な効果が原因となっているのではないことが示された。

現在、どのような種類のシグナルが葉から根に伝わっているのかを解析しているところである。

1pD01

形質転換タバコにおけるエンドウ *PAL* 遺伝子の発現制御機構の解析

井村喜之、森川暁子、Dalius Michaelzack、一瀬勇規、白石友紀、山田哲治（岡山大・農）

エンドウのフェニールプロパノイド合成経路の第一鍵酵素をコードする phenylalanine ammonia - lyase 遺伝子 (*PSPAL*) は、病原菌の攻撃に対する防御応答遺伝子の一つでもある。*PSPAL* 遺伝子ファミリーのメンバーの一つである *PSPAL1* プロモーターの菌感染による *in vivo* での発現様式と防御反応応答に必要なシスエレメントを解析する目的で、*PSPAL1* プロモーター領域の下流にレポーターとしてβ-グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子を連結したキメラ遺伝子を構築し、タバコ植物体に導入した。この形質転換タバコでは、タバコの非病原菌 (NP) を接種した周辺の組織で、接種後 24 時間目に無処理区と比較して 8~9 倍程度の GUS 活性の増高が認められた。このことから、*PSPAL1* プロモーター領域に NP 応答性エレメントが存在すると考えられる。そこで、*PSPAL1* プロモーター領域に存在する菌エリシター誘導応答に必須であると考えられるシスエレメントの候補の遺伝子改変を行い、NP 応答性を GUS 活性を指標として調べた。Box II, Box IV を欠除させたキメラ遺伝子を導入したタバコでは、GUS 活性は誘導されなかったが、Box IV を付加させると NP 接種により有意に活性が上昇した。さらに、Box II を付加させると、より顕著な活性上昇が認められた。以上の結果から、Box IV 及び Box II は NP 応答性に重要なシスエレメントであり、これらは協調的に *PSPAL1* の発現を誘導するものと考えられた。

1pD02

エンドウの防御応答性*CHS*遺伝子の分子進化

伊藤正幸、一瀬勇規、白石友紀、山田哲治（岡山大・農）

カルコン合成酵素(CHS)は、植物のフラボノイド合成系の鍵酵素であり、UV照射や植物病原菌に対する防御物質であるイソフラボノイド、あるいは花の色素成分アントシアニンなどの合成に寄与している。我々の研究室ではこれまで、エンドウの７つの*CHS*遺伝子、並びに６種類の*CHS*-cDNAを単離し、構造を解析してきた。今回、これらの*CHS*遺伝子ファミリーのうち防御応答性*CHS*遺伝子群を同定し、その構造の特徴、並びに分子進化的な位置づけを行ったので報告する。エンドウ*CHS*遺伝子のコーディング領域、プロモーター領域、イントロンの塩基配列を比較すると、*CHS*遺伝子は構造的に３つのグループに分類できた。更にこの分類はエリシター処理エンドウ上胚軸から単離された*CHS*-cDNAの数を指標としたエリシター応答性による分類と一致した。即ち、エリシターにより強く誘導されるグループ(*PsCHS1*～*2*)、弱く誘導されるグループ(*PsCHS3*～*5*)、誘導されないグループ(*PsCHS6, 7*)に分類された。以上のことから*CHS*の祖先遺伝子は、エリシターに応答する防御応答性遺伝子と、非防御応答性遺伝子に進化の初期に分岐したと推測された。

1pD03

エンドウカルコン合成酵素遺伝子のエリシターによる発現制御シスエレメントの解析

關　光、一瀬勇規、白石友紀、山田哲治（岡山大・農）

エンドウ褐紋病菌由来のエリシターはエンドウカルコン合成酵素(CHS)遺伝子ファミリーのメンバーの一つである*PSCHS1*の転写を誘導する。本遺伝子のプロモーター解析から、-242～-182の領域に存在するAT-richなダイレクトリピート配列がエリシター応答性シス領域の一つとして同定された。しかし、本配列のみではエリシター応答に十分ではなく、この配列以外にもエリシター応答性シスエレメントが存在していると推測された。本遺伝子の-181～+78の領域には、他の植物のフェニルプロパノイド代謝系遺伝子のプロモーター上にも広く保存されており、エリシターやUVによる発現誘導に関与すると考えられている保存配列(Box I, Box II, G-Box)が存在している。これらの保存配列に塩基置換を導入すると、プロモーター活性だけではなく、エリシター応答性も低下した。特にBox IあるいはG-boxに塩基置換を導入するとその効果は顕著に表われた。以上の結果から、本遺伝子のエリシター誘導応答には、上流に存在するAT-rich配列とともに、これら保存配列が正のシスエレメントとして機能していることが示された。

1pD04

エリシター及びサプレッサーによるエンドウフェニルアラニンアンモニアリアーゼ遺伝子の発現制御

村上泰弘，一瀬勇規，白石友紀，　山田哲治（岡山大・農）

エンドウフェニルアラニンアンモニアリアーゼ遺伝子(*PSPAL*)の発現はエンドウ褐紋病原菌エリシターで誘導されるが、サプレッサーでは抑制される。エンドウ*PSPAL1*遺伝子のプロモーターの近傍にはエリシター応答に関与するシスエレメントが少なくとも3つ（Box I、Box II、BoxIV）存在する。これらのBoxシークエンスのエリシター及びサプレッサー応答に対する重要性を明らかにするために、それぞれのBoxシークエンスを除去或いは増幅したキメラ遺伝子を構築し、パーティクルガンを用いてエンドウ植物体に導入した後、トランジェントアッセイを行った。Box IIあるいはBox IVが欠損すると、プロモーター活性とともにエリシター応答性が低下した。しかし、Box IV-Box II のプロモーター活性化への効果、及びエリシターやサプレッサーに対する応答性への効果は、Box Iが3'下流側に存在するときのみ、顕著に表われた。これらのことから、Box IV-Box II とBox Iとの相互作用が、エリシター及びサプレッサー応答性に重要であると考えられた。

1pD05

ヤグルマギク培養細胞のCHScDNAの解析

石原　悟、戸栗　敏博[1]、武田　幸作（東京学芸大学・生物、[1]キリンビール基盤技術研究所）

ヤグルマギク懸濁培養細胞では、紫外線を含む光照射によりアントシアニン（Cyanidin3-(6"-malonyl)glucoside)の生成が誘導される。この現象で、これまでに、光照射後アントシアニン合成に先だって、アントシアニン合成関連酵素(PAL,CHS,CHFI,MAT)活性がいずれも急激に増加すること、その中でCHSは、光照射により誘導され、鍵酵素的に働いていること、また、CHS活性の誘導は、CHS遺伝子の転写レベルの調節であることが報告されている。

本研究では、紫外線照射後24時間の細胞よりcDNAライブラリー（λZAPⅡ）を作製し、パセリのCHScDNA（plf56）をプローブとし、CHScDNAのクローニングを行った。その結果、7個のクローンを得ることができた。これらのクローンには制限酵素部位の異なる2種のCHScDNA(CHS-a,CHS-b)が含まれていた。それらの塩基配列を決定した結果、CHS-a・CHS-b共に、ORFは、1191bp、397アミノ酸残基であった。パセリのCHScDNAとの相同性は、塩基配列で74%、アミノ酸配列で87%であった。またCHS-aとCHS-bの間では、ヌクレオチドで97.6%、アミノ酸配列は、全く同一であった。

1pD06

エリシター処理により誘導されるカンゾウ培養細胞の cytochrome P450 遺伝子

明石智義，高橋武美，綾部真一（日本大・農獣医・応用生物）

マメ科植物は一般にイソフラボン系のストレス化合物を生成するが，カンゾウ（*Glycyrrhiza echinata*）培養細胞ではエリシター刺激によりレトロカルコン合成系が誘導される．両生合成系の分岐には異なる P450 が関与し，カンゾウでは flavone synthase II と同一または類似の P450 により中間体 licodione が生成する*．今回これらの実体を明らかにするため P450 遺伝子のクローニングを試みた．はじめに P450 のコンセンサス配列を基にプライマーを作製し，イースト処理したカンゾウ細胞 cDNA ライブラリーを鋳型にして PCR を行った．8 個の P450 断片が得られ，そのうちの 2 断片は Cyp 73 ファミリーとの間に高い相同性が見られた．他の 6 断片は既知の P450 との相同性はなく，新しいファミリーに属すると推定された．また各 P450 の発現様式を Northern blotting により解析すると，エリシター刺激に対し誘導時間の異なる P450 分子種が存在することが明らかになった．

* Otani K et al.(1994) Plant Physiol. 105: 1427.

1pD07

タバコ培養細胞系における糸状菌エリシターによる細胞死の誘導

矢野　明[1,2]、鈴木　馨[2]、内宮　博文[1]、進士　秀明[2]（[1]東大・分生研・細胞機能、[2]工技院・生命研・植物分子生物）

植物の重要な感染防御反応である過敏感反応死について盛んに研究が行われているが、その分子機構についてはほとんど知られていない。我々はタバコ培養細胞系（ＸＤ６Ｓ）を用いてエリシターシグナルによって引き起こされる防御反応を解析する過程において、ある種の糸状菌由来のタンパク質性エリシターが細胞死を引き起こすことを見出した。この糸状菌エリシターをタバコ培養細胞（ＸＤ６Ｓ）に作用させると速やかに４７ｋＤａプロテインキナーゼの活性化が起き、活性酸素の発生、防御遺伝子の発現に続き、さらに細胞死が誘導されることが観察された。そのときの形態的変化としては細胞質及び核の縮小が見られた。またタンパク質リン酸化阻害剤であるスタウロスポリンをエリシターとともに処理したところ、細胞死が阻害された。一方、同じ糸状菌エリシターをタバコ培養細胞（ＢＹ２）に作用させても、細胞死は起きなかった。

我々はこのＸＤ６Ｓにおける積極的な細胞死が過敏感反応のモデル系として有効であると考え、現在その分子機構の解析を進めている。

1pD08

タバコ細胞のエリシター応答性47-kDプロテインキナーゼの解析

鈴木　馨，矢野　明，進士　秀明（工技院・生命研・植物分子生物）

植物は病原体の侵入に際して抗菌物質の生産、防御遺伝子発現、過敏感反応死等の防御応答によって対抗する能力を有している。このような防御応答の分子機構を解明するためにタバコ培養細胞においてエリシターシグナルを伝達するプロテインキナーゼの解析を行っている。エリシターによる活性酸素の発生誘導、防御遺伝子発現といった防御応答の誘導にはタンパク質リン酸化が必須であることを示し、チロシンリン酸化によって制御されるエリシター応答性47-kDプロテインキナーゼを同定した。このキナーゼは、エリシターによる防御応答に先だって活性化され、プロテインフォスファターゼ阻害剤（カリクリンA）によって防御応答とともに活性化される。したがって、プロテインフォスファターゼによって制御される47-kDプロテインキナーゼ・カスケードが、エリシターシグナルの伝達に関与していると考えられる。この47-kDプロテインキナーゼのさらなる解析結果及び単離・精製について述べる予定である。

1pD09

イネ培養細胞にエリシター活性を示すイモチ病菌β-グルカン断片

山口武志　渋谷直人（農水省　農業生物資源研）

高等植物では病原菌やウイルスの感染にともなって種々の生体防御系が動員されることが知られている。本研究室ではこれまでに糸状菌細胞壁の骨格を形成するキチンの特定のサイズ以上の断片とともに、イモチ病菌細胞壁β-グルカンとその断片もまた、イネの培養細胞に対して強いエリシター活性を示すことを報告した[1) 2)]。

イモチ病菌（Pyricularia oryzae）細胞壁より調製したβ-グルカンを、市販酵素標品から精製したエンドβ-1,3 グルカナーゼで酵素消化することにより調製したβ-グルカン断片混合物はイネ液体培養細胞（BL-2）に対して強いエリシター活性を示したが、1,3β結合の直鎖であるCurdlanの部分酸水解混合物と、1,6β結合のgentiopentaose、さらに大豆のエリシターであるhepta(1-3, 1-6)β-glucosideでも活性は全く認められなかった。従って、βグルカン断片混合物中のエリシター活性断片は直鎖のβグルカンではなく、しかもhepta(1-3,1-6)β-glucosideとは異なる枝分かれ構造を有していることが示唆された。このβ-グルカン断片混合物をさらに逆相とイオン交換クロマトグラフィーにより精製した結果、少数の断片のみが活性を示すことが確認され、その収量から、それぞれnmolオーダーで強いエリシター活性を示すことが示唆された。これら活性グルカン断片の構造について現在検討中である。

1) A. Yamada et al. Biosci. Biotech. Biochem., 57, 405(93)
2) 山口武志他、95年度日本農芸化学会大会要旨集 p99

1pD10

イネ培養細胞におけるエリシターに対する膜電位応答

菊山宗弘，朽津和幸[1]，渋谷直人[1]（放送大・生物，生物資源研・細胞生理）

イネ培養細胞をエリシター処理すると，膜の一過性の脱分極と，Cl^--efflux の増加がみられる。この現象はアザイド存在下でも起こることから，呼吸に依存したものではなく，イオンチャンネルの開閉によるものと考えられる。

膜の脱分極のためには外液中の Ca^{2+} の存在が必要であること，アニオンチャンネル阻害剤である A-9-C や DIDS は脱分極を阻害しないことから，この現象は Ca^{2+} チャンネルの活性化によると考えられる。

1pD11

イネ生葉における種々の刺激によるキチナーゼ遺伝子の発現と細胞間情報伝達機構の解析

斉藤美佳子，野村正太，吉村英尚，根本泰行，松岡英明，西沢洋子[1]（東京農工大・工・生命工学，[1]農水省・生物資源研究所）

植物体内における情報伝達機構を遺伝子レベルで解析するために、キチナーゼ遺伝子に着目し、エリシター（*N*-アセチルキトオリゴ糖：7量体）、パンチで穴をあける機械的刺激、及び熱刺激(116 °C)の3種類の刺激によるキチナーゼ遺伝子の発現について分析した。その結果、イネ生葉にエリシターを作用させると、作用させた部位で、30分以内にキチナーゼ遺伝子の発現が認められた。また、エリシターを葉の先端一部分だけに作用させると、同一の葉の他の部分では作用させた場所よりも遅れてキチナーゼ遺伝子が発現し、その際の情報の伝達速度は約1.0 mm/minであった。同様に、機械的刺激や熱刺激を与えた場合でもキチナーゼ遺伝子の発現が認められたが、その時の情報伝達速度は、機械的刺激の場合はエリシターの場合と同様に約1.0 mm/minであったが、熱刺激のときには約3.0 mm/minであることがわかった。これらのことから、キチナーゼ遺伝子は異なる3種類の刺激に応答してその発現が誘導され、また、他の離れた場所においても誘導されることが明らかとなった。しかし、その応答パターンには少なくとも2種類の異なるものがあることがわかった。

1pD12

ダイズのβグルカンエリシター受容体のcDNAクローニング

梅基直行，柿谷誠，岩松明彦，吉川正明[1]，山岡直人[1]，石田功（キリンビール・基盤研，[1]北大院・生物科学）

糸状菌(*Phytophthora megasperma*)の細胞壁に由来するβグルカンエリシター（平均分子量1万）に結合する蛋白質をダイズ根膜画分より精製し部分アミノ酸配列を決定、これを基にライブラリーからcDNAクローンを得た。大腸菌で全長及び部分長を発現したものはエリシターに結合能を示し、βグルカン結合領域が中央1/3にあることを明らかにした。この領域に対する抗体はエリシターとダイス膜画分との結合ならびにエリシターで誘導されるダイズ子葉でのファイトアレキシン蓄積を阻害することができた。このことは当cDNAは植物抵抗性反応に係わるエリシター受容体をコードすることを示している。

1pD13

植物の細胞間における色素分子の移動の電気的制御

大井晶夫、斉藤美佳子、根本泰行、松岡英明
（東京農工大・工・生命工）

植物が外界から受けたストレスシグナルは、細胞内で別のシグナルに変換されて、細胞間を伝達すると考えられている。

演者らは、細胞間での物質の移送に関しての基礎的な知見を得るために、螢光色素ルシファーイエロー(LY)を指標として細胞間での色素移送を制御できる系を作製することとした。植物材料として適度な大きさのクラスターを形成するタバコ培養細胞BY-2株を用い、隣接する細胞のそれぞれに3チャンネル型マイクロ電極を1本ずつ刺入して一方の細胞に色素導入を行った後、2つの細胞間に電場を印加して色素の分布状態を観察した。その結果、印加した電場に応じて色素が隣接する細胞に移送される様子が観察された。

これらの実験ではLYは液胞内に注入されているが、現在、原形質に直接LYを導入する系を開発中である。

1pD14

ラン藻 *Spirulina platnsis* のアデニル酸シクラーゼ遺伝子 *cyaC* の解析

笠原賢洋, 屋代久美子, 坂本敏夫, 大森正之 （東大・教養・生命環境）

糸状性ラン藻である*Spirulina platensis*では培地へのcAMPの添加により、運動速度の増加、呼吸の促進、細胞内のATP量の増加が見られる。また、細胞を明所から暗所へ移すと細胞内のcAMP量が増加することが知られている。

S. platensis には少なくとも3種類のアデニル酸シクラーゼ遺伝子(*cyaA*, *cyaB*, *cyaC*)が存在することが遺伝子の全配列または部分配列によって確認されている。

今回我々は*cyaC*の全塩基配列を決定した。推定されるアミノ酸配列のC末端側には、他のラン藻や動物に見られるのと同様なアデニル酸シクラーゼの触媒部位が存在した。触媒部位よりN末端側には、バクテリアにおける環境応答分子として知らてい二成分制御系タンパク質と相同な配列が存在した。二成分制御系は多くの場合、センサータンパク質とレギュレータータンパク質という2つの独立なタンパク質で構成されるが、*cyaC*にはN末端側から、レギュレーター、センサー、レギュレーターの順序で並んだドメインが存在していた。

1pD15

病害抵抗性とイオン変動について（2）褐紋病菌サプレッサーの種特異的作用

天野政史、豊田和弘、一瀬勇規、山田哲治、白石友紀 （岡山大 農）

エンドウ組織を褐紋病菌（*M.pinodes*）エリシター（E）で処理すると、処理液中には Na^+, K^+ の急速な増加、及びpHの一時的な低下とそれ以降の上昇が認められた。これらの変動はエンドウの防御応答を抑制する薬剤や褐紋病菌サプレッサー(S)により抑制されることから、イオン変動と防御応答発現との密接な関係が示唆された。そこで、非宿主植物であるササゲを用いてイオン変動を調べた結果、ササゲ組織においても E 処理後15秒以内に Na^+, K^+ の増加、及びpHの低下と引き続く上昇が認められた。Na^+, K^+ の変動と pH の上昇はモネンシン、ナイジェリシン及び Na^+ チャンネル阻害剤の共存下で抑制されたが、グラミシジンD、バリノマイシン及び K^+ チャンネル阻害剤では抑制されなかった。一方、S が共存してもこれらの変動は抑制されず、逆に S 単独処理においても E と同様な Na^+, K^+ の変動が誘導された。ササゲのファイトアレキシン（キイビトン）蓄積に及ぼす S とこれらの薬剤の影響を調べた結果、イオン変動を抑制する薬剤と E の共存下では蓄積が抑制され、S 処理においては逆に誘導された。以上の結果からイオン変動、特に Na^+ の初期変動は植物防御応答と密接な関係があること、さらに S はこれらイオン変動に対しても種特異的作用を示すことが明らかとなった。

1pD16

TMV感染による壊死病斑形成における
エチレン合成の重要性

大坪憲弘、瀬尾茂美、山下聡、古賀正明、
大橋祐子（農水省・生物研）

タバコでは、病原体感染に伴う壊死病斑形成時にエチレンの誘導が起こることが知られている。我々は、エチレンの合成と病斑形成との関連を明らかにするために、TMV抵抗性タバコ（*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN）で同調的に壊死病斑を形成させる系を用いて、エチレン生成量の時間的な変化を詳細に解析してきた。その結果、単にエチレンが病斑形成の結果として産生されるのではなく、病斑の形成に促進的に働く可能性があることを拮抗阻害剤の1つである2,5-norbornadiene (NBD)を用いた実験などから明らかにしている（第18回日本分子生物学会年会）。

今回、エチレンが病斑形成にどのように関わっているのかをより明らかにするために、TMVに感染させたタバコ葉をエチレン合成に促進的／阻害的に働く様々な薬剤で処理した場合に、病斑のでき方にどのような変化が見られるかをこの時期に発現するエチレン合成関連遺伝子やエチレンによって誘導される抵抗性関連遺伝子の発現とともに詳細に調べたので報告する。

1pD17

ウイルス感染がヒヨドリバナの光合成に及ぼす影響

舟山　幸子、寺島　一郎（筑波大　生物科学）

キク科の多年生草本ヒヨドリバナ（*Eupatorium makinoi*）によく見られる葉脈黄化症状は、geminivirusの一種によるウイルス病徴である。本研究では、このウイルスに感染したヒヨドリバナの葉の光合成特性について調べた。

感染葉の光合成速度は非感染葉に比べて、弱光下では有意に低かったが、飽和光下では同等であった。弱光下における光合成速度の低下は、クロロフィル含量の減少にともなう光吸収率の低下のためであった。また、感染葉は非感染葉に匹敵する量のRuBPCaseを持ち、これによって非感染葉と同等の最大光合成速度が維持されていることが示唆された。

感染葉におけるクロロフィル含量の減少は、集光性クロロフィル*a/b*タンパク（LHC）の量が著しく減少していたためであった。以上から、ウイルスに感染したヒヨドリバナは、*b*-less mutantに類似した光合成を行っていることがわかった。

2aD01

高温ストレスによる、蛍光強度F_0レベルの上昇

山根由裕、菓子野康浩、小池裕幸、佐藤和彦（姫路工業大学・理・生命科学）

植物の生葉に高温ストレスを加えると、クロロフィル*a*から発光される蛍光の強度が変化する。それらの変化のうち、F_0（PS II反応中心が全て開いたときの蛍光強度）のレベルは、高温ストレスがかかるにつれて上昇する。このことについては、LHC IIの解離、P_{680}反応中心の熱失活、Q_AからQ_Bへの電子伝達の阻害など、様々な原因が提唱されているが、まだ確立した説にはなっていない。本学会では上記の原因のうち、どれがF_0上昇の主原因なのかをホウレンソウを材料に行った実験結果を報告する。

タンパク質の動きを抑える、チラコイド膜のグルタルアルデヒド処理の効果は、F_0の上昇に何らかのタンパク質の動きが関与していることを示唆した。Q_Aの酸化剤、フェリシアン化カリウムの効果から、Q_Aの酸化還元レベルの変化の寄与はないことがわかった。また、チラコイド膜をフレンチプレス処理によって、グラナ画分とストロマ画分に分配し、F_0上昇を観察した。以上の結果を踏まえ、F_0の上昇の原因について考察する。

2aD02

ヤナギ科植物の雄花で発現する*DnaJ* homolog

二村典宏、篠原健司(森林総研)

大腸菌DnaJは熱ショックタンパク質であり、DnaKとともに分子シャペロンとして機能する。既に報告したように、バッコヤナギ(*Salix bakko*)由来のヒト雄性決定因子SRYに類似した4種類のDNA断片のうち、SB12は*SRY*だけでなく、塩生植物*Atriplex nummularia* の*ANJ1*(*DnaJ* homolog)に高い相同性を示し、雄花しかも雄ずいで特異的に発現する。今回は、SB12のcDNAクローンの構造と発現特性について報告する。

cDNAライブラリーの作製には、SB12の発現量の多いカワヤナギ(*Salix gilgiana*)雄花のpoly(A)+RNAを用いた。単離したcDNAクローン(*SGJ1*)はほぼ完全長のmRNA(1.7kb)の情報を持つものの、3つのイントロンと考えられるDNA配列を含む前駆体mRNAに対するcDNA(2555bp)であった。このイントロンと考えられる領域を除いて*ANJ1*と比較すると、塩基配列で69%、アミノ酸配列で72%の相同性を示した。SGJ1タンパク質はN端にJ-domain、G/F領域、CXXCXGX(G)の4回繰り返し配列、C末端にQCAQQ配列というDnaJ-likeタンパク質に特徴的な構造をもっていた。*SGJ1*はバッコヤナギと同様に、雄花で特異的に発現し、葉、若い枝、根、雌花での発現のレベルは低かった。また、カワヤナギの挿し木を用い、*SGJ1*mRNAが熱ショックや塩ストレスにより誘導されるか検討したが、*ANJ1*と異なり、これらのストレスにより顕著に誘導されることはなかった。以上の結果は、*SGJ1*が*ANJ1*と異なる機能をもつ*DnaJ* homolog である可能性を示唆している。

2aD03

好熱性ランソウ*Synechococcus vulcanus* のHSP60及びHSP16の解析

Sanjit K. Roy，田中直樹，仲本　準，檜山哲夫
（埼玉大・理・分子生物）

我々は好熱性ランソウ*Synechococcus vulcanus*の熱ショック蛋白質（HSP）として高温で顕著に蓄積するいくつかの蛋白質を見出した。最も顕著に蓄積するHSP60（GroEL）に関しては，2種類の遺伝子（*groEL1*と*groEL2*）を単離し解析してきた。最近 SDS-PAGEの条件を詳細に検討することにより，N-末端のアミノ酸配列はGroEL1とほぼ同じだが，ペプチドマッピングのパタンが異なる非常に近接した大小2本のバンドが検出され，そのうち小さいバンドのみが熱ショック（50℃→63℃）により特異的に発現されることが分かり，*groEL1*とよく似た別の遺伝子の存在が示唆された。一方分子量16,000程度のバンドがやはり非常に特異的に熱ショックにより誘導された。常温性ランソウ*Synechocystis* sp. PCC6803でも同様なバンドが見られN-末端アミノ酸配列は互いに相同性があった。更に内部のアミノ酸配列には高等植物や酵母などで報告されている分子量2万前後の小型熱ショック蛋白質のものとかなりの相同性が見られた。

2aD04

好熱性ランソウ *Synechococcus vulcanus* の熱ショック蛋白質をコードする遺伝子 *groEL1* 及び *groEL2* の解析

田中直樹, 仲本 準, 檜山哲夫 (埼玉大・理・分子生物)

我々はこれまでに大腸菌の *groEL* と相同性を示す二つの遺伝子 (*groEL1* と *groEL2*) を *Synechococcus vulcanus* からクローニングし塩基配列や発現調節を調べてきた。*groEL1* の上流には *groES* が存在し *groEL* と共転写されたが, *groEL2* は単独で存在していた。また *groEL2* の上流には大腸菌の熱ショックプロモータ類似の配列が見出されたが *groES/groEL1* オペロンには見られなかった。いずれの遺伝子も熱ショックによって発現が誘導されるが, 転写・翻訳産物の蓄積量は顕著に異なり別々の調節機構の存在が示唆された。これら遺伝子を大腸菌の温度感受性変異株 (*groEL* 欠損) に組み込み, 高温耐性回復を調べたところ, *groESL1* オペロンを組み込んだ菌は高温耐性を回復したが, *groEL2* を組み込んだ菌は発現しているにもかかわらず高温耐性回復は見られなかった。よってこのランソウの GroES 及び GroEL1 蛋白は大腸菌の高温耐性に寄与すること及びその熱ショックプロモータは大腸菌でも機能すると結論した。

2aD05

コムギカタラーゼのcDNA クローニング

猿山晴夫、松村 健 (北海道グリーンバイオ研究所)

我々は、イネの発芽、伸長時における低温耐性に、活性酸素除去系酵素のカタラーゼ (CAT) が深く関与している事を明らかにした (1,2)。一方、コムギは、イネでは発芽が見られない低温下 (5℃) においても、発芽、伸長が見られる。またチホクコムギでは発芽、伸長に伴いカタラーゼ活性が、イネに比べて著しく上昇することや、低温処理 (5℃,7日) されたイネseedlingのカタラーゼ活性は減少するが、チホクコムギのそれはほとんど影響を受けないことを見いだしている。

この様な結果から、コムギカタラーゼ遺伝子をイネに導入、発現させることにより、イネの低温耐性能の改良が可能であると考え、コムギカタラーゼ cDNAのクローニングを行った。すでに報告されている幾つかの植物カタラーゼのアミノ酸配列の相同性領域からプライマーを作製し、コムギ genomic DNA を鋳型として PCR法により 0.4 kbp の増幅断片を得た。それをプローブとして、コムギ cDNA ライブラリーをスクリーニングし、12個のポジティブクローンを得た。それらの中の1つは 492 個のアミノ酸から成る翻訳領域が認められた。この配列を他の植物 (イネ、トウモロコシ、ジャガイモ、ワタ、アラビドプシス、タバコなど) のカタラーゼと比較したところ、アミノ酸レベルで 67~85 % という高い相同性が示された。

(1) Saruyama and Tanida, (1995) Plant Science, 109: 105-113.
(2) Tanida, Breeding Science, in press.

2aD06

ﾄﾗﾝｽｼﾞｪﾆｯｸｲﾈでのｺﾑｷﾞｶﾀﾗｰｾﾞ cDNA の発現

松村健、田林紀子、鎌形泰代、猿山晴夫 (北海道グリーンバイオ研究所)

我々は、遺伝子組換え操作により低温耐性のイネを作出する目的で、コムギカタラーゼ遺伝子(pWCAT6-22)をクローニングし、イネへの導入、発現を試みた。導入遺伝子には、CaMV35S プロモーターの下流に pWCAT6-22 を発現方向に挿入したクローン pTNCAT39 とアンチセンス方向に挿入したクローン pTNA4 を作製した。これらの遺伝子をエレクトロポレーション法によりそれぞれイネプロトプラストへ導入した。導入後のプロトプラストは、ハイグロマイシン耐性を指標に選抜し、それぞれ56個体、13個体の再分化個体を得た。サザン解析で pTNA4の導入が確認された形質転換体の葉をnative PAGE とカタラーゼの活性染色法により解析した結果、イネカタラーゼバンドの減少は認められなかった。一方、pTNCAT39 を導入した個体の葉を同様に解析した結果、コムギカタラーゼに相当する位置にバンドが検出された。これらの個体の葉のカタラーゼ活性を測定した結果、非形質転換イネの約4倍量の活性を持つ個体も確認された。

2aD07

***IN VIVO* ACTION OF GLYCINEBETAINE IN ENHANCING THE TOLERANCE TO HIGH AND LOW TEMPERATURE**

Patcharaporn DESHNIUM[1,2], Zoltan GOMBOS[1], Yoshitaka NISHIYAMA[1], Norio MURATA[1,2]; [1]Dept. Regulation Biol., Natl. Inst. Basic Biol., Okazaki 444, Japan, [2]Dept. Mol. Biomechanics, Grad. Univ. Advanced Studies, Okazaki 444, Japan

The cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942 was transformed with the *codA* gene for choline oxidase under control of a constitutive promoter, and this transformation rendered the cyanobacterial cells to accumulate glycinebetaine in the cytoplasm and to be tolerant to salt. In the present study, we report the effect of accumulation of glycinebetaine on the tolerance to high and low temperature stresses. The transformed cells grew well at 42°C and 20°C at which the growth of wild-type cells was remarkably retarded. We found that photosynthesis of the transformed cells was more tolerant to low temperature and low-temperature photoinhibition than those of the wild-type cells, whereas its sensitivity to high temperature was not affected by the transformation. In parallel with the improvement of the low-temperature tolerance in the transformed cells, the lipid phase transition of plasma membranes from liquid-crytalline state to the phase-separated state shifted toward low temperature. However, the composition of fatty acids and protein patterns of the plasma membranes were not affected by the transformation. These results suggest that the accumulated glycinebetaine in the cytoplasm interacted the lipid membranes and decreased the temperature for phase transition. This turned to the enhancement of tolerance to low temperature in the transformed cells.

2aD08

低温感受性植物の低温光阻害からの回復

園池公毅、石橋百枝、渡辺昭（東大・院・理・生物科学）

キュウリなどの低温感受性植物は低温にさらされると光合成能を失なうが、この失活は弱い光照射により大きく促進される。これは低温で光化学系Ⅰが選択的に光阻害を受けることによる。この光合成の失活は、系Ⅰの電子受容体として働く鉄イオウセンターの破壊の他に反応中心サブユニットの分解を伴う。このことは、光合成は低温光阻害を受けると新規にタンパク質が合成されるまで回復しないことを示唆する。そこで、低温感受性植物の低温による光合成阻害からの回復を調べるため、インゲンを材料に用いて、生葉での低温処理後の系Ⅰの反応中心クロロフィル（P-700）量および系Ⅱの量子収率（Fv/Fm）の変化を、パルス変調による in vivo での蛍光測定と吸収測定によって追跡した。その結果、3.5℃において5時間180 μmol/m^2/sの光で処理した葉では、系Ⅱが1日以内に回復するのに対して系Ⅰは回復に3-4日かかることがわかった。より低温の1.5℃の処理では、系Ⅰ、系Ⅱともに回復は非常に遅くなった。また、どちらの処理でも残存するP-700の酸化には、未処理の場合より強い励起光が必要であった。このような低温処理からの回復の特徴を、系Ⅱの光阻害からの回復と比較検討して報告する。

なお本研究は新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)／財団法人地球環境産業技術研究機構(RITE)の研究委託により行われたものである。

2aD09

CHILLING-RESISTANT PLANTS EXHIBIT RAPID RECOVERY FROM LOW-TEMPERATURE PHOTOINHIBITION

ALIA, Byoung Yong MOON, Norio MURATA;
Department of Regulation Biology, National Institute for Basic Biology, Myodaiji, Okazaki, 444 Japan.

Chilling-sensitive plants (squash and sweet potato) showed higher susceptibility of PS II to photoinhibition at low temperature than chilling-resistant plants (spinach and cabbage) as measured in terms of ratio of variable to maximum fluorescence. Presence of lincomycin accelarated photoinhibition and eliminated the difference between chilling-sensitive and chilling-resistant plants at low temperature. By comparing the rate of recovery from photoinhibition in both type of plants, we conclude that chilling-resistant plants have faster recovery than chilling-sensitive plants. Furthermore, transgenic tobacco plants in which chilling sensitivity was enhanced by transformation with cDNA for glycerol-3-phosphate acyltransferase from squash, showed slower recovery from low-temperature photoinhibition than wild type tobacco plants. Presence of chloramphenicol completely blocked the recovery process indicating that recovery process is supported by active protein synthesis. Since chilling-resistant plants have high levels of fatty-acid unsaturation of phosphatidylglycerols in their membrane lipids, we suggest that their ability to recover fast from low-temperature photoinhibition is caused by high level of fatty acids unsaturation.

2aD10

ホウレンソウのステアロイル-ACP-不飽和化酵素cDNAを導入したタバコにおける低温感受性の改変

別府敏夫，菊地美穂，[1]今井博之，[2]西田生郎，[3]村田紀夫（西東京科大・バイオ，[1]甲南大・理・生物，[2]東大・理学系大学院・生物，[3]基生研）

RaisonやLyonsらによって、低温障害のPrimary eventは生体膜における脂質の相転移であるという仮説が提唱された。この仮説に基ずき村田・西田らは生体膜脂質の不飽和度を高めた形質転換植物を作出した。これらの植物は対照植物に比べ明かに低温耐性になっていることが示された。我々はステアロイルーACPー不飽和化酵素が高等植物のC18脂肪酸へ最初に不飽和結合を導入する酵素であり、生体膜における脂肪酸の不飽和度を制御するキー酵素であることに注目した。本酵素のcDNAをホウレンソウより単離し、CaMV35Sプロモータの下流に結合し、タバコに導入した。実験植物の低温耐性は形質転換植物の自殖種子を発芽させた幼植物を用いて評価した。その結果、本酵素のcDNAを導入したタバコは非形質転換タバコおよびpBI121を導入した植物に比べ、明かに低温耐性を獲得していることが示された。なお、これらの植物における脂質分析は現在調査中である。

2aD11

クロレラLEA蛋白質の凍害防御機能及び酵母での発現

本城賢一，小田祐一，大山加奈恵，波多野昌二（九州大学・農学部・食糧化学工学科）

演者らはクロレラ(*Chlorella vulgaris* C-27)の耐凍性獲得に強く関与すると考えられるHIC6 (LEA) 蛋白質について報告してきた。今回，LEA蛋白質をコードする*hiC6*遺伝子を大腸菌で発現させ，それに対するポリクローナル抗体を作製し，クロレラの可溶性蛋白質に占めるHIC6 蛋白質の割合及び凍結に不安定な酵素に対するHIC6蛋白質の保護作用について検討した。さらに，*hiC6*遺伝子を導入することにより酵母への耐凍性付与を試みた。

その結果，ELISA法によるクロレラ中でのHIC6蛋白質の量は，ハードニング24時間目に可溶性蛋白質の約2.8%を占め，また，Western blottingの結果もそれを支持した。本蛋白質はLDH、MDHに対して強い保護作用を示し，LDHに対する凍害防御効率はスークロースの約3.0×10^7倍，BSAの約7倍であった。また，HIC12 (HIC6と異なるLEA) 蛋白質の添加によりその効率は高まった。さらに，形質転換酵母の凍結耐性は*lea*遺伝子導入により，約40%向上した。

2aD12

イネ葯に局在するオリゴ糖の冷温処理による変動

川口健太郎、刈屋國男、箱山　晋、小池説夫[1]、渋谷直人[1]（農水省・北海道農試、[1]農水省・生物研）

作物の障害型冷害の発現機構を解明するため、イネ葯の生理生化学的解析を行うなかで、アラビノガラクタンプロテインの糖鎖構造に類似のオリゴ糖が葯に特異的に蓄積し、また冷温下でその濃度が減少することを認めた。この糖の冷害発現機構への関与を調べるため、耐冷性の異なる品種を用い、低温処理による葯の糖濃度の変動を調べた。

［方法］はやゆき（耐冷性極強）、ゆきひかり（強）、きらら397（やや強）、しまひかり（やや弱）、豊光（弱）、YM56-1（弱；北海道立農試、菊池治巳氏より分譲）の6品種を用い、ファイトトロン（昼間25℃，夜間19℃）にて育成した。低温処理は穂ばらみ期に12℃で4日間行った。葯はピンセットで採取し、生重の測定はミクロ天秤で、糖類の定量はDIONEX HPLCにより行った。

［結果］　葯生重は耐冷性強の品種ほど重く、これは、花粉数が多い大型の葯を持つ品種ほど耐冷性が高いとする従来の知見に一致するものであった* 。一方、葯の発達に伴う糖濃度の変動パターンは6品種で類似していたが、低温処理によるオリゴ糖濃度の減少には品種間差が認められた。以上の結果より、葯の大きさと共に、冷温によるオリゴ糖濃度の減少が品種の耐冷性発現に関連していることが示唆された。

*Satake, T. (1991) *Japan. J. Crop. Sci.* 60 (4) : 523-528

2pD01

アラスカエンドウおよびシロイヌナズナの赤色光および青色光信号伝達の解析

浜田徹、田中紀史、広川隆将、蓮沼仰嗣　（横浜市大・木原生研）

暗発芽アラスカエンドウの上胚軸の粗膜分画を用いて光信号伝達の解析系をたてた。赤色光および青色光により、ATP, GTPの結合活性の上昇を示す数種類の蛋白質をまとめる。また従来15 kDa蛋白質として報告してきた18 kDa蛋白質はアラスカエンドウで7種類は存在し、赤色光はそのうちの2つのリン酸化を増大する。青色光も18 kDa蛋白質のリン酸化を増大する。シロイヌナズナの暗発芽下胚軸を用いて、野生株、*hy2*（フィトクロム発色団）、*hy4*（青色光受容体）変異株に赤色光、また青色光を照射し、暗黒対照とその18 kDa蛋白質のリン酸化活性を比較した。これらの光は野生株ではリン酸化は増大するが、*hy2*, *hy4*では変化しなかった。*hy4*遺伝子をシロイヌナズナから単離した。それをプローブとしてアラスカエンドウの相同のcDNAの単離を試みている。

2pD02

アラスカエンドウの光信号伝達に関わる18kDa蛋白質の解析

田中紀史、野口貴文、蓮沼仰嗣（横浜市大・木原生研）

アラスカエンドウから赤色光・近赤外光によりリン酸化のパターンが変化する2つの18kDa蛋白質を同定した。これらは、膜画分では赤色光によりリン酸化が上昇し、近赤外光によってリン酸化が打ち消された。一方、可溶性画分では赤色光によってリン酸化が上昇したが、近赤外光による明確なリン酸化の抑制を受けなかった。

18kDa蛋白質を精製し二次元電気泳動で染色を試みた。この時リン酸化シグナルと一致するスポットは見出せなかったが、同分子量付近に染色される複数の蛋白質群を見出した。これらは溶液中における反応系ではリン酸化が確認できないが、電気泳動後PVDF膜上で自己リン酸化した。また、最も強く染色されるスポットをアミノ酸シークエンスした結果NDPキナーゼ1であった。そこで抗NDPキナーゼ抗体を用いて免疫沈降を行った結果、沈殿画分より18kDa蛋白質のリン酸化活性が得られた。18kDaタンパク質、NDPキナーゼ1ともリン酸化残基がP-SerとP-Tyrであり、これより18kDaタンパク質はNDPキナーゼか、もしくはNDPキナーゼと相互作用する蛋白質と考えられた。

2pD03

光照射に伴ってリン酸化の亢進される蛋白質の解析

浜田徹、蓮沼仰嗣[1]、山崎俊正、小松節子
（農水省生物研、[1]横浜市大木原生研）

植物の成長、分化の過程において光信号が重要な役割を果たしている。これまでに、双子葉植物であるシロイヌナズナ、アラスカエンドウにおける光信号伝達の解析を報告してきた。今回更に一般性を求めるために、単子葉植物であるイネを用いて、光信号伝達の解析を行ったので報告する。暗所で育成させた10日目のイネ（Oryza sativa L.）に50 μ mol /m^2/secの赤色光を60秒照射したあと、地上部を採取した。蛋白質を抽出後超遠心分離法により可溶性画分と膜画分を得た。それぞれの画分に4x10^{-8}Mの[γ -^{32}P]ATPを加え、氷中で10秒間リン酸化後、二次元電気泳動によりリン酸化パターンを比較した。その結果、赤色光により2種類の等電点の異なる分子量15kDaの蛋白質のリン酸化が亢進されることを見い出した。これらの蛋白質のリン酸化は光量 (2, 10 , 50 μ mol/m^2/sec) に依存しており、膜画分と可溶性画分のいずれにも存在するが、主に可溶性画分に存在することが明らかになった。現在この蛋白質の特性を解析中である。

2pD04

アラスカエンドウにおけるヌクレオシド二リン酸キナーゼ遺伝子の単離及び解析

野口貴文、田中紀史、蓮沼仰嗣 (横浜市大・木原生研)

ヌクレオシド二リン酸キナーゼ(NDK)は各種生物において多様な機能を保持しており、信号伝達に関与していることが示唆されている。我々は、アラスカエンドウで光信号によってリン酸化の上昇がみられる18kDaタンパク質がイネの抗NDK抗体と交叉反応することを見出した。そこで、アラスカエンドウの光信号伝達におけるNDKの機能解析にためNDKのcDNAの単離を行った。アラスカエンドウでは、NDK1、NDK2の2種類のcDNAが既に単離されているが、我々は、暗発芽アラスカエンドウ上胚軸第三節間から赤色光照射後、cDNAライブラリーを作製し、これらとは異なる新たなNDKのcDNA(PNDKN1)を単離した。塩基配列の解析から、PNDKN1は、NDK1と10塩基異なり、予測されるアミノ酸配列の比較では、1アミノ酸残基のみ異なっていた。現在、我々が精製したNDK1様タンパク質のアミノ酸配列とPNDKN1の予測されるアミノ酸配列の対応関係の確認及び新たなNDK遺伝子の単離をアラスカエンドウとシロイヌナズナで行っている。

2pD05

フィトクロムと相互作用するタンパク質の解析

徳富　哲、嶋田高史（大阪府大・先端科学研）

植物の生育にとって重要な光環境情報の受容体であるフィトクロムの光情報伝達機構はまだ明らかにされていない。これまでに、フィトクロムの光情報受容の入り口（PhyAの光化学反応）についての知見は集積しつつあり、その出口である生理反応に関しては数十年の蓄積が有り、最近では遺伝子組み替えを用いた研究からその情報量は飛躍的に増大しつつある。にもかかわらず、両者の間の情報伝達機構に関しては、G蛋白質、プロテインキナーゼ、あるいはカルシウムーカルモジュリン系等の関与を示唆する結果が断片的に報告されているだけである。

我々は、この点を入り口側から掘り進むべく、PhyAと直接相互作用をして情報を受け取る分子の単離、同定を目的として、まずフィトクロムと相互作用するタンパク質の解析を始めた。

今回、エンドウ黄化芽生えの粗抽出液の超遠心上清中のPhyA分子と結合する蛋白質を、エンドウPhyA分子をリガンドとしたアフィニティークロマトグラフィーと2価架橋試薬によるクロスリンキングにより検索を行い、Pfrで特異的に相互作用すると考えられるタンパク質に関する初歩的な結果を得たので報告する。

2pD06

クロレラの硝酸取り込みに対する青色光の役割

神谷明男（帝京大・薬・化学）

クロレラ(Chlorella kessleri)の白色変異体に青色光・近紫外光(以下青色光と略)を照射すると硝酸還元酵素が活性化されアンモニアの生成が顕著になる。アンモニアはクロレラのアミラーゼ・フォスフォリラーゼの活性化因子であり、その結果青色光によるデンプン分解・呼吸の促進が引き起こされると考えられる。

今回クロレラの野生株を用いて硝酸の取り込みを検討した結果、硝酸の取り込みは光合成に有効な赤色光下では起こらず(暗中のレベルと同じ)、青色光が必須であることを見いだした。また、青色光による硝酸取り込みが起こる初期にメディウムの酸性化が誘導される。すでに、この青色光によるメディウム酸性化は外部メディウムpH 5.5近辺で顕著になり、パルス照射でも認められるが、赤色光下では起こらず、バナジン酸(V_2O_5, Na_3VO_4)により阻害されることを認めている。クロレラは硝酸をH^+-symportで取り込み、メディウムpHが酸性域(pH 5.5近辺)で顕著な取り込み能を示す。これらの結果からクロレラでの青色光による硝酸取り込みと、青色光による外部メディウムの酸性化現象の関連を議論する。

2pD07

気孔孔辺細胞における青色光に依存した蛋白質の脱リン酸化

木下俊則、島崎研一郎（九州大・理・生物）

青色光照射により気孔が開孔する時、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が知られている。これまでの研究から、青色光に依存した孔辺細胞プロトプラストからのプロトン放出は、カルモジュリン依存性ミオシン軽鎖キナーゼ（MLCK）の阻害剤により阻害され、蛋白質のリン酸化反応の関与が示唆されている。そこで、ソラマメ孔辺細胞プロトプラスト懸濁液に^{32}Piを加え青色光に依存したプロトン放出がおきる条件で蛋白質リン酸化反応を調べた。リン酸化蛋白質の検出は２次元電気泳動により蛋白質を分離後オートラジオグラフィーにより行なった。その結果、分子量約 100 kDa の蛋白質が青色光照射により脱リン酸化された。この蛋白質の脱リン酸化はMLCK の阻害剤 ML-7 （100 μM）により阻害されるが、プロテインキナーゼ C の阻害剤 H-7 （200 μM）では阻害されず、MLCK様の酵素により活性化される蛋白質脱リン酸化酵素の関与が示唆された。また、青色光依存した脱リン酸化は繰り返し起こることも明かとなった。以上の結果より、100 kDa 蛋白質の青色光に依存した脱リン酸化は青色光の受容からプロトンポンプ活性化に至る情報伝達に関与しているものと推察される。

2pD08

葉緑体の弱光定位運動：マイクロフィラメントによる葉緑体の捕捉

董夏静、高木慎吾、永井玲子　（大阪大・理・生物）

淡水産の単子葉植物であるオオセキショウモの葉の表皮細胞中の葉緑体は、弱光条件下で、葉の表面に沿った細胞質層（細胞上面）に集合する。この弱光定位運動の光受容にはフィトクロムと光合成色素とが関与している。Pfrの存在下に葉緑体の運動が促進されることにより、細胞上面と側面との間での葉緑体の移動量が増大する。その後、細胞上面の葉緑体は光合成に依存して運動性を失い、そこにとどまる。葉緑体が細胞上面に捕捉される機構を知るために、マイクロフィラメント（ＭＦ）の分布の変化を調べた。アクチンのクロスリンカーとして使われるＭＢＳで細胞を前処理した後、ＦＩＴＣ－ファロイジンによりＭＦを染色した。１２時間以上暗順応させた細胞の細胞上面のＭＦは網目状の分布を示した。５分間の赤色光（650nm、0.4W/m²）照射後、細胞を４０分間暗黒に置くと、ＭＦの構築は葉緑体の周りを取り囲むように変化していた。この変化は赤色光照射終了後１０分から始まり、葉緑体の運動量の減少に先行して起こった。ＭＦで取り囲まれた葉緑体は、著しく遠心されにくくなるが、サイトカラシン処理によりＭＦが切断されると、赤色光照射前の状態に戻った。以上より、葉緑体はＭＦの構築変化により運動性を失い、細胞上面に捕捉されると結論した。

2pD09

光合成遺伝子 *RBCS* 組織特異的発現撹乱シロイヌナズナ突然変異体 *res*, *ces*, および *des*

丹羽康夫，菅原由行，鈴木朗範，栂根一夫，小林京子，小林裕和　(静岡県立大・生活健康科学)

分子遺伝学的解析に適したシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)を用い，(1) 根組織光合成遺伝子発現促進，(2) 脱分化細胞光合成遺伝子発現促進，および(3) 分化苗条組織光合成遺伝子発現低下のそれぞれの変異体の選抜を試みた．選抜を容易にするために，リブロース-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ／オキシゲナーゼのSサブユニット遺伝子 (*RBCS-3B*) およびクロロフィル *a/b* 結合タンパク質遺伝子 (*CAB1*) のプロモーターの制御下に各種レポーター遺伝子を導入した形質転換シロイヌナズナを作製した．それぞれのレポーター遺伝子のホモ接合体種子を ethylmethane sulfonate (EMS) 処理，γ線照射，あるいは中性子照射に供し，3種類の変異表現型に関してそれぞれ20,000系統以上 (個体数としてはその約8倍) をスクリーニングした．その結果，それぞれ複数の変異体 *res* (root expression of *RBCS*), *ces* (callus expression of *RBCS*), および *des* (depressed expression of *RBCS*) を得た．これらのうち，*res* 変異体は，根において野生体の約30倍のレポーター遺伝子発現活性を示し，暗化で生育させても胚軸の伸長抑制は認められなかった．

2pD10

暗所でのクロロフィル合成に関与する葉緑体遺伝子の光依存的発現

鈴木崇紀，滝尾進，佐藤敏生（広島大・理・生物科学）

我々はフタバネゼニゴケから２つの細胞株（緑色株と黄色株）を分離している：明所ではどちらも高いクロロフィル量を持つが、暗所では、緑色株は明所と同様だが、黄色株はクロロフィル量が明所の1/10に低下した。本研究では、暗所でのクロロフィル合成系遺伝子の発現調節機構を明らかにするため、両細胞の葉緑体遺伝子の明暗での発現パターンを調べ次の結果を得た。①ゼニゴケ葉緑体DNAプローブを用いたノーザン解析の結果、暗所でのクロロフィル合成に関与する*chlL,chlN*および*chlB*の転写レベルは、黄色株では明所に比べ暗所で著しく低下したが、緑色株では明暗ともに高かった。②抗ゼニゴケ*chlL*タンパク抗体を用いたSDS-PAGE/ウエスタン解析の結果、*chlL*タンパクも、*chlL*転写レベルと同様の発現パターンを示した。

以上の結果から、暗所でのクロロフィル合成系遺伝子は、黄色株では暗所で発現抑性され、緑色株はその調節能を欠損していると推定された。

2pD11

トウモロコシのホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ遺伝子の光による発現応答の解析

黒谷賢一、畑信吾、泉井桂（京都大・農・農生）

トウモロコシにおいて、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEPC) の遺伝子 (*Ppc1*) は光による誘導を受けて黄化葉の緑化時に際だった発現の上昇がみられる。しかし光シグナルの伝達経路に関する知見は極めて少ない。そこで私達は *Ppc1* 発現の光誘導にリン酸化／脱リン酸化が関与しているか否かをノーザン法を用いて解析した。

プロテインキナーゼ及びプロテインホスファターゼの阻害剤を発芽後 12 日目の黄化トウモロコシ切り取り葉に与えた後、光誘導をかけた。12 時間後、葉を回収して全 RNA を抽出し、C4 型 *Ppc1* の 3' 非翻訳領域をプローブとしてノーザン分析を行った。

その結果、阻害剤を与えない実験においては光誘導により約 20 倍に上昇する *Ppc1* の mRNA レベルがプロテインホスファターゼ 1 (PP1) と PP2A の阻害剤であるオカダ酸を 1 μM 与えるとほとんど検出できなくなった。一方、プロテインキナーゼ阻害剤であるスタウロスポリンは mRNA レベルに変化を及ぼさなかった。

以上の結果から、*Ppc1* の光誘導シグナルの伝達にプロテインホスファターゼが関与していることが示唆された。

2pD12

SRP1/importin様蛋白質をコードするイネ光応答cDNAの単離

岩崎俊介，徳富（宮尾）光恵，山本直樹（農水省・生物研）

高等植物においては多くの光合成機能蛋白質遺伝子が光による発現制御を受けることが知られているが，その他の光応答遺伝子に関する知見は不足している．私達は，発現量の低い光応答遺伝子の探索を目的として，光照射後３時間のイネ黄化芽ばえで発現量の増加するcDNAの単離をサブトラクション法によって行なった．単離されたcDNAのうち#61Lクローンの転写産物量は暗所で生育させた黄化芽ばえでは光照射後一過的に増加したが，光照射下で生育させた緑色の芽ばえではほとんど検出されなかった．全塩基配列を決定した結果，#61L cDNAには460アミノ酸からなる50kDaの蛋白質をコードするORFが存在し，この蛋白質は出芽酵母のSRP1や*Xenopus*のimportinと有意な相同性を示すことがわかった．SRP1/importinは核膜孔に付随し，蛋白質の核内への輸送の第一段階である核局在化配列の受容に関わっていると考えられている．現在，61L蛋白質が機能の上でもSRP1/importinと相同であるかどうか検討している．

2pD13

陽生植物と陰生植物の葉の呼吸系制御の比較

野口航　寺島一郎　（筑波大・生物科学系）

これまで、生育光環境が陽生植物と陰生植物の葉の呼吸系にどのように影響するのかを知るために、異なる光環境で栽培した陽生植物ホウレンソウと陰生植物クワズイモの葉の呼吸系の比較を行ってきている。夜間の葉の呼吸速度を測定したところ、両者で光依存性、時間依存性のちがいが見いだされた。呼吸系の酵素の最大活性、葉の炭水化物濃度の測定から、ホウレンソウの呼吸速度は、基質となる炭水化物濃度によって決まること、クワズイモの呼吸速度は、細胞内の生理的な過程によるＡＴＰ利用速度によって制御されていることが示唆されている。

今回は、この呼吸系の制御メカニズムの違いを詳細に調べた。同じ光条件で栽培したホウレンソウとクワズイモにおいて、呼吸系の酵素の見かけK_m値、脱共役剤または基質を添加したときの呼吸速度の変化、アデニレートレベルを測定し、比較した。

3aD01

ホウライシダの光回復酵素遺伝子の単離・解析

鐘ヶ江　健、和田正三（都立大・理・生物）

紫外線によるDNAの物理的損傷の修復を担う光回復酵素 (photolyase) 遺伝子は、植物においてただ１種類 (*Sinapis alba*) が報告されているのみである。我々は、ホウライシダ (*Adiantum capillus-vineris* L.)ゲノムライブラリーより、光回復酵素遺伝子と相同性を示す陽性クローンを単離し、物理地図の作製および部分塩基配列の決定から５種類のグループに分けられることを明らかにした。これまでに報告されている光回復酵素遺伝子は１生物種に１遺伝子であり、5種類の独立な相同領域が確認されたことは、シダにおいて遺伝子ファミリーを形成している可能性を示唆している。また、５種の内の少なくとも３種の塩基配列から、他の光回復酵素遺伝子には見られないアミノ酸配列がC末端側に付加されている可能性が示されている。この構造はアラビドプシス (*HY4*) およびクラミドモナス (*CPH1*) の青色光吸収色素タンパク質遺伝子のものと類似しており、光情報伝達系に関与する遺伝子である可能性も考えられる。

3aD02

PLANTS ACCUMULATE PROLINE UPON EXPOSURE TO UV RADIATION FOR PROTECTION AGAINST UV-INDUCED PEROXIDATION

P. Pardha SARADHI, ALIA[1]; Centre for Biosciences, Jamia Millia Islamia, New Delhi-110025, India, [1]Department of Regulation Biology, National Institute for Basic Biology, Myodaiji, Okazaki, 444 Japan.

A sharp increase in the level of proline was observed in the seedlings of *Brassica juncea* upon exposure to UV-radiation. The accumulation of proline increased with increase in the time of exposure of seedlings to UV-radiation The extent of free radical production measured in term of the production of malondialdehydewas significantly higher in seedlings exposed to UV radiation. No significant change in the level of proline and malondialdehyde was observed in seedlings kept in white fluorescent light for the same time interval. As free radical generation is one of the initial cytochemical responses of plant exposed to UV radiation, we suggest that proline accumulation during UV exposure is taking place in order to protect plants against free radicals. To confirm this, the linolenic acid micelles were exposed to UV radiation. A time dependent increase in the level of malondialdehyde was observed in the micelles upon UV exposure. Presence of proline alongwith linolenic micelles brought about considerable reduction in the level of malondialdehyde. Therefore, our results show that plants accumulate proline upon exposure to UV radiation in order to protect against UV radiation promoted free radical generation.

3aD03

紫外線抵抗性の異なるイネ品種の，UVBによるDNA損傷とその修復機能の差異について

日出間　純，John C. Sutherland[1]，Betsy M. Sutherland[1]，熊谷　忠，（東北大・遺生研，[1]Brookhaven National Lab. U.S.A.）

紫外線抵抗性の異なるイネの，紫外線UVBによるDNA損傷（Cyclobutyl Pyrimidine Dimers［CPDs］の生成）の頻度とその修復機能について解析を行った．材料として，紫外線抵抗性の強いササニシキと弱い農林１号の幼植物（第３完全展開葉）を用いた．CPDsの定量は，UV endonucleaseを用いたアルカリパルスフィールド電気泳動法により行った．まず初めに単色光（302 nm）照射装置を用いて，CPDsの生成量がおよそ30，55sites/Mbとなるように各幼植物の葉に照射を行った．照射量は各々400，800J/m^{2}で，両品種間における UV Dose Response Curveには差異が認められなかった．単色光照射後直ちに，青色光ランプ（Philips 15T8/B blue lamps）下または暗所下に移し，CPDs消失のtime courseを測定した．

初期ダイマーレベルが30 sites/Mbの時，暗修復は両品種ともみとめられなかった．初期ダイマーレベルが55 sites/Mbと高くなると，ササニシキ，農林１号で各々0.4，0.08 CPD/Mb/minと，抵抗性の強いササニシキの方がおよそ５倍程速いことがわかった．また，光修復速度を比較すると，初期ダイマーレベルの違いに関わらず，ササニシキの方が速いことがわかった．これらの結果から，両品種間の紫外線抵抗性の差異に，DNA損傷の修復速度の差異が深く関与している可能性が示唆された．

3aD04

ホウキモロコシにおけるUV-B照射によるDNA損傷と光回復

秦 恵，Günther Buchholz[1]，Eckard Wellmann[1]，橋本 徹[2]（神戸大・理・生１Freiburg Univ，２神戸女子大・家政）

成層圏オゾン層の破壊による地上に到達するB領域紫外光(UV-B)の増加と生物への影響が懸念されている。UV-Bは、植物に成長阻害をはじめ様々な形態形成を引き起こすが、UV-BによるDNAの損傷とその回復については、植物においては不明な点が多い。ホウキモロコシ(*Sorghum bicolor* Moench)芽生えでは、UV-B照射によりアントシアニン形成の阻害やコイル形成(異状生長)が引き起こされるが、これらの現象にはDNA損傷が関与することをすでに報告している(Hashimoto, 1995)。今回はDNA損傷の光回復について調べた。

DNA損傷は、シクロブタン型ピリミジンダイマー(CPD)と6-4光産物(6-4PP)に特異的な単クローン性抗体を用いてELISA法で測定した。UV-B照射で生じたCPDと6-4PPの回復には、青色光よりUV-A光の方が効果的であった。UV-B照射の前にUV-A-可視光を照射した植物では、前照射をしないものよりCPDの光回復が速かった。しかし6-4PPの回復は前照射の影響を受けなかった。これらの結果より、ホウキモロコシ芽生えにおいてCPDと6-4PPの光回復酵素は別であり、このうちCPD回復酵素は、near UV-可視光により誘導されることが示唆された。

3aD05

エンドウの生理作用に及ぼす近紫外光の影響

塩崎紀子、服部郁子[1]、手塚修文（名古屋大・院・人間情報、[1]名古屋大・農・園芸）

我々は、地球に到達している太陽光中の紫外線(Solar UV)は、植物の生育に対して悪影響を及ぼすどころか、むしろ必須要因であることを報告している(J. Photochem. Photobiol. 1993, 1994)。

本大会では、グロースチャンバーで育成したエンドウ(*Pisum sativum* cv. Sparkle)を用いて行なった実験結果について報告する。

チャンバー内に蛍光灯（可視光ランプおよびUVランプ）を設置し、UV透過あるいは不透過ビニールフィルム（シーアイ化成製品）で被覆した生育条件下（＋UV区と－UV区）でエンドウをそれぞれ育成した。これらエンドウに及ぼす近紫外光の影響として、生育状況、光合成活性、呼吸活性、根粒形成および窒素固定能、ATPアーゼ・その他の酵素活性などについて生理・生化学的解析を行なったところ、これら何れの生理・生化学的反応においても、近紫外光は促進効果を示すという知見が得られたので、これについて言及する。

3aD06

アスコルビン酸再生不全による生葉黄金化現象の普遍性

山崎秀雄，平敷（へしき）りか，崎浜靖子，池原規勝（琉球大・理・生物）

熱帯植物である黄金ガジュマル（*Ficus microcarpa* L. f. cv. Golden Leaf）の生葉は、弱光生育下では野生型と区別できない緑色葉であるが、強光生育下では特徴的な黄金葉を呈するようになる。この現象が葉緑体のアスコルビン酸再生系の不全（DHA還元酵素活性の欠損）による活性酸素除去系の光失活に由来することを昨年報告した。今回は、この現象の一般性について報告する。生葉の黄金化現象は、ガジュマルの他に別種のイチジク属やハリマツリ属の熱帯植物にも見られ、クロロフィル含量低下やフラボノイド含量の増加及びアスコルビン酸再生系の低下等の黄金ガジュマルに見られる特徴を示した。これらの知見を踏まえて高等植物の強光応答としての生葉黄金化の普遍性とメカニズムについて考察する。

3aD07

紫外線を含む白色光によってアントシアニン合成が誘導されるヤグルマギク培養細胞における遊離アミノ酸プールの変動

陳　小傑・鈴木章方・佐久間卓也（山梨大・教育・生物）・武田幸作（東京学芸大・生物）

ヤグルマギク培養細胞は、紫外線を含む光照射によってアントシアニンの生合成を誘導する。その際、色素の蓄積に先だって、ＰＡＬ、ＣＨＳ、ＣＨＦＩ、ＭＡＴなどの酵素が誘導されることをすでに報告している。今回の報告では、この培養細胞系においてアントシアニンが合成される際に、アントシアニンの前駆物質となっているフェニルアラニン（Ｐｈｅ）などをはじめとし、遊離アミノ酸のプールがどのように制御されているのかについて調べてみた。その結果、この細胞には、多い順に、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｇｌｕ、Ａｌａなどのアミノ酸が含まれており、これに対して、Ｐｈｅ、Ｔｙｒなどの芳香族アミノ酸の含量はわずかであった。これらのうち注目すべき変化として、Ａｌａが紫外線照射によって極端に減少し、Ｐｈｅはアントシアニンの合成に先立って蓄積するようなことはなく一貫して低レベルに維持された。これはＰｈｅの代謝の流速が高まっていることを示唆している。また、アントシアニン生合成の二次代謝の酵素系が誘導されるだけでなく、Ａｌａの代謝に関与する一次代謝系の酵素も影響を受けていることが示唆される。

3aD08

ニンジンのPAL-10 遺伝子のプロモータ解析　－UV-B 応答性のシスエレメント－

竹田淳子、吉田和市、小関良宏（京大・農・農化、1京大・理・植物、2東大・教養・生物）

我々はニンジン培養細胞のアントシアン、PAL 及びCHS mRNA 合成に関する作用スペクトルが 280 nm 付近にピークを持ち、UV-B 光受容体が関与していることを主張してきたが、PAL-10 (ニンジン培養細胞の 4 つのPAL 遺伝子の 1 つで UV によりすばやい一過性の発現を示す）のプロモータ活性についてもトランジェントアッセイから確認する事が出来た。CaMV35S core を用いたPAL-10 プロモータ断片との融合プロモータの光量反応曲線の解析から -395 下流に 2つのUV-B 応答性を示すエレメントが存在し、そのコンセンサス配列として　T(A)XTCXCCAACCC(A) を得た。しかしながらPAL-10 プロモータの 5' 側からの削り込みでは、上で得たUV-B 応答性エレメントを含んでいる -570 で既にその性質が失われた。これらの結果をもとに UV に対する応答性やプロモータの上流及び下流の働きについて議論する。

3aD09

ホウキモロコシのPfr誘導アントシアニン形成におけるPfr効果増幅因子の特異的な生成

清水 源、小田 真由美、木ノ元 宏実[1]、河野 利津子[1]、七條 千津子、橋本 徹[1] (神戸大・理・生物、[1]神戸女子大・家政)

ホウキモロコシ暗黒芽生えは、赤色光(R)パルス照射によってアントシアニンを形成する。これはフィトクロムPfrとその増幅因子(CRS)の相乗作用による。CRSは高光量のＲパルス照射時に顕著な効果を示すので、短時間に高光量照射が可能なLED光源を用いて、CRSとPfrの挙動を調べた。一定高光量のRと遠赤色光の繰返し照射によって蓄積されるCRSをRの照射時間を変化させて(5-60秒)調べたところ、照射時間が長い程蓄積量が増大することを見出した。Rの照射時間とCRS生成量との関係を調べるため、CRS生成の光量－応答曲線を照射時間を変えて(40及び150秒)調べたところ、照射時間が長い程CRS生成を飽和するのに高い光量を必要とし、その時生成されるCRS量も多かった。しかしPfr生成を飽和する光量は照射時間によってほとんど影響を受けなかった。Rパルスによるアントシアニン生成の光量－応答曲線は、照射時間が長くなるにつれて高い光量で飽和し、その時のアントシアニン量も増大するが、この現象はCRS量の増大によって説明でき、またPfrを飽和する光量でのアントシアニン生成量はCRS量によって決定されていることが明らかになった。

3aD10

アントシアニン形成誘導に関与するPfr効果増幅因子のフィトクロムによる生成

河野　利津子、木ノ元　宏実、小田　真由美[1]、清水、源[1]、七条　千津子[1]、橋本　徹（神戸女子大・家政、神戸大・理・生物[1]）

Pfr効果増幅因子（CRS）は赤色光（R）によって生産され、フィトクロムPfrと共同してアントシアニン生成を誘導する。RのCRS生成作用が遠赤色光（FR）によって打ち消されないことから，この効果にはフィトクロムとは異なる光受容体が関与するのではないかとわれわれは推定していた。しかし、発光ダイオードから得られる強力なＲとFRを用いることにより、次ぎの結果を得た。１）Ｒとの同時照射や30sのRパルスのあと直ちにFRを当てるとRの効果は一部は打ち消されるが、パルスの10s後に当てた場合には打ち消しは全然見られない。従って、光受容体はフィトクロムであり、エスケープの非常に速い反応が関与している。２）従って、アントシアニン生成は高い光量で高原に達するが、興味あることにパルスの長さが長い程高原は高い。この高原の高さはCRSの量を反映する。３）パルスの長さが増すことによる高原の高さの増大の割合は、20℃で育てた苗では24℃で育てた苗よりも著しく大きい。この３）の知見の意義は今後の研究課題である。

3aD11

イネのファルネシルピロリン酸シンターゼ (FPPS) cDNAの単離と光応答発現

三宮一宰、岩崎俊介[1]、松岡信、宮尾光恵[1]、
山本直樹[1]（名大・生物分子応答、[1]農水省・生物研）

植物の光応答機構を明らかにすることを目的として、イネの光照射芽生えcDNAライブラリーから、サブトラクション法を採用して光応答型cDNAクローンの単離を試みた。その結果、多数の光応答型cDNAクローンを得た。そのうちの1つ、3hL#80の塩基配列を解析したところ、このクローンは*Arabidopsis*、white lupinのイソプレノイド合成系酵素、ファルネシルピロリン酸シンターゼ(FPPS)とアミノ酸レベルで高い相同性を示した(74%、75%)。このことから、3hL#80をイネFPPS cDNAと判定した。推定したFPPSのアミノ酸配列はトランジットペプチドに保存的な配列をコードしておらず、このFPPSは細胞質性のものと考察した。イネFPPS遺伝子は、光応答的発現と葉身、分裂組織、花での組織特異的発現を示した。

3aD12

赤色酵母 *Rhodotorula minuta* におけるエルゴステロール代謝の光制御

中馬誠，村田芳行，秦恵，多田幹郎
(岡山大・農)

R.minuta に低温下（0℃）で長波長紫外光（UV-A）照射すると、エルゴステロールの含有量が照射光量に依存して減少する。しかし、*R.minuta* を、UV-Aの連続照明下、26℃で培養するとエルゴステロール含有量は照射強度に関係なく一定である。この現象から、温度依存性のない光化学反応により光分解したエルゴステロールを補充するために、エルゴステロールの合成速度が光強度に依存して増大する可能性が考えられる。本研究では^{14}C化合物でのパルスラベルによってエルゴステロールの代謝回転の光強度依存性を調べた結果を報告する。

3aD13

酵母 *S.cerevisiae* 細胞膜の光損傷の修復

荒見真一郎、秦恵、多田幹郎（岡山大・農）

酵母 *S.cerevisiae* に長波長紫外光を照射すると、細胞膜エルゴステロール (Erg) の光分解が生じ、それに起因する細胞膜機能の低下に伴って増殖能が低下する。しかし、照射菌体を栄養培地でインキュベートすると、長波長紫外光照射により減少したErg含有量が迅速に未照射菌体のレベルにまで増加し、また、正常な増殖も開始する。本研究では、この光損傷の修復に関わるはErgの細胞内供給機構について検討した。低温下で長波長紫外光照射した菌体を26℃でシクロヘキシミド存在下でインキュベートしてもErg含有量は増加した。更に、Squalene synthase及びΔ8-Δ7 isomeraseの阻害剤であるLADO及びTridemorphによってもErgの供給は阻害されなかった。これらの結果から、フィードバック阻害の解除にともなって、小胞体内に貯蔵されているErgの前駆体であるステロールエステルが細胞膜に迅速に運搬され、Ergへ変換されていることが示唆された。

E 会 場：環境応答 2

キーワード：水分·浸透圧，水ストレス，塩ストレス，窒素代謝，イオン·金属，酸素障害，光ストレス

第一日目 午前

開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aE01
9:45	1aE02
10:00	1aE03
10:15	1aE04
10:30	休 憩
10:45	1aE05
11:00	1aE06
11:15	1aE07
11:30	1aE08

第二日目 午前

開始時間	講演番号
8:30	2aE01
8:45	2aE02
9:00	2aE03
9:15	2aE04
9:30	2aE05
9:45	2aE06
10:00	2aE07
10:15	2aE08
10:30	休 憩
10:45	2aE09
11:00	2aE10
11:15	2aE11
11:30	2aE12

第三日目 午前

開始時間	講演番号
8:30	3aE01
8:45	3aE02
9:00	3aE03
9:15	3aE04
9:30	休 憩
9:45	3aE05
10:00	3aE06
10:15	3aE07
10:30	3aE08
10:45	3aE09

第一日目 午後

開始時間	講演番号
13:00	1pE01
13:15	1pE02
13:30	1pE03
13:45	1pE04
14:00	1pE05
14:15	1pE06
14:30	1pE07
14:45	—
15:00	休 憩
15:15	1pE08
15:30	1pE09
15:45	1pE10
16:00	1pE11
16:15	1pE12
16:30	1pE13
16:45	1pE14
17:00	1pE15

第二日目 午後

開始時間	講演番号
13:00	2pE01
13:15	2pE02
13:30	2pE03
13:45	2pE04
14:00	2pE05
14:15	2pE06
14:30	2pE07
14:45	—
15:00	休 憩
15:15	2pE08
15:30	2pE09
15:45	2pE10
16:00	2pE11

1aE01

マツバギク水チャンネル遺伝子プロモーターのタバコにおける発現

山田茂裕[1]、Donald E. NELSON、Eleazar LEY、Sheila MARQUEZ、Hans J. BOHNERT（Department of Biochemistry, The University of Arizona、[1]ＪＴ遺伝育種研究所）

マツバギク(*Mesembryanthemum crystallinum*)から水チャンネル(aquaporin)をコードする *MipB* 遺伝子のプロモーターを単離し、GUS遺伝子に融合しタバコを形質転換した。マツバギクでは *MipB* は根組織のみで発現しているが、タバコにおけるこのプロモーターの組織特異性はそれと異なっていた。発芽直後の植物では全細胞で GUS 染色が観察された。幼植物では、伸長の盛んな細胞、根と胚軸の間、頂端分裂組織、子葉の茸毛などで染色が観察された。成長した個体では、茸毛、維管束組織周辺の細胞、茎葉の表皮細胞の下層の細胞などで染色観察された。花芽組織では、がく、花弁、雄蕊、雌蕊で染色が観察されたが、組織が成熟するに従い低下していった。これらの観察から、このプロモーターは形質転換タバコにおいては、伸長中の細胞や水分の移動の激しいと思われる細胞で発現していることが推測された。

1aE02

ダイコン液胞膜の水チャネルのcDNAクローニング

樋口達治,久田博元,前島正義(名古屋大・農・生化)

ダイコンの液胞膜に存在するタンパク質、VM23は液胞膜タンパク質の約50%を占める。VM23は生化学的な解析から複数のアイソフォームを持つこと、またダイコン根の細胞の伸長にともない、VM23が増加することが示されている。

そこで、今後VM23の機能及び生理的役割の解析をすすめるため、cDNAのクローニングをおこなった。ダイコン実生より得たPoly(A)RNAを鋳型として、VM23のＮ末端アミノ酸配列、*Arabidopsis* の γ-TIP の塩基配列より作製したプライマーを用いてRT-PCRを行った。そこで得られた断片をプローブとして、cDNAライブラリーよりスクリーニングを行い、複数個のクローンを得た。その内VM23のＮ端配列と一致するものについて塩基配列を決定した。 VM23は253個のアミノ酸からなり、γ-TIPと90%の相同性を示すことが判った。また、MIP (Membrane Intrinsic Protein)ファミリーに共通した配列 (Asn-Pro-Ala-Val-Thr)も含まれた。これらの結果から、VM23は水チャネルであると推定される。

1aE03

ソラマメ孔辺細胞における48-kDa ABA 応答性プロテインキナーゼ

森　泉[1], 武藤　尚志[1,2] ([1]名古屋大・大学院農, [2]名古屋大学生物分子応答研究センター)

ミエリン塩基性蛋白質を基質とした、ゲル内リン酸化法によって、見かけの分子質量48 kDaのプロテインキナーゼがソラマメ孔辺細胞において検出された。このキナーゼは孔辺細胞をABAで処理すると活性化された。この活性化は5分以内に検出され、30分以上維持された。K-252aかスタウロスポリンは活性化を阻害した。活性はK-252aで阻害されたが、スタウロスポリンでは阻害されなかった。また、48-kDaプロテインキナーゼはリン酸化チロシン抗体と共沈しなかった。これらの結果は孔辺細胞のアブシジン酸シグナルがMAP kinaseとは異なる48 kDaのプロテインキナーゼを含むキナーゼカスケードを経由して伝達されることを示唆している。

1aE04

タバコ培養細胞の低浸透圧刺激により細胞礎質Ca^{2+}濃度上昇に引き続いて活性化されるプロテインキナーゼ

高橋宏二[1]、武藤尚志[1,2] ([1]名古屋大大学院・農、[2]名古屋大生物分子応答研究センター)

低浸透圧刺激はタバコ培養細胞において細胞礎質Ca^{2+}濃度($[Ca^{2+}]_{cyt}$)を一過的に上昇させ、これに引き続いて50-、75-、80-kDaのプロテインキナーゼが活性化されることを我々は既に報告している(1995年度日本植物生理学会)。更に$[Ca^{2+}]_{cyt}$上昇とプロテインキナーゼの活性化との連関を解析したので報告する。

低浸透圧刺激を与えても$[Ca^{2+}]_{cyt}$上昇が起こらないCa^{2+}を含まない培地中ではプロテインキナーゼの活性化は起こらなかった。また、Ca^{2+}を含まない培地中で低浸透圧刺激した細胞にCa^{2+}を与えると一過的に$[Ca^{2+}]_{cyt}$が上昇し、それに引き続いてプロテインキナーゼが活性化された。この活性化はMg^{2+}を与えても起こらなかった。これはプロテインキナーゼの活性化には$[Ca^{2+}]_{cyt}$の上昇が必須であることを示している。活性化はキナーゼ蛋白のリン酸化を伴っていたが、酵素活性そのものはCa^{2+}による影響は受けなかった。以上の結果は低浸透圧刺激によるプロテインキナーゼの活性化は$[Ca^{2+}]_{cyt}$上昇によって活性化されるCa^{2+}依存性プロテインキナーゼを介して行われていることを示唆している。タバコ培養細胞にはCa^{2+}依存性プロテインキナーゼの存在が確認されている。

1aE05

シロイヌナズナの乾燥ストレスによって誘導されるClpプロテアーゼ遺伝子*erd1*の発現制御の解析

中島一雄、清末知宏[1]、篠崎和子、篠崎一雄[1]
（農水省・国際農研、[1]理研・植物分子生物）

シロイヌナズナの乾燥誘導性遺伝子*erd1*がコードするタンパク質は、ClpプロテアーゼのATPaseサブユニット（ClpA）と高い相同性を持っている。ノーザン解析から、この遺伝子は乾燥処理以外にもNaCl処理1時間で強く発現するが、ABA処理ではほとんど発現が見られず、低温では全く誘導されない新しいタイプの発現であることが判明した。シロイヌナズナのジェノミックライブラリーから*erd1*遺伝子のプロモーター領域を単離し、塩基配列を決定した。その結果、TATAボックスの上流にDRE類似配列やABRE類似配列等が見出された。このプロモーター配列をβ-glucronidase (GUS)、あるいはluciferase（LUC）遺伝子と融合させ、タバコとシロイヌナズナに導入した。形質転換したタバコにおいては、乾燥ストレスによりGUS及びLUC活性の著しい増加が見られた。現在、形質転換したシロイヌナズナを用いて、*erd1*遺伝子のプロモーター領域の機能を詳細に解析中である。

1aE06

フルクトース-2,6-ビスリン酸は浸透圧ストレス下のトレハロース合成の調節因子である

竹中重雄、有本友香、谷　亜矢、田村良行、
宮武和孝*、中野長久*
（羽衣短大・家政・食物、*大阪府大・農・応生化）

我々は原生動物であり、藻類にも分類される*Euglena gracilis* Z（ユーグレナ）が浸透圧環境下において、貯蔵多糖であるパラミロン（β1,3-グルカン）を分解して蓄積することを見い出した。フルクトース-2,6-ビスリン酸（Fru-2,6-P_2）は糖代謝の調節因子としてしられている物質である。ユーグレナのトレハロース代謝を触媒するトレハロースフォスフォリラーゼはFru-2,6-P_2により阻害されることから、Fru-2,6-P_2の浸透圧ストレス下でのトレハロース合成との関係を検討した。

ユーグレナをNaClまたはマンニトールを含む緩衝液中に移した時のトレハロースとFru-2,6-P_2の含量を測定した結果、トレハロース合成が行われている間、Fru-2,6-P_2は低く保たれていた。以上の結果よりFru-2,6-P_2は浸透圧ストレス下のトレハロース合成の調節因子として機能しうると考えられることからさらに詳細な検討を行っている。

1aE07

タバコ培養細胞の原形質膜H^+ATPaseの塩ストレス適応

菅井真人、Dyah Iswantini, 山村英夫、角谷忠昭、[1]村田芳行
（京都大学・農、[1]岡山大学・農）

タバコ培養細胞の塩ストレス適応過程における原形質膜H^+-ATPaseの酵素反応特性の変化を、塩ストレス(200 mM NaCl)適応および非適応タバコ懸濁培養細胞から単離した原形質膜標品を用いて検討した。

原形質膜H^+-ATPaseの酵素反応特性は、この酵素分子をとりまく脂質環境に著しく影響されるから、塩ストレス適応における本酵素の役割を明らかにするためには、インビボ状態を保持した原形質膜標品を用いる必要がある。ここでは、内在性のホスホリパーゼの阻害剤を調製メデュウムに添加することにより、原形質膜のリン脂質分解を防止した。

適応および非適応細胞の原形質膜H^+-ATPaseのATP加水分解活性は、50 mM KCl存在下では、共にミカエリス型の速度論に従い、K_mとV_{max}はどちらも適応細胞の方が大きい値を示した。しかしながら、200 mM KClまたはNaCl存在下では、適応および非適応細胞とも、ATPase活性はミカエリス型の速度論には従わず、正の協同性を有するHill式によって記述できることがわかった。また、200 mM KCl, NaCl存在下のATPase活性は，塩が存在しない場合の値に比べて、低基質濃度では小さく、高基質濃度では大きくなることがわかった。以上の結果より、適応および非適応細胞の原形質膜H^+ATPase分子は1つ以上の互いに相互作用する基質結合サイトを持ち、サイト間および基質－サイト間の相互作用は、KCl, NaCl濃度に依存してその大きさが調節されることが明らかになった。

1aE08

単細胞緑藻ドナリエラの細胞内グリセロール保持にたいする光および阻害剤の影響

藤井修平（帝塚山短大）

ドナリエラはグリセロールを浸透調節物質として利用する。通常の生理的条件下では細胞内グリセロールは外に漏れでることはないが、これはドナリエラ細胞膜がグリセロールを通しにくい為であると考えられている。ところが、細胞を長時間、暗所におくと細胞内グリセロールが徐々に排出され、細胞体積もそれに対応して減少する。数日間暗所においた細胞を明所に戻すと、細胞内グリセロールの急激な合成と細胞体積の増加がみられる。この時、細胞内グリセロールは細胞外に排出されない。これらのことから、細胞膜の構造維持に光が関与している可能性が示された。また、DCMUやアザイドなどは影響を及ぼさないものの、DCCDやバナジン酸などにより細胞内グリセロールの排出が生じることから、グリセロールの細胞内保持にATPaseの関与も示唆された。

1pE01

イネにおけるプロリン合成酵素(Δ[1] - pyrroline - 5 - carboxylate - synthetase)遺伝子の発現解析および耐塩性との関係

五十嵐由美子[1]・吉羽洋周[1]・真田幸香[2]・篠崎和子[3,4]・和田敬四郎[2]・篠崎一雄[4]（1. 日立・基礎研、2. 金沢大・理、3. 農水省・国際農研、4. 理研・植物分子生物）

Δ[1]- pyrroline - 5 - carboxylate (P5C) - synthetase (P5CS) は植物のプロリン合成系でグルタミン酸からGlutamic-γ -semialdehyde (GSA)を経てP5Cへの反応を触媒する酵素であり、既にモスビーン、アラビドプシスからcDNAが単離されている。そしてアラビドプシスにおける発現解析から,, 水ストレスにより誘導されるプロリン合成において律速となる酵素であることが明かにされ[1]、モスビーンP5CS遺伝子を導入したタバコは耐塩性を示すことが報告されている[2]。我々はイネにおいてプロリンと耐塩性との関係を明らかにするために、今回イネからP5CS遺伝子をクローニングした。その遺伝子解析からイネP5CSはアラビドプシス及びモスビーンのP5CSと高い相同性を示し、アラビドプシス同様、高塩、乾燥、ABA、低温処理により発現することが認められた。また高塩処理下では遺伝子の発現と共にプロリンの蓄積も認められた。さらに耐塩性品種である低脚烏尖(DGWG)、感受性品種であるIR28を用いて高塩処理におけるP5CS遺伝子の発現とプロリンの蓄積のレベルを比較したところ、DGWGでは遺伝子発現もプロリンの蓄積量も高いのに対し、IR28では遺伝子発現、プロリンの蓄積量共に少なかったことから、イネにおいて耐塩性とプロリンの蓄積との間に何らかの関係があることが示唆された。

1) Yoshiba *et al.*, (1995) Plant J. 7: 751-760
2) Kishor *et al.*, (1995) Plant Physiol. 108: 1387-1394

1pE02

塩ストレスで誘導される塩生植物ウラギクの*rd28*様遺伝子

宇野雄一[1,2]，浦尾剛[3]，篠崎和子[3]，篠崎一雄[2]，金地通生[4]，稲垣昇[1]，前川進[1]（[1]神戸大・自，[2]理研・植物分子，[3]農水省・国際農研，[4]神戸大・農）

ウラギク (*Aster tripolium* L.) は，汽水域に生息するキク科の塩生植物で，その成長は，植物体および振とう培養細胞ともに150mMのNaClでは抑制されず，300mMのNaClで抑制される．我々は，ウラギクの耐塩性機構を解明するために，他の植物で同定されている既知のストレス応答性遺伝子の発現を調べている．シロイヌナズナの*rd28*遺伝子は，水チャンネルタンパク質をコードしており，ストレス下で発現して膜の水透過性を上昇させる事が明らかにされている．ウラギクのゲノミックDNAを鋳型にしたPCRで増幅したDNA断片の塩基配列を決定したところ，*rd28*や*mip*遺伝子ファミリーと相同性の高いものが3種類存在していた．これらをプローブにしてノーザンハイブリダイゼーションを行った結果，ウラギクの葉と培養細胞の両方で，*rd28*様遺伝子が200および400mMのNaClによって誘導されることが明らかになった．

1pE03

塩ストレス下でmRNA量の増加するオオムギRNAヘリカーゼ類似遺伝子

中村敏英、村元靖典、高倍鉄子（名古屋大、生物分子応答研究センター）

植物は環境から多種のストレスを受けており、形態的・代謝的など様々なレベルでのストレスへの適応を示す。遺伝子発現を伴う適応も多く知られており、ストレス特異的に発現する遺伝子も数多くクローニングされている。

我々は塩ストレスによりその発現量が増加する遺伝子群の解析を目的として、ディファレンシャルディスプレイ法による塩ストレス特異的遺伝子のクローニングを行っている。塩ストレス下でmRNAの蓄積がみられる遺伝子の一部分をオオムギより単離し、ホモロジー検索を行ったところ、動物や酵母、大腸菌などのDEADボックス蛋白質ファミリーのRNAヘリカーゼとの相同性がみられるクローン（BD1）が得られた。その発現量は塩ストレスのみではなく、乾燥ストレス、水分ストレス、低温ストレス、ABA処理によっても増加した。RNAヘリカーゼが様々なストレス下においてRNAの安定化などに関与している可能性がある。

1pE04

塩ストレスで誘導されるオオムギ遺伝子の解析

村元靖典　中村敏英　高倍鉄子（名大・生物分子応答研究センター）

植物は、外界からの様々なストレスに対応できるような複雑な適応機構を持っていると考えられている。我々は、植物の塩ストレスに対する適応機構に着目し、Differential Display法を用いることによって、塩ストレスで発現が誘導されるオオムギの遺伝子の単離・解析を行った。塩ストレス誘導型のPCR-産物 (BD8, 9) をプローブとしてノーザン解析を行ったところ、塩ストレスによって葉ではBD8は約10倍、BD9は約2倍発現が増加していた。しかし、根ではそれぞれ発現が減少していた。これら２つのクローンの部分塩基配列を決定し、推定されるアミノ酸配列を検討したところ、BD8はATP-dependent phospho-*enol*pyruvate carboxykinase (PEPCK) であり、BD9-は *Saccharomyces cerevisiae*のSsf1,2のホモログであると推測された。PEPCKは糖新生における鍵酵素であることから、塩ストレス下での光合成低下による糖不足を補うために糖新生を行い、塩ストレスに対する適応手段としていることが示唆された。Ssfは酵母の接合および増殖の際のシグナル伝達に関与するタンパクであると考えられていることから、オオムギにおいても類似因子が何らかの役割を果たしている可能性がある。

1pE05

形質転換ラン藻および耐塩性ラン藻の電子伝達活性に対するベタインの効果

日比野隆[1]，野村美加[2]，高倍鉄子[2]，高倍昭洋[1,3]([1]名城大・理工，[2]名古屋大・生物分子応答センター，[3]名城大・総合研究所)

ある種の光合成生物は，塩ストレスを受けるとベタインを蓄積することによって細胞内の浸透圧調節を行うことが知られているが、演者らは，淡水性ラン藻（*Synechococcus* sp. PCC7942）にベタイン合成遺伝子を導入することにより，耐塩性が付与されることをすでに報告した。また，ベタインを蓄積する耐塩性ラン藻 *Aphanothece halophytica* は，2.5 M のNaCl 存在下においても高い光合成活性を示すが，そのような条件では循環的電子伝達活性が活発に働いていることを報告した。

そこで，今回，ベタイン合成遺伝子を導入した*Synechococcus* sp. PCC7942 および耐塩性ラン藻 *Aphanothece halophytica* からチラコイド膜を単離し，単離チラコイド膜の電子伝達活性に対する塩の効果がベタインによりどのように変化するか検討した。その結果，単離チラコイド膜において，ベタインが存在するとNADPHを介するP700^{+}の還元が検出されることが明らかになった。また，高塩濃度の条件で培養した *Aphanothece halophytica* から単離したチラコイド膜では，ベタインの保護効果が顕著であった。

1pE06

形質転換ラン藻を用いた塩ストレス下でのベタイン蓄積によるRuBisCOタンパク質の安定化機構の解析

野村美加、横田明穂[1]、高倍鉄子（名古屋大・生物分子応答研究センター、[1]RITE)

細胞は高濃度の塩ストレスにさらされると浸透圧ストレスを受けるが、耐塩性生物では外部の浸透圧のとバランスを取るために適合溶質と呼ばれる物質を細胞内部に大量に蓄積する。

我々は適合溶質の一つであるグリシンベタイン（ベタイン）に着目し、淡水性ラン藻、*Synechococcus* sp. PCC7942 に大腸菌由来ベタイン合成系遺伝子、*bet*-genes、を導入し、ベタイン合成・蓄積の生理学的意義について検討を行っている。ベタインを合成・蓄積する形質転換株は野生株に比べ高い耐塩性を獲得することは既に報告している。

今回我々は、形質転換ラン藻を用いて塩ストレス下におけるベタインの果たす役割について検討を行った。その結果、塩ストレス下において野生株より形質転換株においてはRuBP carboxylase 活性が高く維持されていることを見い出した。つまりベタインがRuBisCO活性部位の構造を安定化していることを*in vivo* の実験系で確認できた。さらにベタインは、塩ストレス等により変性させたRuBisCOに対し、分子シャペロン様機能をも果たすことを *in vitro* の実験系で確認した。

1pE07

耐塩性ラン藻 *Aphanothece halophytica* のDnaK遺伝子のクローニングと発現

Lee Byung Hyun[1]，日比野隆[2]，高倍昭洋[2,3]（[1]名古屋大・生物分子応答センター，[2]名城大・理工，[3]名城大・総合研究所)

分子シャペロンは蛋白質合成，膜輸送，アッセンブリー，失活酵素の再活性化など，多くのプロセスに関与すると考えられている。今回，高塩濃度下における蛋白質のフォールディングに対する分子シャペロンの役割を明らかにすることを目的として，耐塩性ラン藻からDnaK遺伝子を単離し，その発現について検討したのでその結果について報告する。

耐塩性ラン藻 *Aphanothece halophytica* から単離したDNAを用いてジェノミックライブラリーを作成した。これまでに単離されている生物種のDnaK遺伝子でホモロジーの高い部分をプローブとしてPCR法でDnaK遺伝子断片を増幅した。その断片をプローブとして，ハイブリダイゼーション法によりDnaK遺伝子を単離した。単離したクローンがDnaK遺伝子の機能を果たすかどうかをDnaK遺伝子が欠損したE. coli を用いて検討した。その結果，*Aphanothece halophytica* から単離した遺伝子にはE. coli のDnaK遺伝子の機能を相補するものとしないものがあることがわかった。単離したDnaK遺伝子を E. coli で発現させて，それを抗原として抗体を作成した。NaCl 濃度の変化に応じた，mRNAおよび蛋白質含量の変化等からDnaK蛋白質の機能について検討した結果を報告する。

1pE08

コリンオキシダーゼ遺伝子を導入したシロイヌナズナのストレス耐性

林　秀則、Alia[1]、村田紀夫[1]（愛媛大・理・化学、[1]基生研)

塩耐性植物の多くは塩ストレスに応答して適合溶質を合成する。グリシンベタイン（以下ベタイン）も適合溶質の一つであり、またベタインは光化学系Ⅱ複合体の高塩条件下での安定性を増大させる。放線菌のコリンオキシダーゼはコリンから一段階の反応によってベタインを生成する酵素である。その遺伝子をシロイヌナズナに導入して得られた形質転換体は塩ストレスのない条件下でベタインを蓄積した。この形質転換体は100 mM の NaCl を含むプレート上において野生株より高い確率で発芽、生長した。また水耕で約 30 日生育した植物体を200 mM の NaCl 水溶液で処理した場合、野生株はほとんど枯死したのに対し、形質転換体は生育を続けた。このようにシロイヌナズナにおけるベタインの生成はその耐塩性を増大させる。本研究ではこの形質転換体における0 ℃で処理した種子の発芽率、低温および強光による光合成活性の変化について解析した。その結果形質転換体では発芽時における低温耐性、低温および強光に対する光合成活性の安定性も増大しており、ベタインの蓄積は塩耐性のみならず他のストレス耐性の向上にも関与していると判断された。

1pE09

グリシンベタイン合成系を導入したトランスジェニックイネの作出とその耐塩性

坂本　敦[1,2]、ALIA[1]、Patcharaporn DESHNIUM[2]、林　秀則[3]、村田紀夫[1,2]（[1]基礎生物学研究所、[2]総研大・生命科学、[3]愛媛大・理・化学）

耐塩性の改善は農作物の遺伝子操作における重要課題の１つである。適合溶質であるグリシンベタイン（以下ベタインと略）は高等植物の耐塩性を決定する主要因子の１つと考えられる。イネはベタインを蓄積せず高塩環境条件では生育できない。私たちは遺伝子工学的手法によるイネの耐塩性向上を目指している。標的遺伝子としてコリンからベタインの生成を触媒するコリンオキシダーゼをコードする土壌細菌 *Arthrobacter globiformis* の*codA*遺伝子を用いて、細胞質あるいはプラスチドにベタイン生合成経路を導入したトランスジェニックイネを作出した。カリフラワーモザイク35Sプロモーターの制御下で*codA*遺伝子がトランスジェニック組織においてmRNA、タンパク質および酵素活性のレベルで発現していることを確認した。トランスジェニック体はベタインを蓄積し、塩ストレスに対して耐性を獲得した。

1pE10

植物の耐塩機構の分子遺伝学的解析

栂根一夫，佐伯真理，小林京子，丹羽康夫，小林裕和（静岡県立大・生活健康科学）

植物の耐塩機構を解明するために，分子遺伝学的解析に適したシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*) を用いた．変異原 ethylmethane sulfonate (EMS) 処理系統 12,400 種類およびT-DNA挿入変異系統 4,900 種類 (個体数としてはそれぞれその約８倍および４倍) から光合成栄養生長耐塩性変異体の選抜を試みた．その結果，野生体 (Columbia) が生育できない 200 mM NaCl 添加培地において生育可能である数系統の耐塩性突然変異体を見いだした．遺伝学的解析の結果，この耐塩性形質は，複数の遺伝子座 quantitative trait loci (QTL) によって支配されていると考えられた．また，シロイヌナズナの生態型 (ecotype) による耐塩性の違いも見いだした．

塩添加培地における生存率は，光強度によって著しく影響を受けることを観察した．このことから，光合成機能低下によって，光ネルギーを消費できずに発生する活性酸素の影響も無視できないと考えられる．また，塩による植物枯死の原因の１つは浸透圧によるものと考えられ，細胞内浸透圧調節物質についても検討を加えている．

1pE11

マングローブ植物（オヒルギ類）培養細胞系の確立；成長と再生に対する塩の効果

三村徹郎、三村真理、根本-鷲谷節子、坂野勝啓[1]、新免輝男[2]、Somkid SIRIPATANADILOK[3]（一橋大・生物、[1]農水省・生物研、[2]姫路工大・理・生命、[3]Kasetsart大（タイ王国））

マングローブ植物は熱帯・亜熱帯の沿岸域に生育する樹木の総称である。マングローブの際だった特徴は、高塩濃度環境でも生育できることであり、耐（好）塩性研究のための格好の材料と考えられるが、木本であることや生育域との関係で、必ずしも実験室での研究には向いていない。本研究では、マングローブ植物の細胞レベルでの検討を可能にするために、マングローブ林主要樹種であるオヒルギ類(*Bruguiera sexangula*)から培養細胞を作出することを試みた。葉片、胎生種子の一部を切り出し、2,4-Dと4-CPPUを含むアミノ酸培地に植えたところ、高頻度でのカルス形成が観察された。誘導されたカルスは、固形培地、液体培地で継代をつづけている。現在、この培養細胞系の成長や再生にする塩の効果を検討中でありそれについても報告する。

1pE12

NiR 遺伝子を富化したトランスジェニックシロイヌナズナの育成と解析

高橋美佐、岡村明浩、井田正二[1]、森川弘道（広島大・理・遺伝子科学、[1]京都大、食研）

我々は大気汚染物質の一つである NO2 を好んで吸収代謝し、唯一の窒素源として生育する NO2 好性植物の創製を目指して研究している。NO2 は気孔を通して葉細胞に吸収され、硝酸同化関連酵素によりアミノ酸へと同化されることが報告されている。従って、亜硝酸還元酵素 (NiR) は植物の NO2 代謝の鍵酵素の一つであると考えられる。

本研究ではホウレンソウの NiRcDNA と *hpt* 遺伝子を含む発現ベクター pSNIRH(35S pro-spinach NiR cDNA-NOS ter; 35Spro-*hpt*-NOS ter) をパーティクルガン法を用いてシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana* ecotype C24)根の外植片（平均 7.5㎜ 長）に導入し、トランスジェニックシロイヌナズナ植物を育成した。これまでに約 50 系統の T2 植物および約 20 系統の T3 植物が得られた。これらの植物の NO2 同化能力を重窒素トレーサーを用いた質量分析法により解析した。野性株の NO2 同化能力よりも約 1.4 倍高い能力を持つトランスジェニック植物クローンが得られた。また、このクローンの NR, NiR 酵素活性は野性株の約1.2倍であった。これらの結果について報告する。

1pE13

パーティクルガン法を用いたシロイヌナズナ葉へのアンチセンスGS cDNAの導入と発現の解析

有村源一郎，河村義史，入船浩平，五島直樹，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

グルタミン合成酵素(GS)は硝酸同化経路における第三酵素であり，植物の窒素化合物の一次代謝において重要な役割を果たす酵素である。植物は二酸化窒素(NO_2)を吸収代謝するが，本代謝に置いてGSは鍵酵素の一つと考えられる。本研究では，シロイヌナズナで報告されているGS2 cDNA断片（660bpでGS1 cDNAと約７０%のホモロジーをもつ）をアンチセンス方向に発現カセットに組み込んだベクターを構築し，パーティクルガンを用いて植物実生の葉（attached leaf cells）に導入し，アンチセンスGS cDNAの発現の効果を解析した。その結果、導入後2時間で植物葉におけるGSポリペプチド量およびGS活性も有意義に減少した。またアンチセンスGS cDNAを導入した植物体をNO_2暴露処理すると、GSポリペプチドと酵素活性の減少はさらに強まり、かつ著しい可視障害が生じた。キャピラリー電気泳動による硝酸、亜硝酸およびアンモニウムイオンの分析の結果、アンチセンスGS cDNAを導入した植物をNO_2暴露処理すると、顕著な亜硝酸イオンの蓄積が生じることが分かった。従って、上記の可視障害は亜硝酸イオンの蓄積に起因すると結論された。以上の結果は、NO_2同化系においてGSが重要な役割を果たすことを示している。

1pE14

パーティクルガン法を用いたシロイヌナズナ葉へのセンス GS cDNA の導入と発現の解析

藤井真紀子、有村源一郎、高橋美佐、駒場繁、森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

グルタミン合成酵素（GS）は硝酸同化経路における第３酵素であり、植物の窒素化合物の一次代謝において重要な役割を果たす酵素である。植物は二酸化窒素(NO2)を吸収代謝するが、本代謝において GS は鍵酵素の１つであると考えられる。本研究では、シロイヌナズナで報告されている 4 種類の GS 遺伝子のうち、GS1および GS2 の cDNA 断片（それぞれ 1.2kb および 1.3kb）を RT-PCR 法を用いて調製した。これらの cDNA 断片をプローブとして、シロイヌナズナ cDNA ライブラリーから GS1 および GS2 の完全長の翻訳領域を含むクローンを得た。これらの GScDNA を CaMV 35S プロモーターと NOS ターミネーターとの間にセンス方向に組み込んだ発現ベクターを構築した。次に、これらベクターをパーティクルガン法を用いてシロイヌナズナ実生の葉に導入し、GS 酵素活性およびシロイヌナズナ植物の NO2 同化能力などについて解析した。これらの結果について報告する。

1pE15

硝酸により誘導されるシロヘム合成系遺伝子の単離と発現調節機構

榊原　均、武井兼太郎、杉山達夫（名大農・応生科）

植物の主要な窒素源である硝酸イオンは硝酸還元酵素(NR)、亜硝酸還元酵素(NiR)、グルタミン合成酵素(GS)によりアミノ酸へと同化される。上記遺伝子群は硝酸依存的な発現制御下にあるが、我々はこれら以外に同様の発現制御下にある新奇な遺伝子の探索を目的とし以下の解析を行なった。

硝酸投与後、経時的に収穫したトウモロコシ根からRNAを抽出し、Differential display法により硝酸処理後短時間で顕著に誘導を受けたDNAバンドを回収し塩基配列を決定したところ、大腸菌のシロヘム合成酵素と高い相同性を持つクローンが得られた。さらにトウモロコシ根のcDNAライブラリーから全長を含むクローンをスクリーニングし1.7 kbのインサートをもつpZmUMT1を得た。大腸菌のシロヘム合成酵素はuroporphyrinogen III methyltransferase (UMT) 活性、precorrin-2 oxidase活性, ferrochelatase活性を持つ多機能酵素であるが、pZmUMT1はUMT領域のみと高い相同性を示した。硝酸誘導性、各種阻害剤(cycloheximide, EGTA, La^{3+} etc.)による誘導阻害効果をノザン解析したところ、NR, NiR, GS2と同様に硝酸投与後すばやく蓄積し、また阻害剤の効果も同様であった。亜硝酸還元酵素(NiR)は補欠分子族としてシロヘムをもつが、pZmUMT1はこの合成系に関与し、また高等植物のシロヘム合成は大腸菌の様な多機能酵素ではなく、各活性は異なる遺伝子にコードされるものと推察される。硝酸依存的な遺伝子制御ネットワークは硝酸還元系酵素活性発現に必要な補欠分子族合成系遺伝子をも含むことが明らかとなった。

2aE01

海産紅藻*Porphyra yezoensis*(スサビノリ)の硝酸還元酵素のcDNAのクローニング

中村良子，中川寅[1]，中山和久，猪川倫好（筑波大・生物，[1]岐阜大・農）

紅藻*Porphyra yezoensis*(スサビノリ)の硝酸還元酵素(NR)に対して作成したモノクローナル抗体をプローブにしてλZAP Express ベクター中に作成したスサビノリcDNAライブラリー３４万クローンから、最終的に2679塩基のORFを含む2874塩基のcDNAを得た。ORFは892個のアミノ酸からなる推定分子量98,299 、推定pI 5.3のNRのサブユニットをコードしていた。スサビノリNRのアミノ酸配列は菌類、高等植物、緑藻のNRとの間に36から51%の相同性が認められた。他のNRや酸化還元酵素との比較からスサビノリNRのサブユニットはN末端側から、塩基性アミノ酸に富み他のNRと相同性の見られないN末端領域、亜硫酸酸化酵素のMo-pterinドメインとも相同性のあるMo-pterinドメイン、他のNRや酸化還元酵素と相同性の全くないヒンジ領域１、L- 乳酸脱水素酵素のヘムドメインと動物のシトクロムb5と相同性のあるヘムドメイン、ヒンジ領域2、シトクロムb5還元酵素と相同性のあるFADドメイン、と6分割された。また他の酸化還元酵素における補欠分子の結合部とされるアミノ酸はすべて保存されていた。近隣結合法により全アミノ酸配列の明らかになっているNRとの系統樹を作成したところ、スサビノリNRは緑藻 *Volvox carteri* の NR と近縁であるという結果を得た。

2aE02

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC7942 のカルボキシゾーム関連遺伝子群のシアン酸による活性化

鈴木石根[1]、小俣達男（名古屋大・農・応用生物、[1]基礎生物学研究所）

我々は*Synechococcus* sp. PCC7942において、硝酸の還元産物であるNH_4^+が、硝酸同化系遺伝子群の転写を抑制するとともに、カルボキシゾームに局在する炭酸固定酵素Rubiscoをコードする*rbcLS*の転写を活性化すること、および、NH_4^+による遺伝子発現の制御が、カルバモイルリン酸（窒素同化の中間代謝物）の分解によって生じるシアン酸の蓄積によって引き起こされることを既に報告した（鈴木他、1994年度年会）。本研究ではさらに、*rbcLS*の近傍に存在する他の炭酸同化関連遺伝子群に対するシアン酸の効果を検討した。その結果、カルボキシゾームの形成に必要な遺伝子群（*ccmKLMNO*）とカルボキシゾームでRubiscoにCO_2を供給するカーボニックアンヒドラーゼの遺伝子（*icfA*）の発現がシアン酸により活性化されることが明らかになった。一方、CO_2能動輸送系へのエネルギー供給に関与する*ndhB*遺伝子の転写はシアン酸の影響を受けなかった。以上の結果から、シアン酸はカルボキシゾームの生合成を活性化すると推定した。

2aE03

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC7942 及び*Plectonema boryanum* における亜硝酸還元酵素遺伝子の発現誘導に対する硝酸イオンの影響

菊地裕之，愛知真木子，鈴木石根，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC7942の亜硝酸還元酵素(NiR)遺伝子*nirA*は、硝酸イオン輸送体及び硝酸還元酵素遺伝子とオペロン(*nirA*オペロン)を構成している。*nirA*オペロンの転写はアンモニアの存在下では抑制されており、その脱抑制は培地からのアンモニアの除去、あるいはMSX(グルタミン合成酵素阻害剤)によるアンモニア固定の阻害により行われ、硝酸イオンに依存しない(鈴木他, 1993 PCP 34:1311-1320)。しかしMSXによって*nirA*の転写を脱抑制した場合、硝酸イオン非存在下では、*nirA*の転写は一過的にしか起こらなかったのに対し、硝酸イオン存在下では転写が継続的に起こり、大量の*nirA*転写物が蓄積した。MSX存在下では硝酸イオンは窒素源としては作用しないので、この結果から硝酸イオンが*nirA*オペロンの転写を正に制御することが明らかになった。硝酸イオンの*nirA*遺伝子の転写に対する促進効果は糸状性のラン藻*Plectonema boryanum*でもみられた。

2aE04

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC7942 の硝酸イオン/亜硝酸イオン能動輸送体の活性調節に関する研究

小林正樹，Rocío Rodoríguez[1]，Catalina Lara[1]，小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学，[1]Inst. Bioquím. Vegetal y Fotosíntesis, Fac. Biol. Univ. Sevilla-CSIC, Apdo. 1113, 41080 Sevilla, Spain）

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC7942 による硝酸イオン/亜硝酸イオンの取り込みは、培地へのアンモニアの添加により可逆的に阻害される。このラン藻の硝酸イオン/亜硝酸イオン能動輸送体（以下NRTと略す）は、ABC型輸送体に属しているが、ATP結合サブユニットのひとつであるNrtCが他の同族輸送体に例のないC末端側ドメインを持つ点が構造上の特徴である。本研究では、NrtCのC末端側ドメインを欠く変異株（NC2）を用いて、このドメインとNRTの活性調節との関係を調べた。培地中から亜硝酸イオンを取り込ませる際にアンモニアを共存させると、野生株では亜硝酸イオンの取り込みが完全に停止したが、NC2では取り込み速度が野生株の40%程度に低下したものの亜硝酸イオンの取り込みは継続し、培地中の亜硝酸イオンはすべて同化された。一方、硝酸イオン輸送活性を細胞内への硝酸イオンの蓄積によって測定し、アンモニアの効果を調べたところ、野生株では硝酸イオンの蓄積が完全に阻害されるのに対し、NC2では30%程度しか阻害されなかった。以上の結果より、NrtCのC末端側ドメインは、アンモニアによるNTの硝酸イオン/亜硝酸イオン輸送活性の阻害に関与していることが明らかとなった。

2aE05

登熟ダイズ種子のアスパラギン分解代謝

増田亮一，金子勝芳（農水省・食総研）

ダイズ種子には登熟中に多量のアスパラギン，グルタミン酸，アラニンを一時的に集積する品種がみられる。グルタミン酸を多く集積する要因の1つとして子葉のグルタミン合成酵素活性の相違が考えられた。アスパラギンはダイズ種子に供給される主要な窒素源であり，種皮や子葉で他のアミノ酸に変換される。このアスパラギン分解代謝の初段は，マメ科ではアスパラギナーゼ（ＡＳＮＨ）とトランスフェラーゼ（ＡＳＮＴ）の２つが考えられる。ダイズ登熟後期では，ＡＳＮＨは子葉より種皮で活性が高く，ＡＳＮＴ活性は子葉のみと部位で異なった。アミノ酸集積特性の異なる種子において，登熟中のＡＳＮＴ活性の変化は集積と密接な関連を示した。代謝酵素の種子組織における分布を組織化学的にみるために，分解酵素の精製（高流速イオン交換，疎水性吸着クロマトグラフィー等による）及び抗体作製を試みている。酵素の性質，Ｎ末端アミノ酸配列を明らかにする。

2aE06

イネ葉身維管束組織における細胞質型グルタミン合成酵素タンパク質の分布

櫻井望，早川俊彦，山谷知行 （東北大・農・応用生物化学）

イネにおいて、篩管を介して若い組織に転流される窒素の主形態はグルタミンである。私たちは、イネ老化葉におけるグルタミンの合成が、大・小維管束に存在する細胞質型グルタミン合成酵素(GS1)により触媒されるという可能性を、Tissue-print immunoblot 法などの結果から示してきた。本研究では、イネ葉身維管束組織におけるGS1タンパク質の分布を細胞レベルで明らかにすることを目的とし、免疫組織化学的手法を用いた解析を行なった。

約10.5齢の水耕栽培イネ（ササニシキ）の第6～11葉の葉身を用い、パラフィン包埋切片を作成してアビジン-ビオチン系による抗体染色後、光顕観察を行なった。

その結果、GS1タンパク質はイネ老化葉身において主に大・小維管束組織中の篩部伴細胞に強いシグナルとして検出され、また篩部及び木部柔細胞にも分布していることが判明した。伴細胞は、通導組織を介した物質の輸送において篩管への物質の loading に重要な役割を果たしていることが形態学的に推定されていることから、この結果は、GS1がイネ老化葉において、主な転流窒素の形態であるグルタミンの合成を行なっている可能性を更に強く示唆するものであった。一方、第11葉身未抽出部分においては、GS1タンパク質は伴細胞には検出されず、二次細胞壁の未発達な厚壁組織細胞に検出され、緑化した第11葉身抽出部や完全展開葉身とは明らかに異なる分布を示した。このことから、若い葉身においては、リグニン生合成の鍵酵素である phenylalanine ammonia-lyase の反応により放出される NH_4^+ の代謝系に GS1 が関与している可能性が考えられる。

2aE07

トマト培養細胞から分離したフィトケラチン合成酵素の性質

伊藤祥子，井上雅裕，遠山鴻，城尾昌範（愛媛大・理・生物）

多くの植物は重金属ストレスにより重金属結合ペプチドであるフィトケラチン（ＰＣ）を合成する。ＰＣはＰＣ合成酵素によってグルタチオンから構成的に合成されると考えられているがその本体と金属調節についてはよくわかっていない。私達はこれまでＣｄ馴養したトマト細胞が野生株より高いＣｄ耐性とＰＣ合成能を持つこと、またＣｕで馴養してもＣｕ耐性は上昇せずＰＣも合成されないことを見いだした。従ってＰＣ合成の有無がトマトの金属耐性を規定する重要な要因であると考えられた。ＰＣが金属特異的に合成される原因の一つにＰＣ合成酵素レベルでの調節が考えられる。そこで本研究では、トマト細胞からＰＣ合成酵素を分離しその活性を測定した。まず大量に培養した野生株細胞から細胞質蛋白質を抽出し、酵素の部分精製をKlapheckら（1995）の方法で行った。酵素液300μlに基質（5mMGSH）とＣｄイオンを適量加え27℃で２時間反応させた。生成物はHPLC（プレカラム法）で定量した。その結果、極めて低レベルながらＣｄ濃度に依存したＰＣ合成酵素の活性が検出された。従って、ＰＣ合成酵素の一部分は構成的に存在すると思われる。しかし、Ｃｄ耐性株由来の酵素の活性は野生株のそれより2,3倍高かったので、酵素の活性化だけでなく酵素量の増加も耐性株の高いＰＣ合成能に貢献していると思われる。現在、Ｃｕイオンの影響について同様に研究を進めている。

2aE08

アズキ植物に対する酸ストレスの影響

藤家香苗、 井上雅裕（愛媛大・理・生物）

植物には酸性土壌を好むものと逆にアルカリ性土壌を好むものがあり、酸ストレスに対する植物の反応も様々であると思われる。一般に土壌の酸性化が進むと多くの植物は生育不良となるが、その原因として、酸性化による有害重金属イオンの溶出、膜のダメージ、養分吸収パターンの変化など色々な原因が考えられる。本研究ではアルカリ性土壌を好むとされるアズキを用いて５種類の酸の影響を調べた。植物は明所２５℃で５日間蒸留水を含んだ容器で成育させ、その根に様々な濃度の酸を含む蒸留水を与え、根と地上部の伸長量と重量の変化を測定した。

その結果、どの酸に関しても根が地上部より低濃度で強い成長阻害を受けた。また、根の成長に対する酸の阻害効果は硝酸、リン酸>硫酸>酢酸、塩酸の順で強く現われた。酸溶液のｐＨと根の成長阻害の関係を調べると、ｐＨ３以下では全ての酸で阻害が見られたが、ｐＨ３～５の範囲では阻害効果は酸の種類によって異なっていた。即ち、ｐＨの影響だけでは説明できなかった。次に、一定濃度（１mM）の酸で１時間処理した根を蒸留水に移すと部分的な阻害の回復が見られた。また、0.1mMの酸で同様の実験を行った場合、成長を促進する酸もあった。

以上の結果から、酸の影響としてｐＨ３以下で見られる不可逆的な作用以外に酸の種類によって特異的にもたらされる可逆的な影響も存在すると考えられる。現在、酸による根の成長阻害と促進の原因について、陰イオンの吸収、細胞質とアポプラストの蛋白質に注目して研究を進めている。

2aE09

アルミニウム(Al)イオンストレスに応答する酵母遺伝子群のクローニングとその解析

江崎 文一、松本 英明 （岡山大 資生研）

これまでタバコを用いてAlストレス誘導性遺伝子群を解析してきたが、今回新たに酵母からもAl誘導性遺伝子を単離、解析したので報告する。

酵母AB1380株のAlストレスによる生育阻害はAl処理液のpH値とAl濃度に依存しており、植物とよく類似したAl生育阻害が観察された。さらに酵母からもAlストレス誘導性遺伝子の単離を試み、構築したcDNAライブラリーの中から誘導性クローンを2つ得た（pAL1001，1003）。ノーザンハイブリの結果より、どちらも発現レベルがAl処理に応答して上昇することが確認された。さらに塩基配列を決定したところ、pAL1001は分泌性熱ショック蛋白質*HSP150*遺伝子と、またpAL1003は細胞膜表層蛋白質*SED1*遺伝子と一致した。一方、Al処理の前処理として熱ショックを与えたAB1380株の細胞は、前処理していない細胞に比べてその後のAlストレスに対して耐性を示した。

2aE10

アルミニウムによるコムギ根の伸長阻害機構
佐々木昌生、山本洋子、松本英明（岡山大・資生研）

Alによる初期の根の伸長阻害は伸長域における伸長阻害に依存する。我々は、Al処理によって伸長域の皮層細胞に特異的にリグニンが誘導されることを昨年度の本年会で報告した。今回はリグニンの誘導に先だって起こるAlの影響について検討した。

コムギ（*Triticum aestivum* L.）根を0.1mMのCa^{2+}存在下でAl（50μM）処理すると、3から6時間後にかけて急激な根の伸長の低下がみられた。Al処理をした根をpropidium iodideを用いて細胞のバイアビリティー（viability）を判定すると、Al処理3時間後から伸長域の細胞にのみ、著しいバイアビリティーの低下がみられた。propidium iodideは正常な細胞膜を透過しないことから、propidium iodideによる染色は原形質膜の障害を反映していると考えられた。Ca^{2+}濃度を増加（1mM）すると、Alによる伸長の低下、バイアビリティーの低下のいずれも回復した。一方、根の伸長阻害および伸長域の細胞のバイアビリティーの低下は、強い酸性条件下においても起こり、Ca^{2+}濃度の増加（1mM）によって改善された。H^+とCa^{2+}輸送系に影響を与える様々な薬剤処理を単独で施した結果から、細胞質のpHの低下およびCa^{2+}濃度の増加が、Al処理と同様に細胞のバイアビリティーの低下を引き起こすことが示唆された。従って、これらの現象がAlストレスに関連している可能性が推定された。

2aE11

トウモロコシにおけるAlによる根の伸長阻害に対するケイ酸の軽減効果
馬建鋒、佐々木昌生、松本英明（岡山大・資生研）

植物に対するアルミニウムの毒性の発現は他の元素との相互作用によって変わる。本研究ではトウモロコシを用いて、アルミニウムによる根の伸長阻害に対するケイ酸の効果及びそのメカニズムについて検討した。20μM Alの添加が根の伸長（20時間）を70%ほど阻害したが、ケイ酸の共存下でその阻害が軽減された。処理液のmonomeric Alの濃度は添加したケイ酸の濃度の増加とともに減少し、根の伸長阻害の程度と一致した。またmonomeric Siの濃度もAlの添加によって減少した。monomeric Al濃度が最終的に同じような条件下で、根の伸長阻害に対するケイ酸の影響を調べたところ、阻害が同程度であった。さらに根端の表皮近傍の細胞のviabilityの低下を比較するとケイ酸の添加の有無に関わらず、monomeric Alの濃度と比例していた。これらのことはトウモロコシの根においてケイ酸によるアルミニウム害の軽減効果は溶液中においてケイ酸がアルミニウムと複合体をつくり、毒性のあるmonomeric Alの濃度を低下させることに起因することを示している。

2aE12

シロイヌナズナの低マンガン含量変異株の栄養学的特性
大谷　憲太、北野　高寛、尼子　克己、高橋　正昭（大阪府大・農・応用生化）

植物の微量必須元素であるマンガンは光合成の酸素発生系の触媒中心として緑葉に含まれている。マンガンの要求量はFeを除く他の金属元素に比較して高く、アルカリ土壌やマンガン含量の低い土壌では欠乏症状が現われることが知られている。しかし、マンガンの土壌中からの吸収、および、植物体内での移行の機構は十分に解明はされていない。本研究ではマンガンの輸送の機構を明らかにするために、シロイヌナズナを用いて、マンガンの吸収や移行能が欠損している変異株の選抜を試みた。

速中性子線で突然変異誘起処理したシロイヌナズナ（M2世代）を、高濃度のマンガンを含む培地で育てたが、マンガン過剰ストレスについては野性型と顕著な差は見られなかった。しかし、M2種子を完全水耕培養液で育てると、マンガン欠乏ストレス症状を示す個体が認められ、その植物体の一部を採りマンガン含量を測定した。数千の個体を栽培し、低マンガン含量変異株が数株単離された。変異の固定した株について、高濃度のマンガンを含む水耕液に移植した時のマンガン欠乏ストレスからの回復や、組織別のマンガン含量などの栄養学的特性を調べた。

2pE01

大麦SAM合成酵素遺伝子のクローニング及び各種ストレス条件下での遺伝子発現
滝沢　隆一，中西　啓仁，森　敏　（東京大学・農学生命科学）

鉄欠乏条件下においてイネ科植物は，鉄キレーターであるムギネ酸を根より分泌する。ムギネ酸はメチオニンを出発点として数段階からなる生合成反応を経て合成される。その生合成反応触媒酵素のうちのひとつであるSAM合成酵素が鉄欠乏条件により，転写の面で，あるいは酵素活性の面で誘導されているか否かを検討した。

1. 大麦の根より抽出した粗酵素液を用いて*in vitro*のSAM合成酵素活性を測定したが，鉄欠乏大麦根と鉄供給大麦根の間では活性に差はみられなかった。
2. 鉄欠乏大麦根cDNAを鋳型としたPCRにより，トマト，アラビドのSAM合成酵素遺伝子と非常に相同性の高いcDNA部分断片を得た。これをプローブに用いて，プラーク・ハイブリダイゼーションにより，全長を含むと思われる3種類のSAM合成酵素遺伝子を大麦幼植物cDNAライブラリーλgt10からクローニングし，その塩基配列を決定した。

現在，これらの3種類の遺伝子の特異的配列をプローブに用いて，それぞれのSAM合成酵素遺伝子発現の，鉄欠乏をはじめとする各種環境・栄養ストレスに対する変化を解析しているところである。

2pE02

鉄欠乏オオムギ根で発現する「ムギネ酸・鉄」トランスポーター遺伝子のスクリーニング

山口博隆、塩入孝之[1]、森　敏
（東京大・農学生命科学、[1]名古屋市大・薬）

イネ科植物の根による「ムギネ酸・鉄」の吸収活性は鉄欠乏条件で誘導されること、DCCD、CCCP、バリノマイシンで阻害され、「ムギネ酸・鉄」の構造的な類縁体である「ニコチアナミン・銅」、「デオキシムギネ酸・コバルト」によって拮抗的に阻害されることが明らかにされてきた。これらの結果は「ムギネ酸・鉄」の吸収が能動的で、「ムギネ酸・鉄」の構造に特異的なものであることを示している。そこで演者らは、鉄欠乏条件下のオオムギの根に、「ムギネ酸・鉄」に極めて特異的な吸収トランスポーターが存在すること想定し、そのトランスポーターをコードする遺伝子を単離することを試みた。

酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）の *ctr1* 変異株は、high affinityな銅の吸収能が欠損しており、その結果、high affinityな鉄の吸収能が失われている。この変異株FTRUNB1 (*Δctr1::URA3*) (Dancis *et al*, Cell, *76*, 393-402, 1994) に、鉄欠乏条件で栽培したオオムギ根から調製した発現 cDNAライブラリーを導入し、鉄源として「ムギネ酸・鉄」を含む選択培地上で生育が改善されたものを選抜した。現在その二次選抜と、形質転換酵母の「ムギネ酸・鉄」の吸収能の評価を行なっている。

2pE03

鉄欠乏オオムギ根におけるムギネ酸生合成経路の研究 V

：ニコチアナミンアミノ基転移酵素の精製

高橋美智子、金澤健二、塩入孝之[1]、西澤直子、森敏　（東京大・農学生命科学、[1]名古屋市大・薬）

イネ科植物は鉄欠乏条件下で鉄吸収のために三価の鉄キレーターであるムギネ酸類(MAs)を根から放出する。デオキシムギネ酸はニコチアナミンから、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の生合成の前駆体である。われわれは、このニコチアナミンアミノ基転移酵素(NAAT)の精製を試みている。

鉄欠乏処理したオオムギの全根からの粗酵素を疎水、吸着クロマトグラフィーによって予備精製し、陰イオン交換クロマトグラフィーに供すると、NAATはKClグラジェント溶出によって２つのアイソザイム（NAAT-I；MW 80kDa, Km 0.4mM, NAAT-II；MW 90kDa, Km 0.9mM）に分かれた。これらはいずれも鉄欠乏誘導性であったが、NAAT-IIは鉄供給オオムギ根にも存在した。

大量に有機合成したニコチアナミンを用いたアフィニティークロマトグラフィーで、２次元電気泳動上数個のスポットまで精製した。これらのペプチドのアミノ酸配列を検討している。

2pE04

鉄欠乏によってオオムギ根に強く誘導される２つのタンパク質の性質

中西啓仁，鈴木宏一郎，藤垣順三[1]，西澤直子，森　敏
（東京大学・農学生命科学，[1]東京農業大学・短期大学部）

オオムギの根で鉄欠乏条件下において強く発現する遺伝子 *Ids3*（Iron deficiency specific clone）の全塩基配列を決定した．また，二次元電気泳動上で鉄欠乏条件下で強く誘導されるタンパク質(d-タンパク質)の部分アミノ酸配列を決定した．IDS3タンパク質，d-タンパク質それぞれのポリクローナル抗体を作成し，ウエスタン法にてオオムギでの特異性およびいくつかの単子葉，双子葉植物での有無について検討した．IDS3は鉄欠乏処理後３日以内のオオムギの根で検出され，鉄の再投与後４日で抑えられた．また，オオムギ，ライムギ，ミノリムギでは検出されたが，コムギ，イネ，トウモロコシ，ソルガム，カラスムギおよびタバコ，トマトでは検出されなかった．さらにオオムギの染色体の４番にコードされていることが分かった．これらの結果はIDS3がデオキシムギネ酸からムギネ酸への水酸化酵素であることを強く示唆するものである．一方，d-タンパク質はオオムギの根において，鉄欠乏処理３日で誘導され，鉄再投与後７日で消失した．上記のイネ科植物の根のいずれにおいても検出されたが，トマト，タバコなどの双子葉植物では検出されなかった．また，鉄欠乏以外の栄養ストレスでは誘導されなかったことから，d-タンパク質はイネ科植物のムギネ酸による鉄欠乏応答に強く関与していることが示唆された．

2pE05

クラミドモナスのリン酸欠乏に対する順化機構の解明. I. 変異株の単離およびそのキャラクタリゼーション

下河原浩介，臼田秀明，都筑幹夫[1]，Arthur Grossman[2]（帝京大・医・化学，[1]東薬大・生命科学，[2]Carneigie Inst.・ Dept. Plant Biol.）

リン酸は植物の生育を律速する主要な要因の一つであり、リン酸欠乏に晒された植物では、原形質膜を介したリン酸輸送活性が著しく上昇すると共に、潜在リン酸を利用すべく分泌型アルカリフォスファターゼの誘導がおこることが、種々の植物材料を用いて示されてきた。しかしながらその制御機構は未だ解明されていない。我々は、このようなリン酸欠乏ストレスに対する順化能の変異株を、UV照射により変異を誘導したクラミドモナスより単離することに成功した。変異株は^{32}Piによる自殺法で濃縮し、さらに高および低濃度のリン酸を含むプレートにレプリカし、最終的に生育に高濃度のリン酸を要求する株を複数株単離した。個々の株について更に解析を進めたところ、それらの内の一つはリン酸輸送体のみならず、フォスファターゼの誘導も起こらない、pleiotropicな形質を持つことが判明した(図)。この変異株及び野生株の生理的解析をとおして明らかになったクラミドモナスのリン酸欠乏ストレスに対する順化の過程について報告する。

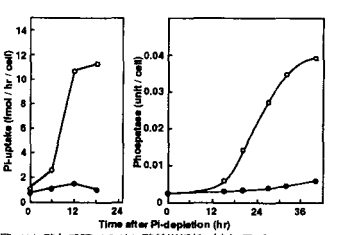


図. リン酸欠乏下でのリン酸輸送活性（左）及びフォスファターゼ活性（右）の誘導。変異株(●)および野生株(○)。

2pE06

緑藻*Chlorococcum littorale*の高CO_2、鉄イオン欠乏条件におけるferric reductase活性の誘導

佐々木孝行、藏野憲秀、宮地重遠（海洋バイオテクノロジー研究所、釜石研究所）

単細胞緑藻*Chlorococcum littorale*は、高いCO_2濃度(20-60%CO_2)条件下でも生育可能である。その生育や生理学的特性の解明のため、演者らはdifferential screening法により高CO_2条件に特異的な2つのクローンを単離した。そのうちの一つは酵母の細胞膜ferric reductaseのアミノ酸配列と部分的に相同性を示した。そこで、*C. littorale*におけるferric reductase活性誘導の調節要因について検討し、以下の結果を得た。

空気条件下で生育した*C. littorale*細胞を新たな培地に移し、20%CO_2または空気条件にすると、20%CO_2条件でのみ細胞表層のferric reductase活性の増加が認められた。このときのFe(II)イオンは、両条件下共に、培地に添加後急速にFe(III)に酸化されていた。また、20% CO_2条件下で最初から過剰の$FeSO_4$を添加すると酵素活性の誘導は抑制され、誘導中に添加すると活性は低下した。これらの結果は、細胞表層ferric reductase誘導には高CO_2と鉄欠乏ストレスが関与することを示唆する。

本研究は新エネルギー・産業技術総合開発機構の委託研究「細菌・藻類等利用二酸化炭素固定化・有効利用技術研究開発」の一環として行われたものである。

2pE07

鉄による*Euglena*アスコルビン酸ペルオキシダーゼの発現機構の解明

石川孝博、吉村和也、武田　徹、重岡　成（近畿大・農・食栄）

*Euglena*のアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(AsAP)は葉緑体にアイソザイムを持たず細胞質にのみ局在しH_2O_2消去に機能している。このことは*Euglena*が細胞質型AsAPの発現・調節機構を解明するための良いモデルであることを示している。そこで我々はヘムタンパク質の本酵素に及ぼす鉄の影響について検討した。

*Euglena*より鉄(Fe)欠乏、正常(7.1mg/l Fe)および過剰細胞を調製し、AsAP活性に及ぼす影響を検討した。Fe正常細胞のAsAP活性は75.3±2.3 μmol /min /10^9cellsであったが、欠乏細胞ではAsAP活性は検出されなかった。Fe過剰細胞のAsAP活性は正常細胞のそれと有意な差は認められなかった。

Fe欠乏細胞へのFe添加により、AsAP活性は添加後3時間まで急上昇し、その後24時間まで直線的に増加することが認められた。タンパク質合成阻害剤シクロヘキシミド(CHI)およびヘム合成阻害剤サクシニルアセトンをFeと同時添加すると、Fe添加3時間までのAsAP活性の上昇は阻害されなかった。しかし、3時間以降の各時間にCHIを添加すると活性上昇は抑制された。*Euglena* AsAP抗体によるイムノブロットの結果、Fe添加前でもAsAPタンパク質は存在し、それ以降経時的に増加することが認められた。Fe欠乏細胞の粗抽出液に50μM 硫酸鉄を添加してもAsAPの活性化は起こらなかった。また、Fe添加3時間後のAsAPをAsA非存在下の透析により失活させた時、50μM 硫酸鉄を添加しても失活を防ぐことはできなかった。以上より、3時間までの活性上昇はAsAPの活性化によるものであり、非ヘム鉄は関与せずヘム鉄へのFe供給が律速となり、一方3時間以降のAsAP活性上昇はAsAPタンパク質とヘムの合成に起因していることが示唆された。

2pE08

活性酸素消去系酵素を導入した形質転換植物の作出とその解析

森田重人[1]、鈴木徹、上中弘典、坂本敦[2]、増村威宏、久保明弘[3]、田中浄[3]、田中國介（京都府大・農・農化、[1]京都大・理・植物、[2]基生研、[3]国立環境研）

移動能力をもたない植物は種々の環境ストレスに曝されておりそれらによる障害には活性酸素の関与が知られている。活性酸素消去系は複数の酵素から成るが、中でもスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)は中心的な役割をはたしている。我々は、SODおよびAPXを過剰発現させることにより、これらの酵素活性とストレス耐性との相関性を明らかにすることをめざしている。

細胞質型Cu/Zn-SOD、葉緑体型Cu/Zn-SOD、細胞質型APX、および葉緑体への輸送シグナルを付加した細胞質型APXのそれぞれのcDNAとCaMV35Sプロモーターとの融合遺伝子をタバコに導入し、得られた形質転換体において目的の遺伝子が発現していることを確認した。葉緑体でAPXを過剰発現させた形質転換体以外については、野性型に比べパラコートに対する耐性が上昇していた。またSODを導入した2種の形質転換体では、SODとともにAPXの活性の上昇がみられた。

これらの結果から、SODとAPXの協調的な活性上昇がストレス耐性に寄与していることが示唆された。

2pE09

Synechococcus PCC7942のフルクトース-1,6-ビスホスファターゼアイソザイムの分子的性質

武田　徹、田茂井政宏、石川孝博、重岡　成（近畿大・農・食栄）

緑藻およびラン藻の光合成炭素還元系を構成するチオール酵素は高等植物の酵素と異なり、H_2O_2に対して耐性を有する。[1] また、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る活性化を含め、その活性調節機構は高等植物の酵素と異なることが示唆された。そこで今回、ラン藻*Synechococcus* PCC7942 (*S.*7942)のフルクトース-1,6-ビスホスファターゼ(FBPase)の免疫学的および分子的性質の検討を行い、H_2O_2耐性機構を考察した。

*S.*7942のFBPaseアイソザイム(FI, FII)はそれぞれ40 kDa, 37 kDaの同一のサブユニットからなる4量体で、精製酵素は1 mM H_2O_2の処理でも80%, 100%活性を保持していた。FIは高等植物の細胞質型酵素の阻害剤であるAMPにより著しく阻害されたが(Ki=0.26 mM)、FIIは全く影響を受けなかった。至適pHは、FIが8.0、FIIが9.5であった。FI遺伝子は356アミノ酸をコードする1068bpのORFからなり、推定アミノ酸は高等植物や動物などの典型的なFBPaseとの相同性は低く、ラン藻*S. leopoliensis* FBPase B型の内部アミノ酸と高い相同性を示した。FII遺伝子は339アミノ酸をコードする1017bpのORFからなり、推定アミノ酸は既報のFBPaseと40~45%の相同性を示した。FI, FIIから作製した抗体はそれぞれに特異的であり、互いに交差反応を示さなかった。また、FI抗体は*Synechocystis* PCC6803 FBPaseと交差反応を示したが、両抗体とも高等植物や動物由来の典型的なFBPaseと交差反応を示さなかった。

1) Takeda, T. et al (1995) *Plant Cell Physiol.*, 36, 1089-1095

2pE10

低酸素ストレス下での植物培養細胞の細胞質ｐＨ調節とリンゴ酸レベルの変化

矢崎芳明、坂野勝啓（農水省・生物研）

低酸素ストレス（酸素通気停止）下での、イネ(Oryza sativa var. musasikogane)、ニチニチソウ(Catharanthus roseus)およびタバコ(Nicotiana tabacum var. BY-2)培養細胞の細胞内ｐＨの変化とエネルギー代謝の差異を、我々はこれまでに報告してきた。細胞質ｐＨ調節機構の一つとしてDaviesが提唱したBiochemical pH-statがある。一例としてPEP carboxylaseとmalic enzaymeの至適ｐＨの差を利用して調節すると考えられている。そこで、細胞の代謝物を^{13}Ｃ　ＮＭＲにより解析し、低酸素ストレス下での細胞質ｐＨ変化とリンゴ酸レベルの変化に着目して３種類の培養細胞で比較した。

酸素通気状態で^{13}Ｃでラベルされたグルコースや重炭酸イオンを取り込ませた後、酸素通気停止処理をした。細胞質の酸性化が小さいイネではリンゴ酸レベルの減少が見られた。エタノールの増加が顕著で、アラニン、ＧＡＢＡ（γ－アミノ酪酸）が^{13}Ｃ　ＮＭＲスペクトルで検出された。一方、細胞質の酸性化が著しいニチニチソウとタバコ細胞では、リンゴ酸レベルの減少が見られるものの、イネの細胞ほど減少しなかった。また、ＧＡＢＡは^{13}Ｃ　ＮＭＲスペクトルでは検出されず、グルタミン酸の脱炭酸反応（プロトン消費反応）もイネの細胞ほど進行しないものと考えられる。

2pE11

嫌気条件下でのウリカワ（*Sagittaria pygmaea* Miq.）塊茎の初期成長の促進

石沢公明[1]，一瀬成広[2]，倉持仁志[3]（[1]東北大・院・理・生物，[2]東北大・農・環境適応，[3]宇都宮大・雑草科学）

オモダカ属の水田多年生雑草であるウリカワは，地下に伸びる匍匐枝の先端に塊茎を形成する。その塊茎は１ないし数個の幼芽があり，その成長はほぼ無酸素に近い条件でも誘導される。その苗条の伸長促進は，０から５％酸素濃度の範囲で認められ，１％酸素濃度付近で最大となる。嫌気条件では苗条のアルコール脱水素酵素活性が顕著に増大する。また，in vivo で^{35}S-Metにより放射能標識されるポリペプチドを，２次元電気泳動法により分析した結果，嫌気条件で特徴的に合成される幾つかのタンパク質があることが明らかとなり，現在更に詳細に検討を加えている。

水生植物が獲得した強い嫌気耐性の機構を解明するための実験材料として，ウリカワの特質を議論したい。

3aE01

ホウレンソウ葉緑体型CuZn-スーパーオキシドジスムターゼのチラコイド膜との相互作用

小川健一、金松澄雄[1]、浅田浩二[2]（京都大・理・分子植物科学、[1]南九州大・食品工、[2]京都大・食研）

葉緑体では光化学系Ｉ（PSI)において酸素が1電子還元されスーパーオキシドが生成する。先にCuZn-スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)が光化学系Ｉに結合していることを免疫電子顕微鏡法で示した[PCP 36: 565 (1995)]。今回はこの可溶性CuZn-SODがどのような相互作用でチラコイド膜に結合しているのかを明らかにするため、パーコール密度勾配遠心によって単離した無傷葉緑体を低張液で破裂させチラコイド膜とストロマに分離し、それぞれのSOD活性を測定した。その結果、用いた低張液のイオン強度の上昇に従いCuZn-SODのチラコイド膜への結合量はいったん増加しその後減少した。イオンの種類を変えたところMg^{2+}はNa^{+}などよりも低濃度で効果を示し、1～5mMで結合量が最大となった。この濃度がストロマでのMg^{2+}濃度に近いことを考えると、葉緑体内でCuZn-SODがチラコイド膜に結合するのに必要な因子はMg^{2+}である可能性が高い。CuZn-SOD分子表面にacidicなドメインが存在することから、そのドメインがMg^{2+}を介してチラコイド膜と結合すると考えられる。

3aE02

γ線照射によって誘導されるシロイヌナズナの自己防御機構の解析

永田俊文、小松節子[1]、鎌ケ江（槻矢）弘美[1]、森昌樹[1]、三好一丸[2]、菊池尚志[1]（新技術事業団、[1]農業生物資源研究所、[2]東京大学農学部）

外界からの苛烈な刺激に対する植物の自己防御機構の発動反応は、ストレス応答のシグナル伝達系解明のモデルとして有用であると考えられる。シロイヌナズナに1－3kGyのγ線を照射することにより、アントシアニン色素の合成、トリコームの大量形成、根端における形態異常（根毛の異常形成）等の現象が引き起こされることを見いだした。アントシアニンの生成により、生体内の活性酸素消去能は十数倍に増大する事が測定された。これらの反応が活性酸素種により誘導されることも、アンチオキシダント（ＰＤＴＣ）を照射前に植物体に吸収させておくことで抑制できることから確認した。これらの反応を誘導するシグナル伝達系を解明するために、γ線照射によってリン酸化パターンの変化するタンパク質を解析したところ、43－46kDaのCa依存的に照射直後からリン酸化を受けるタンパク質をはじめとして、いくつかのタンパク質を見いだした。

3aE03

葉緑体チラコイド膜でのモノデヒドロアスコルビン酸ラジカルレダクターゼ依存の酸素光還元

三宅親弘、Ulrich Schreiber[1]、Henning Hormann[1]、佐野智[2]、浅田浩二（京都大・食研、[1]Wuerzburg大・Julius-von-Sachs Institut、[2]Res. Inst. Innov. Tech. Earth (RITE)）

葉緑体チラコイド膜光化学系I(PSI)では酸素が1電子光還元され、スーパーオキシドラジカル(O_2^-)が生成する。これまで、チラコイド膜PSI還元側のFeS center,X、FeS center,A/BがO_2^-生成部位として同定されている。我々は、モノデヒドロアスコルビン酸ラジカルレダクターゼ(MDAR)がチラコイド膜での酸素の光還元を促進し、PSI->MDAR->O_2の電子伝達の存在を明らかにした。

(1)ホウレンソウ葉緑体チラコイド膜を光照射すると、PSIで酸素が還元され酸素吸収が観測されるが、MDAR(1μM)添加によりこの速度が5倍以上促進された。(2)光照射によるチラコイド膜でのO_2^-生成をCyt c還元及びEpinephrine酸化により検出すると、両反応共にMDARにより促進され、その反応はSODにより阻害され、MDARがO_2^-生成を促進する。さらに、(3)MDAR添加によるelectron fluxの増加は、クロロフィル蛍光収率が低下することでも示された。(4)MDAR依存の蛍光収率低下はDCMU及びDBMIB添加により阻害され、MDARがPSIで電子受容体として機能している。(5)MDAR依存の酸素吸収、O_2^-生成及び蛍光収率低下はNADH、フェレドキシン(Fd)存在下でも観測され、さらに、$NADP^+$の光還元はMDARにより抑制された。MDARは葉緑体ストロマ中に10μMの濃度で存在し、これらの結果はMDARがPSIでのO_2^-生成部位として機能し得ることを示している。

さらに、他のフラビン酵素、グルタチオンレダクターゼ、Fd-NADPレダクターゼ、NADHペルオキシダーゼ、DTジアホラーゼもまたMDARと同様の効果を示したが、グルコースオキシダーゼは上記の効果を示さなかった。

3aE04

ホウレンソウ葉緑体型アスコルビン酸ペルオキシダーゼcDNAのクローニング

石川孝博、植野由美子、坂井康祐、武田　徹、重岡　成（近畿大・農・食栄）

ホウレンソウ葉のアスコルビン酸ペルオキシダーゼ(AsAP)は葉緑体チラコイド、ストロマおよび細胞質にアイソザイムが存在する。今までに細胞質型アイソザイムの遺伝子解析はおこなわれているが葉緑体型は報告がない。そこで今回、ホウレンソウ緑化子葉のcDNAライブラリーより*Euglena*AsAPモノクローナル抗体をプローブとし葉緑体型AsAP cDNAクローニングを行った。

イムノスクリーニングの結果、950 bpのcDNA断片を含むクローンを得た。さらに、プラークハイブリダイゼーションおよび5'RACE法により、全長1407 bpのcDNAクローンを得た。得られたクローンは1248 bpのORFを含み、415アミノ酸残基からなる推定分子量45015 Daのタンパク質をコードしていた。推定アミノ酸配列は、1)既報のホウレンソウチラコイド膜結合型AsAP (tAsAP)のN末端アミノ酸配列と一致すること、2)成熟型tAsAPの推定分子量は37710 DaでありtAsAPの40000±2000 Daにほぼ一致すること、3)ハイドロパシープロットより、C末端側は疎水性のクラスターを形成していることから、単離したcDNAクローンはtAsAPをコードすることが明らかになった。tAsAPは70アミノ酸残基のトランジットペプチドを含んでいた。ホウレンソウtAsAPは既報のチャ葉ストロマ型AsAPの部分アミノ酸配列と108アミノ酸残基中、82.4%の相同性を示した。また、既報の細胞質型AsAPと40.2-46.5%、酵母シトクローム*c*ペルオキシダーゼと34.6%の相同性を示した。

3aE05

光環境の悪化に伴って発現する核支配の葉緑体タンパク質*din*1は含硫化合物酸化還元酵素である

鳴田幸久、渡辺昭（東大・院・理学系・生物科学）

成熟したハツカダイコンの子葉を暗処理すると、老化して葉緑体の内部構造は崩壊する。この現象を明らかにするために、暗処理によって特異的に発現してくるcDNAを濃縮したライブラリーを作製し、このライブラリーから葉緑体タンパク質をコードするものを選抜して、新しい葉緑体タンパク質のcDNAを単離した。このcDNAに対応する遺伝子は暗処理、糖飢餓ストレス、ヒートショックによって強く発現が誘導される遺伝子として報告した*din*1遺伝子であった。*din*1遺伝子のコードするタンパク質は大腸菌の*pspE*などの低分子ヒートショックタンパク質とホモロジーがあり、生物界に広く分布する新しいストレスタンパク質のファミリーを形成している。*Wolinela succinogenes*からsulfide dehydrogenaseのcDNAがクローニングされ、*din*1のファミリーとよく似たアミノ酸配列の構造を持っていることがわかった。また*din*1ファミリーに保存されているアミノ酸配列は含硫化合物の酸化還元酵素であるRhodaneseファミリーにも保存され、*din*1タンパク質も葉緑体内の硫黄化合物の酸化還元に関与する酵素である可能性が高い。現在、生体内での*din*1タンパク質の働きについて検討中である。

3aE06

暗所に置かれたシロイヌナズナ緑葉で発現する分岐鎖アミノ酸の代謝に関与する遺伝子

藤木友紀、佐藤篤行、伊藤正樹、渡邊昭（東京大・院・理系・生物科学）

演者らは、ディファレンシャルディスプレイ法を用いて、暗所に置いたシロイヌナズナの緑葉で特異的に発現するcDNAの単離を試みた。5種のcDNAクローンが得られたが、ノーザン解析では、それぞれ暗処理時間の経過に伴って異なった発現パターンを示した。この結果は、緑葉細胞が暗所に適応する機構は様々な段階からなり、各過程で特異的に働く遺伝子の制御を受けていることを示唆している。これらのクローンのうちの2つは、動物の分岐鎖αケト酸脱水素酵素複合体の構成酵素と相同性があり、完全長のcDNAをクローニングして塩基配列の決定を行った。動物でのこの酵素複合体は分岐鎖アミノ酸（Val, Leu, Ile）の炭素鎖を利用してエネルギーを得る代謝経路の鍵酵素であり、その酵素活性の欠損がメープルシロップ尿症の原因となることでも知られている。植物におけるこの酵素の働きは殆ど解析されてなかったが、暗処理による遺伝子発現の誘導が観察されたことから、糖飢餓の状態に陥った緑葉細胞において、この酵素が分岐鎖アミノ酸をエネルギー供給に回すために働いていると考えられる。

3aE07

光酸素ストレス耐性機構におけるグルタチオンレダクターゼの役割

青野光子、佐治　光、近藤矩朗、田中　浄（国立環境研究所）

光照射下で除草剤などによって植物に引き起こされる光酸素障害の原因は、活性酸素であると考えられている。我々はこれまでに、活性酸素消去系の酵素の一つであるグルタチオンレダクターゼ（GR）の活性を改変したトランスジェニックタバコを用いて、GR活性と光酸素ストレス耐性との間に正の相関があることを示してきた。GRは酸化型グルタチオン（GSSG）を還元型（GSH）にする反応を触媒する。GRがGSHの供給により光酸素ストレス耐性機構に果たしている役割として、GSH自体が障害の防御に働いている可能性と、GSHを介したアスコルビン酸の再生により活性酸素の消去能力が上昇している可能性の二つが考えられる。GR活性の異なるトランスジェニックタバコを用いて、除草剤パラコート処理中の葉に含まれるGSHとアスコルビン酸の定量を行い、これらの可能性について検討した。

3aE08

活性酸素消去酵素形質転換植物の光合成によるストレス耐性評価

青野光子、佐治　光、名取俊樹、田中国介[1]
田中　浄（国立環境研究所、[1]京都府大・農）

環境ストレスによる植物障害は可視障害で調べられることが多い。可視障害が発現する以前に植物は当然、生理レベルで何らかの影響を受けていることが予想される。我々はこれまでに活性酸素消去遺伝子に関する数種の形質転換植物を開発してきた。これらの形質転換転換植物の活性酸素生成試薬であるパラコート耐性を可視障害や葉内からのイオン漏出で評価した時にグルタチオン還元酵素（ＧＲ）とスーパーオキシドジスムターゼに関する形質転換植物が抵抗性を増し、アスコルビン酸ペルオキシダーゼに関する形質転換植物の抵抗性は変わらないことが明らかになった。また、グルタチオン還元酵素を葉緑体で発現させた形質転換体と細胞質で発現させた形質転換体でパラコート耐性に差がないことも明らかになった。今回はパラコートによる光合成影響を指標にして形質転換体の活性酸素ストレス耐性を調べた。ＧＲ活性の高い植物はパラコートによる色素破壊だけではなく、光合成阻害も起こりにくいことを確認した。

3aE09

α-トコフェロール欠乏葉における光合成の光阻害について

柴田 勝、津山 孝人、北川 恭浩、小林 善親（九大・農・林）

アルコール側鎖の還元状態が異なるクロロフィルを蓄積するイネ突然変異株のフィロキノンおよびα-トコフェロール（α-Ｔ）合成は、正常である。しかし、完全展開葉には、α-Ｔがほとんど含まれていない。これらの変異株を用いて光阻害および低温光阻害に対するα-Ｔの影響を調べた。低温２℃において野性株および変異株の葉片への光照射により、野性株の系Ｉが阻害されたが、系Ⅱは、ほとんど阻害されなかった。変異株では、系Ｉが、野性株に比べより強く阻害を受け、また、系Ⅱも阻害されていた。これらのことから、イネ野性株の低温光阻害の部位が系Ｉであり、α-Ｔは、低温光阻害から系Ⅱを保護することが示唆された。光阻害にともなうα-Ｔ、アスコルビン酸、β-カロチン量の変化をもとにα-Ｔの生理機能について考察する。

F 会 場：遺伝子構造・機能

キーワード：遺伝子構造，遺伝子発現，遺伝子操作

第一日目 午前	
開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aF01
9:45	1aF02
10:00	1aF03
10:15	1aF04
10:30	休 憩
10:45	1aF05
11:00	1aF06
11:15	1aF07
11:30	1aF08

第二日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	2aF01
8:45	2aF02
9:00	2aF03
9:15	2aF04
9:30	2aF05
9:45	2aF06
10:00	2aF07
10:15	2aF08
10:30	休 憩
10:45	2aF09
11:00	2aF10
11:15	2aF11
11:30	2aF12

第三日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	3aF01
8:45	3aF02
9:00	3aF03
9:15	3aF04
9:30	休 憩
9:45	3aF05
10:00	3aF06
10:15	3aF07
10:30	3aF08
10:45	3aF09
11:00	3aF10
11:15	3aF11

第一日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	1pF01
13:15	1pF02
13:30	1pF03
13:45	1pF04
14:00	1pF05
14:15	1pF06
14:30	1pF07
14:45	1pF08
15:00	休 憩
15:15	1pF09
15:30	1pF10
15:45	1pF11
16:00	1pF12
16:15	1pF13
16:30	1pF14
16:45	1pF15
17:00	1pF16
17:15	1pF17

第二日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	2pF01
13:15	2pF02
13:30	2pF03
13:45	2pF04
14:00	2pF05
14:15	2pF06
14:30	2pF07
14:45	2pF08
15:00	休 憩
15:15	2pF09
15:30	2pF10
15:45	2pF11
16:00	2pF12

1aF01

イネアスパラギン合成酵素の cDNA クローニングと *in situ* での組織局在性解析の試み

樋口隆司，渡辺圭一，早川俊彦，山谷知行（東北大・農・応生化）

高等植物の窒素代謝系において，アスパラギン合成酵素(AS)はストレス条件下での窒素転流などで重要な役割を果たすことが，アミノ酸代謝の面から示唆されている。イネでは，老化組織から転流される窒素の主な形態は，グルタミンとアスパラギンであることが知られており，アスパラギン合成に関わる AS の研究は重要な位置を占める。しかし，AS に関する分子生物学並びに生化学的なレベルでの情報は極めて少なく，その機能解析は他の窒素代謝系酵素に比較して非常に遅れている。我々はイネにおける本酵素の機能と役割を明らかにすることを目的として，遺伝子とタンパク質の発現する組織・時期・条件などを検討するため，cDNA の塩基配列決定と抗体の作成を試みた。

Rice Genome Research Program (RGP) により部分塩基配列の報告されているイネ AS cDNA クローンを入手しまず全塩基配列の決定を行った。次いで，グルタチオン S-トランスフェラーゼとの融合タンパク質の発現ベクターに対し，AS 部分の鎖長を変えて組み込んだプラスミドを構築し，大腸菌にて発現させた。現在，発現させた融合タンパク質よりイネ AS ポリペプチドを精製回収する系を構築中である。精製系の確立後，免疫によって抗イネ AS ポリクローナル抗体の作成を行い，この抗体を用いた免疫化学的手法により，イネ幼植物における AS タンパク質の組織局在性を検討する予定である。

1aF02

イネNADH依存性グルタミン酸合成酵素ゲノムDNAのクローニングと構造解析

後藤　聡、赤川　巧、石井有理、早川俊彦、山谷知行（東北大・農・応用生物化学）

イネNADH依存性グルタミン酸合成酵素（NADH-GOGAT）は主に生長中の葉や穂の維管束組織に存在する[1]。また、幼植物の根においては窒素環境の変化に応じてタンパク質及びmRNAレベルの発現が鋭敏に増加する[2]。これら組織特異的発現、ならびに窒素に対する応答の発現制御機構を解明する第一歩として、本酵素のプロモーター領域を含むゲノムDNAのクローニングを試みた。

ササニシキのゲノミックライブラリーから当研究室で単離したイネNADH-GOGAT cDNA 部分断片（pRGOGAT0.8、タンパク質C末端）とアルファルファ根粒NADH-GOGAT cDNA 断片（Dr. Vance より供与、pGOGAT1.0、タンパク質N 末端）をプローブとしてスクリーニングを行ったところ、pRGOGAT0.8に対してのみポジティブなクローンを７つ、両プローブに対してポジティブなクローンを4つ得た。これらのλファージクローンの制限酵素地図を作成し、上記の2つのプローブに対応する領域を調べたところ、λOS42はプロモーター領域ならびに遺伝子の全領域を含むと考えられた。現在このクローンの塩基配列の決定を行っている。

またこれと並行してササニシキの形質転換系の確立も行ったのであわせて報告する。

1) Hayakawa *et al.* (1994) Planta 193: 455
2) Yamaya *et al.* (1995) Plant Cell Physiol. 36:1197

1aF03

レンゲソウ根粒菌の７鉄型フェレドキシン遺伝子（*fdxA*）のクローニングと塩基配列決定

辻口佳子、佐伯和彦　（阪大・理・生物）

種々の代謝系において電子伝達体として機能するフェレドキシンは、その保持する鉄硫黄クラスターの性質と数によって分類できる。[4Fe-4S]クラスターに加え、[4Fe-4S]クラスターから鉄が１原子抜けた[3Fe-4S]クラスターを併せ持つ７鉄型フェレドキシンは、この異常クラスターゆえに物理化学的解析が蓄積し、複数の細菌で生育に必須な蛋白質であることが示されている。にもかかわらずその生理機能については未知な点が多い。今回、７鉄型フェレドキシンをコードする遺伝子が根粒菌中にも存在することを初めて確認したので報告する。

まず、既知の７鉄フェレドキシンで保存度の高いアミノ酸配列に基づきPCRプライマー１セットを作製した。これを用いて、４種の*Rhizobium* すなわち *R. huakuii*（レンゲソウ菌）、*R. meliloti*（アルファルファ菌）、*R. loti*（ミヤコグサ菌）と *R. fredii*（ダイズ菌）のゲノムDNAをテンプレートとしてPCRを行ったところ、４種いずれについても期待される大きさの断片が増幅された。そこで、*R. huakuii* DNA からの増幅産物をプローブに用いてゲノムDNAライブラリーをスクリーニングし、クローニングを行った。得られたクローンの塩基配列を決定した結果、既知の７鉄フェレドキシンと高い相同性を示す112残基の蛋白質をコードするORFを確認することができたので、これを*R. huakuii* の*fdxA* と名付けた。さらに、この*fdxA* のコーディング領域をプローブに用いて、上述の４種の根粒菌のゲノムDNAのSouthern解析を行った結果は、７鉄型フェレドキシンが rhizobia に普く共通して存在することを示唆した。

1aF04

レグヘモグロビン遺伝子のクローニングと植物染色体上での検出

内海俊樹，宮本旬子，阿部美紀子，東　四郎（鹿児島大・理・生物）

根粒特異的タンパク質（ノディユリン）は、その発現時期によりグルーピングされているが、それぞれの遺伝子の植物染色体上での位置関係及び遺伝子数については未検討である。本研究では、インゲン、ソラマメを材料に、代表的なノディユリンであるレグヘモグロビン(Lb)の遺伝子をfluorescent *in situ* hybridization (FISH) により染色体上に検出することを試みた。

Lb遺伝子は、インゲンの全ゲノムDNAよりPCRにてクローニングした。717bpの塩基配列を既知のインゲンLb遺伝子の配列と比較したところ、６ケ所の塩基置換が存在した。ビオチンにて標識したLb遺伝子をプローブとしてインゲンおよびソラマメの核・染色体試料に対してFISH法を行った。その結果、インゲンでは２個、ソラマメでは４個の蛍光シグナルを検出することができた。

1aF05

ホウレンソウ根のＦＮＲのｃＤＮＡクローニング

津村淳，和田敬四郎（金沢大・理・生物）

ホウレンソウ根に特異的に発現するＦＮＲのｃＤＮＡを３'－ＲＡＣＥ－ＰＣＲ法を用いクローニングした。このｃＤＮＡクローンは１０５５ｂｐで、以前、森ヶ崎によって決定されたＮ末端の塩基配列と合わせることでタンパク質をコードしている領域は計１０３６ｂｐであり、３'端の非翻訳領域は１７９ｂｐであった。予想されるＦＮＲタンパク質は、計３１２アミノ酸残基からなり、その分子量は３５，００４．５でＳＤＳ－ＰＡＧＥの結果とよく一致した。既に報告されているイネ、トウモロコシの根のＦＮＲやホウレンソウの葉のＦＮＲとのホモロジーを検索したところ、イネ根とは８４．０％、トウモロコシ根とは８２．７％、ホウレンソウ葉とは４６．５％であった。これらのことからＦＮＲ遺伝子の構造には、器官特異的な部分が大きい事が予想される。また、同じ単子葉植物間のイネとトウモロコシのホモロジーは９３．７％と非常に高かったので、単子葉植物と双子葉植物の間で若干の違いが見られる。

現在、器官特異的な発現を起こす原因を探るために必要なエレメントや、その他ゲノムの情報を得ている段階である。

1aF06

シロイヌナズナプロリルイソメラーゼ遺伝子のクローニング

斉藤　武、多田隈圭、芦田裕之、川向　誠[1]、松田英幸[1]、中川　強（島根大・遺伝子、[1]島根大・生物資源）

プロリルイソメラーゼはポリペプチド中のペプチジルプロリル結合のシス型とトランス型間の異性化を触媒する酵素である。細胞内のある種の蛋白質では、この異性化がフォールディングの律速段階であることから本酵素はこの過程に作用して蛋白質のフォールディングや、あるいは標的蛋白質の構造変換を介した活性調節を行っていることが示唆されている。

プロリルイソメラーゼには互いに相同性を持たない２つのファミリーが存在し、我々はこれまでにそのうちの１つであるサイクロフィリンファミリーに属するプロリルイソメラーゼの遺伝子を３種単離している。これら遺伝子は刺激やストレスに対して異なる発現制御を受けている。今回さらに新たなプロリルイソメラーゼ遺伝子を単離したのでその構造的特徴や発現パターンについて報告する。

1aF07

ニンジンにおける transposable element *Tdc1* に存在する ORF の構造とその発現

小関良宏，Eric Davies[1]，竹田淳子[2]（東大・教養・生命，[1]NCSU，[2]京大・農・農化）

ニンジン培養細胞において，希釈効果および紫外線照射により誘導される PAL 遺伝子の中の１つに約 5.3 kb の *En/Spm* 様の transposable element *Tdc1* が挿入されていた。*Tdc1* の中には 1.56 kb の ORF が存在しており，この領域をプローブとして 4 種類の培養細胞および 4 種類の植物個体について Northern 解析を行ったところ，約 2.5 kb から約 5.5 kb の長さの異なる転写産物が少なくとも 5 種類見い出された。*Tdc1*-ORF の直前には CAAT-box および TATA-box が存在しているが，transient assay により調べたところでは，この部分のプロモーターとしての活性は著しく低いことがわかった。さらにこの ORF を含む cDNA について検討した結果などから，この *Tdc1* は transposable element として完全ではなく，ニンジン核内にある他の *Tdc* 関連遺伝子からその転移に必要な transcripts が供給されて転移していること，すなわち *Tdc1* は non-autonomous であることが考えられた。

1aF08

ニンジン細胞核マトリックス構成タンパク質 cDNA の単離と同定

徐 正君，増田 清[1]，高橋清子，伊藤明子，上田健治，小野道之，井上正保（秋田県農短大・生工研，[1]北大・農）

核マトリックスは単離核を界面活性剤、ヌクレアーゼ及び高濃度塩溶液で処理し、得られた残留物である。動物では、核マトリックスは周縁マトリックス、内部マトリックス及び核小体残存物からなる。我々はニンジン（*Daucus carota* L.）培養細胞の核マトリックスに対するモノクローン抗体を作成し、その中で核マトリックスの表層に特異的反応を示した CML-1 を用いてニンジン培養細胞 cDNA ライブラリーをスクリーニングした。得られたクローンは 3716 bp を有し、1119 アミノ酸残基からなる 128 kDa のタンパク質をコードすることが推測された。推定されたアミノ酸配列に核移行シグナル及び CaaX のモチーフが含まれていた。核マトリックスから精製した CML-1と反応する抗原タンパク質から得た部分アミノ酸配列の結果が推定されたアミノ酸配列の相応する部分と完全に一致したことから、単離されたcDNAがニンジン細胞核マトリックスの表層を構成するタンパク質をコードするものであると結論した。データバンクを検索した結果、動物細胞核マトリックスのラミン等とも殆ど相同性を示さず、この遺伝子は高等植物から最初に単離されたものと考えられ、核マトリクス構成タンパク質（NMCP1: Nuclear Matrix Constituent Protein 1)と命名した。一方、ニンジン以外の植物を用いてウェスタンブロッティングを行なった結果、このタンパク質が高等植物界に普遍的に存在することが推測された。

1pF01

イネ培養細胞液胞膜H^+-PPaseのリポゾーム中への再構成

中村善行、榊原祥清、小林秀行、笠毛邦弘*
(農水省食総研、*農水省生物資源研)

植物細胞の液胞膜には、H^+-ATPase, H^+-PPaseという二種類のH^+ポンプが存在し、物質輸送やエネルギー変換などの重要な役割を果たしている。これらのH^+ポンプは、細胞の恒常性維持機能にも関与していることが明らかになりつつある。とりわけ、H^+-PPaseは、低温ストレスや塩ストレスに対する感受性が高く、植物細胞のストレス耐性機構を解明する上で興味深い対象である。我々は、イネ培養細胞を用いて、液胞膜H^+-PPaseのH^+輸送機能に及ぼす塩ストレスや低温ストレスの影響について解析を進めている。この種の膜タンパク質の輸送機能を調べるためには、再構成系を用いて解析することが必要であるが、H^+-PPaseに関しては、効率的な再構成の報告例が少ない。そこで今回、我々は、これまでH^+-ATPaseの再構成に用いてきた方法を基に、新しい迅速なH^+-PPaseの再構成系の構築を試みた。

Dextran密度勾配遠心法や浮遊遠心法によって単離した液胞膜小胞からDOCとCHAPSの二段階処理によってH^+-PPaseを可溶化した。この画分をアゾレクチンのリポゾームとDOC存在下で混合し、ゲルろ過により界面活性剤を除くことによって機能性を保持したプロテオリポゾームを構築した。プロテオリポゾームは、Triton X-100とAmpure-DTを用いた系でも構築された。H^+輸送に対する各種阻害剤の影響や、ヤエナリH^+-PPase抗体に対する反応性からこのプロテオリポゾーム中にH^+-PPaseが再構成されていることを確認した。

1pF02

イネ液胞膜H^+-ピロホスファターゼの遺伝子単離と機能の解析

榊原祥清、小林秀行、笠毛邦弘*（農水省・食総研、*農水省・生物資源研）

植物細胞の液胞膜にはH^+-ATPaseとH^+-ピロホスファターゼ（PPase）の2種類のプロトンポンプが存在することが知られている。このうちH^+-PPaseは植物や光合成細菌でしか同定されておらず、その構造と機能の相関について明らかにされていない。

イネ（*Oyza sativa* L. cv. Nipponbare）より液胞膜H^+-PPaseのcDNAを4種類単離し、そのうちの2つ（*OVP1*、*OVP2*）について全塩基配列を解析したところ、*OVP1*は771、*OVP2*は767個のアミノ酸をコードし、お互いに対して87.8%の相同性を有していた。イネ植物体における両者の発現には差異がみられなかったが、カルスにおいては*OVP2*の発現が顕著であった。また、*OVP1*、*OVP2*ともジャポニカ、インディカ両型のイネにおいて発現していた。RFLP法を用いて、染色体上の座位を調べたところ、*OVP1*、*OVP2*は第6染色体上に約90cM離れて存在していた。さらに、酵母（*Pichia pastoris*）の系を用いて*OVP1*、*OVP2*がコードする蛋白質を発現させたところ、ヤエナリ液胞膜PPaseに対する抗体と反応したことから、得られたクローンは液胞膜H^+-PPaseであることが確かめられた。現在、部位特異的変異を用いて本酵素の構造と機能の相関について解析中である。

1pF03

ヤエナリ液胞膜H^+-ピロホスファターゼの機能部位の解析

高須綾子、中西洋一、前島正義（名古屋大・農・生化）

植物液胞膜のH^+-pyrophosphatase (H^+-PPase)はH^+-ATPaseとともに液胞を酸性化し、液胞膜物質輸送系に駆動力を与える役割を果たしている。複雑な構造をもつH^+-ATPaseに対し、H^+-PPaseは単一タンパク質分子で構成されており、プロトンポンプの構造と機能の関係を解明する上でモデル分子としての特性を備えている。

ヤエナリ（*Vigna radiata*）のH^+-PPaseについては、cDNA解析から、1種類の分子種のみが発現していること、766個のアミノ酸で構成され(80kDa)、13の膜貫通領域をもつこと、さらにH^+輸送の阻害剤であるDCCDの結合領域、基質PPiの結合領域などを推定している。そこで、個別の領域の機能、膜上での位置を検討する目的で、PPi結合領域、DCCD結合領域、C末端領域について、それぞれ12アミノ酸残基のペプチドを合成し、これをウサギに注射してペプチド抗体を作成した。PPi結合領域およびC末端領域に対する抗体はH^+-PPaseを認識し、かつ各ペプチドは拮抗的に免疫反応を抑制した。すなわち得られた抗体はペプチドに特異的であった。免疫ブロットにおいてC末端の抗体は界面活性剤存在下でのみ反応し、C末端が膜貫通領域の1つであるという推定を支持した。さらにPPiとDCCD結合領域の抗体の、酵素機能（基質加水分解とH^+輸送)への影響を検討したので その結果を報告する。

1pF04

液胞におけるプロトンポンプの発現調節

福田篤徳、小池説夫、前島正義[1]、田中喜之（生物研、[1]名大・農・生化）

オオムギなど耐塩性の高い作物では、塩ストレスの回避に液胞が大きな役割をはたすと考えられている。液胞膜上に存在するNa^+/H^+アンチポーターがNa^+イオンの局在化に働き、そのほか有機酸、アミノ酸など種々の物質を集積するなど細胞機能の恒常性の維持に働いている。H^+-ATPaseおよびH^+-ピロフォスファターゼ(PPase)が物質輸送の原動力の一つを担っている。オオムギ根ではそれぞれのプロトンポンプは塩ストレスに対し異なった挙動を示す。PPaseはストレスにより直ちに誘導され短時間で減少するのに対し、ATPaseはより長いlagの後誘導され緩慢に減少する。私たちは、PPaseに対し2種ATPaseに対し1種のcDNAクローンを得ているが、mRNAレベルの変動も同様であった。塩ストレス下におけるホルモンの影響も異なり、PPaseでは2種の間で反応に違いが見られ、ATPaseではホルモンの影響が少なかった。

1pF05

樹木のフェニルプロパノイド生合成系の
桂皮酸4-水酸化酵素遺伝子の解析

盛　有子[1]、川合伸也[2]、Zhan Xiang Can[2]、塩川貴広[2]、片山義博[1]、諸星紀幸[1]
（[1]農工大大学院生物システム、[2]農工大応生科）

樹木のフェニルプロパノイド生合成においてL-フェニルアラニンはPALにより芳香族二次代謝系に導入されて桂皮酸を生じる。桂皮酸4-水酸化酵素(CA4H)は桂皮酸の4位の炭素に一酸素原子添加反応を触媒する酵素であり、チトクロムP-450スーパーファミリーの一種であることが知られている。既に単離の報告のされているマングビーンCA4HのcDNAの塩基配列をプローブとして相同性を利用して交雑ヤマナラシ・キタカミハクヨウのゲノムライブラリーより独立した4種類のクローンを単離し、そのうちの3つのクローン*cyp73a, cyp73b, cyp73c*の塩基配列の決定を行った。これらの推定コード領域は、他の植物CA4H遺伝子とアミノ酸レベルで80%以上の高い相同性を示した。このゲノム断片の一部をプローブとしてハクヨウの茎より調製したcDNAライブラリーよりcDNAを単離した結果、*cyp73a*のコード領域と一致した。また、*cyp73a*cDNAの真核生物である酵母での発現を試みた。更に、プロモーター領域に存在する制御因子配列の検索を行った。*cyp73a*と*cyp73b*のプロモーター領域には、PAL遺伝子で見つかったリグニン生合成に関与していると考えられる配列が多数存在しており、CA4H遺伝子の複数の環境ストレスや、細胞の木化段階によるシグナルへの応答が予想される。

1pF06

***Botryococcus braunii*のスクアレン合成酵素のクローニング**

矢野伸一、廣瀬美佐江、河田悦和、小嶋洋之
（工技院･大阪工技研）

【目的】　コロニー性緑藻 *Botryococcus braunii* は多量の炭化水素を合成・蓄積することが知られている。炭化水素はraceにより、脂肪酸由来のものとテルペノイド由来のものがある。後者の生合成系はまだ明らかにされていないが、その構造よりスクアレンの合成系と関連がある可能性が示唆される。そこでこの藻のスクアレン合成酵素のクローニングを試みた。

【方法及び結果】　スクアレン合成酵素の塩基配列は、シロイヌナズナ、酵母、ヒト等で決定されており、アミノ酸レベルで高度に保存されている領域が存在することが明らかになっている。そこでこの保存領域から設計したプライマーを用いて、この藻のｃＤＮＡライブラリーを鋳型にしてＰＣＲを行ったところ、予想される約 400bpのＤＮＡ断片が得られた。この断片は塩基配列より保存領域を保持していることがわかり、スクアレン合成酵素遺伝子の一部と推定される。現在全長のクローニングを行っている。

1pF07

リンドウ花弁からのフィトエン合成酵素遺伝子のクローニング

小岩弘之、小林仁、山村三郎（岩手生物工学研究センター）

高等植物において、カロチノイド生合成遺伝子の一つであるphytoene synthase遺伝子(*psy*)はトマト(fruit)、トウガラシ(fruit)、アラビドプシス(seedling)でクローニングされている。我々はカロチノイド系色素生合成の遺伝子工学的な制御によるリンドウ花色改変を目的として研究を行っている。

黄花リンドウ*Gentiana lutea*花弁（国立衛生試験所 北海道薬用植物栽培試験場）の*psy*のcDNAクローニングを行った。トマト、トウガラシ、アラビドプシスのアミノ酸配列を基に設計したデジェネレートプライマーを用いて、花弁から作製したcDNAライブラリーを鋳型にしPCRを行った。その結果、期待される750bp前後のPCR産物が得られ、DNAシーケンスの分析から、*psy*の一部であることが確認された。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た。その結果、4クローンが得られDNAシーケンスの分析から、リンドウ*psy*がクローニングされたことが明らかとなったので報告する。

1pF08

垂直分布する*Solidago*属植物における細胞質型Cu/Zn-SOD cDNAのクローニングと発現解析

村井耕二、村井里佳、山岸真澄、宅見薫雄（石川農短大・農業資源研）

スーパーオキサイド・ディスムターゼ（SOD)は活性酸素消去系の初発反応を触媒する酵素であり、植物の種々の環境ストレス耐性に極めて重要な役割を担っていると考えられる。セイタカアワダチソウ（*Solidago altissima*)は低地に、アキノキリンソウ（*S. virgaurea*)は低山帯から高山帯に分布するキク科の多年草である。これら垂直分布する*Solidago*属植物における、SOD遺伝子の構造および発現変異を解析するため、まず、セイタカアワダチソウから細胞質型Cu/Zn-SODに対応するcDNA(SAcSODcy)をクローニングし、塩基配列を決定した。塩基配列から推定されるアミノ酸配列はイネ、トマト、ホウレンソウなど他の植物の細胞質型Cu/Zn-SODと80%以上の高い相同性を示した。SAcSODcyをプローブに用いたノーザンブロット分析の結果、光とパラコートによるストレス条件下で、低山帯のアキノキリンソウに比べ、高山帯のアキノキリンソウでは遺伝子発現量が多いことが示唆された。

1pF09

イネ-メタロチオネイン遺伝子の組織特異的発現

神崎洋之、亀谷七七子、乗田英子、中村郁郎（岩手生工研）

我々はイネの3種のメタロチオネイン遺伝子（ssk 35、ssk 171、ssk 211）をクローニングして全長配列を決めている。今回はこの3種のメタロチオネイン遺伝子の組織特異的発現を調べたので報告する。Northern blot 解析をおこなったところ、ssk 35は、葉、および受精後7日の未熟胚で特異的な発現がみられ、ssk 171、及びssk 211は、根で顕著に発現することが認められた。3種のメタロチオネイン遺伝子（ssk 35、ssk 171、ssk 211）のコード領域の塩基配列をもとにプライマーを合成し、イネのジェノミック DNA を鋳型にしてinverse PCR 法によりプロモーターの単離を試みた。得られた断片をシークエンスした結果、すべてのプロモーターで TATA box が認められ、またssk35及びssk211には重金属応答配列（MRE）が、第1と第2エクソンの間にはそれぞれイントロン（117および1046bp）が確認された。また、ssk35プロモーターにはABA応答配列（ABRE）が含まれていた。

1pF10

イネグルタチオン還元酵素のcDNAクローニングとストレスに対する発現応答

上中弘典、森田重人[1]、亀岡豊史、横井秀行、増村威宏、田中國介（京府大・農・農化、[1]京大・理・植物）

グルタチオン還元酵素(GR)は、酸化型グルタチオン(GSSG)を還元型グルタチオン(GSH)に還元する働きを触媒し、細胞内のGSH/GSSGの比率を高く維持する働きを担っている。一方、活性酸素消去系の一酵素としても働いており、酸素ストレスに対して応答することが知られている。我々は、イネにおける活性酸素消去系酵素のストレス応答を系全体で調べる事を目的として、イネGRのcDNAクローニングと、発現応答を調べた。

イネ緑葉cDNAライブラリーから非常に相同性の高い二種類のcDNA(RGRC1,RGRC2)を単離し、RGRC1については全塩基配列を決定した。RGRC1は、全長1690bpで496アミノ酸、分子量53.6kDのタンパク質をコードするクローンであった。アミノ酸配列の解析により、既に知られているFAD、GSSG、NADPHの結合部位、及び活性部位が完全に保存されているが、シグナル配列に相当する部分は存在しない事が明らかとなった。またRGRC1およびRGRC2は、根、茎で顕著な発現が見られたが、黄化葉、緑葉ではほとんど発現が見られなかった。これらの結果から、今回単離した二種類のイネGRcDNAは、細胞質に局在するアイソザイムをコードしていると考えられる。現在、GRがどのようなストレスに対して応答するか検討中である。

1pF11

アカパンカビ *Neurospora crassa* の *acr-2* 及び *trx* 遺伝子の機能の解析

秋山正志、中島秀明 （岡山大・理・生物）

我々は前回、アカパンカビのアクリフラビン耐性 (*acr-2*) 及び チオレドキシン(*trx*) 遺伝子をクローニングし両遺伝子が 5.8 kbp の *Kpn*I DNA 断片内に互いに逆向きに存在することを報告した。

今回我々は、*acr-2* 遺伝子の推定されるアミノ酸配列がZn(II)Cys6 型の菌類の転写調節ドメインを含むこと、*acr-2* 遺伝子の RIP (Repeat Induced Point mutation) による破壊がアクリフラビンに対する hypersensitivity をもたらすことを報告する。また、*acr-2* 遺伝子の発現はアクリフラビンによって誘導されない一方で、*acr-2* 変異株では非常に強く発現していることが分かった。これらの結果から、*acr-2* 遺伝子の機能としては、酵母における *MDR* (Multi Drug Resistance) 遺伝子同様、薬剤排出に関与する遺伝子の転写調節への関与が示唆される。

また、現在 *trx* 遺伝子の機能解析も行っており同時に報告したい。

1pF12

細菌の不飽和脂肪酸シス-トランス異性化酵素の性質

江成大輔、草野輝男、奥山英登志（北海道大大学院・地球環境科学）

ある種の細菌はリン脂質成分としてトランス型不飽和脂肪酸を持つ。演者らは*Pseudomonas* E-3株においてトランス型不飽和脂肪酸（16:1(9t)）がシス型脂肪酸（16:1(9c)）からの異性化により合成されることを明らかにし、最近この反応を触媒する酵素を精製した。今回はこの精製酵素の性質について報告する。

本酵素はSDS-PAGEとゲルろ過法で共に約80kDaの分子量を示すことから、単量体酵素であることがわかった。アミノ酸組成分析の結果約75%(mol)が極性アミノ酸であり、特にG,Sなどの非電荷性のアミノ酸に富んでいた。N-末のアミノ酸シーケンスはQAPLVSPAISYTRDであった。精製酵素は遊離脂肪酸を基質とし、最も有効な基質は16:1(9c)であった。さらに炭素数14から17でΔ9, Δ10, Δ11に二重結合を持つモノ不飽和脂肪酸を異性化した。本酵素はNordihydroguaiareic酸, α-トコフェロールにより強く阻害されるが、EDTA, 1,10-phenanthrolineによる阻害は認められなかった。また、反応液をアルゴンガスにより嫌気的にすることにより本酵素活性は強く阻害されたことから、反応に分子状酸素の関与が示唆された。

1pF13

コムギ葉および根細胞の加齢に伴うα-リノレン酸含量の変化と小胞体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の発現様式

堀口吾朗、児玉浩明、川上直人[1]、西村光雄、射場厚
(九州大・理・生物、[1]横浜市立大・木原生研)

高等植物では細胞の加齢に伴い生体膜脂質の脂肪酸組成、特にα-リノレン酸(18:3)の割合が変動する。18:3は葉緑体および小胞体に局在するω-3脂肪酸不飽和化酵素によって生成される。生体膜の18:3含量の調節に小胞体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素が果たす役割を調べるため、コムギより同酵素の遺伝子 (*TaFAD3*) を単離した。*TaFAD3* mRNAは、葉および根の分裂組織を含む領域でそれぞれ著しく蓄積し、その後細胞の加齢に伴い減少した。葉緑体膜系以外の生体膜に多く含まれるリン脂質分子種の18:3の割合は、根組織では細胞の加齢に伴い低下し、*TaFAD3*遺伝子の発現量と相関が認められた。一方、葉組織では*TaFAD3*遺伝子の発現量が低下しても、逆にリン脂質分子種の18:3の割合は細胞の加齢に伴い増加した。シロイヌナズナのω-3脂肪酸不飽和化酵素の活性を欠く突然変異体の解析から、葉細胞の加齢に伴うリン脂質分子種の18:3の増加は葉緑体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の発現に依存することが示された。コムギ葉での*TaFAD3*遺伝子の発現量とリン脂質の18:3含量とが相関しないのは、シロイヌナズナと同様、葉緑体から他の生体膜への18:3の輸送が起こるためと考えられた。以上の結果は細胞の加齢に伴う葉緑体以外の生体膜の18:3の割合の調節には、葉組織では葉緑体局在型、根組織では小胞体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の発現が主要な役割を果たしていることを示している。

1pF14

イネ小胞体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の単離と発現解析

児玉浩明、赤木宏守[1]、楠見健介、藤村達人[1]、射場厚(九州大・理・生物、[1]三井東圧化学ライフサイエンス研究所)

高等植物のα-リノレン酸はω-3脂肪酸不飽和化酵素によって生成される。この酵素は小胞体膜と葉緑体包膜に2種類のアイソザイムとして局在し、植物の低温耐性に重要な役割を果たしていると考えられている。我々はイネより小胞体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*OsFAD3*)のcDNA、および対応するゲノムDNAの各クローンを単離した。*OsFAD3*遺伝子は8エキソンと7イントロンから構成され、イネ11番染色体上にマッピングされた。シロイヌナズナから単離されている葉緑体および小胞体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子のゲノム構造と比較すると、エキソン/イントロンの数およびイントロンの挿入部位が同じであり、葉緑体および小胞体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子が同じ遺伝子から派生したものであること、さらに単子葉、双子葉植物間でその構造がよく保存されていることを示している。*OsFAD3* cDNAをタバコ毛状根に導入し過剰発現させると根のリノレン酸含量が大幅に上昇した。イネにおいては*OsFAD3*は根において15°Cから20°Cの温度域で最も強く発現し、10°C以下ではその発現はかなり減少した。葉では正常な生育温度域および低温下でもほとんど発現していなかった。耐冷性が比較的強いジャポニカ種(Nipponbare)、および耐冷性が弱いとされているインディカ種(Chinsura Boro II)ともに、根での*OsFAD3*の発現量は低温下で減少することが明らかとなった。

1pF15

葉緑体ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子の導入によりジーンサイレンシングが生じた形質転換タバコにおけるノーザン解析

前田静思、濱田達朗、児玉浩明、西村光雄、射場　厚(九州大・理・生物)

トリエン脂肪酸の生成を触媒するシロイヌナズナ葉緑体局在型ω-3脂肪酸不飽和化酵素遺伝子(*FAD7*)をセンスの方向に導入した形質転換タバコを作製したところ、トリエン脂肪酸含量が野生型よりも多い系統に加えて少ない系統(T15系統)を得た。T15系統で見られるジーンサイレンシングは、導入したシロイヌナズナ*FAD7*遺伝子、それに核酸配列で70%程度の相同性を持つ内生のタバコ*FAD7*遺伝子双方の発現が抑制されていると考えられる。次世代の植物体の解析からT15系統でのジーンサイレンシングには、T-DNAの遺伝子量効果が認められた。導入した遺伝子と内在性遺伝子の発現をノーザン解析により調べたところ、導入遺伝子、内在性遺伝子両方の転写産物が検出された。ジーンサイレンシングの原因の一つとしてアンチセンスRNAによる発現抑制が考えられているが、T15系統では導入遺伝子に由来するアンチセンスRNAは検出されなかった。以上のことからT15系統におけるジーンサイレンシングには、転写後の調節機構が、大きく関与していることが示唆された。

1pF16

シロイヌナズナ*FAD7*遺伝子に生じたナンセンス変異はmRNAの蓄積を阻害する

太田淳子、射場厚(九大・理・生物)

シロイヌナズナ*fad7*はＥＭＳ変異原処理によって作られた葉緑体局在ω-3脂肪酸不飽和化酵素欠損変異株である。*fad7*変異を持つJB101系統にノーザン解析を行ったところ、同酵素遺伝子(*FAD7*)のmRNAの蓄積が阻害されていることが分かった。*FAD7*遺伝子の構造を解析した結果、そのopen reading frameのＮ末端から数えて148番目に1bpの塩基置換による終止コドンが生じていた。一般に、真核生物では、ナンセンス変異の生じた遺伝子のmRNAを速やかに分解する機構が存在することが知られており、*fad7*変異株においても同様のメカニズムによってmRNAの分解が促進されていると推察された。また、ルシフェラーゼ遺伝子を*FAD7*のプロモーターに結合し、導入した野生株とJB101株の形質転換植物を作製した。*FAD7*遺伝子のプロモーター活性の組織特異性や光誘導性について、これらの形質転換植物において植物体からの発光を指標に比較したが、有意差は見い出されなかった。よって、*fad7*変異株においても*FAD7*遺伝子の正常な転写調節が行われることが推察された。

1pF17

樹木のフェニルアラニンアンモニアリアーゼの発現様式とその調節機構

刑部祐里子、川合伸也、片山義博[1]、諸星紀幸[1]
（農工大応生科、[1]農工大大学院生物システム）

樹木のリグニン生合成の分子機構の解明を目的とし、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ（PAL）について解析を行った。これまで交雑ヤマナラシ•キタカミハクヨウからPAL遺伝子群を単離しmRNA量の解析を行った結果、*pal g2*遺伝子群がキタカミハクヨウの茎で主要に発現することが示された[1) 2)]。GUSレポーター遺伝子を用いた解析から、タバコにおいて*pal g2a*と*pal g2b*は師部及び木部で強く発現し、*pal g2a*と*pal g2b*がリグニン生合成に関与することが示された。しかし、それらの発現特異性は師部・木部細胞で異なっていた。さらに*pal g2b*はタバコ花弁で発現した。*pal g1*は茎上部の表皮と幼葉の表皮で強い発現を示し、茎が成長すると発現しなくなった。木部細胞において特徴的に発現する*pal g2b*についてシス因子の解析を行ったところ、フェニルプロパノイド生合成系遺伝子群の発現を調節するとされるbox1とbox2を含む領域が、*pal g2b*の組織特異的な発現制御を行うことが示された。さらにリグニン生合成の盛んな細胞で機能するPALタンパク質の局在性について解析した結果、PALは細胞質とプラスチド両方に存在しており、ケイヒ酸合成は細胞内の２つの箇所で行われることが考えられる。

1)Y. Osakabe, *et al.* (1995) Plant Science, **105**, 217-226.
2)Y. Osakabe, *et al.* (1995) Plant Mol Biol, **28**, 1133-1142.

2aF01

ハツカダイコン グルタミン合成酵素遺伝子 *Gln1;1* のプロモーターの形質転換シロイヌナズナでの挙動

野澤彰、伊藤正樹、渡邊昭（東京大・院・理系・生物科学）

ハツカダイコンのグルタミン合成酵素遺伝子の一つである*Gln1;1*は、子葉が老化する時に発現が増加することが示されており、グルタミン合成酵素が転流形態であるグルタミンを合成することにより、老化子葉からの窒素転流に関与していることが示唆されてきた。しかし、葉が老化するときの遺伝子発現誘導のメカニズムは、ほとんど明らかにされていない。そこで、演者らは、*Gln1;1*のプロモーターの働きを解析するために、このプロモーターとレポーター遺伝子GUSを融合させ、得られたキメラ遺伝子をシロイヌナズナに導入した。GUS遺伝子の発現量をノーザン解析により定量した結果、緑葉を暗処理することにより老化を誘導すると、GUSmRNAの蓄積量が２倍に増加することが確認された。また、組織化学的染色を行うことによりGUS遺伝子の発現部位、時期を解析した。その結果、発芽時の子葉、茎頂、若い本葉など、これまでに予想されていなかった様々な部位においてGUS遺伝子の発現が観察された。また、ハツカダイコンにおいてノーザン解析を行ったところ*Gln1;1*のmRNAの蓄積が、形質転換シロイヌナズナでのGUS遺伝子の発現様式と類似していることが確認された。

これらの結果より、葉が老化する過程での遺伝子発現制御のメカニズムが、ハツカダイコンとシロイヌナズナの間で部分的に保存されていることが示唆された。また、今回明らかにしたグルタミン合成酵素遺伝子の発現様式から、この酵素が窒素転流以外にも様々な窒素代謝に関わっている可能性が示唆された。

2aF02

OVERPRODUCTION OF THE Δ12 ACYL-LIPID DESATURASE IN *Escherichia coli* AND TEMPERATURE DEPENDENCE OF ITS ACTIVITY *in vitro*.

Sayamrat PANPOOM, Dmitry A. LOS, Norio MURATA;
Dept. Regulation Biology, Natl. Inst. Basic Biology, Okazaki 444 ; Dept. Mol. Biomechanics, Graduate Univ. Advanced Studies, Okazaki 444

We transformed *Escherichia coli* with the *desA* gene for the Δ12 acyl-lipid desaturase of *Synechocystis* sp. PCC 6803 and overexpressed it. When the transformed cells were grown at 15°C in the presence of 1 M sorbitol and 2.5 mM betaine, the yield of active enzyme was 108-fold as high as that obtained under standard growth conditions (37°C, no sorbitol nor betaine). We then investigated conditions for stability of the enzyme *in vitro*. The temperature dependence of the enzyme activity was normal so that the lower the temperature, the lower the activity. This observation provides a further evidence in support of our previous proposal that the increase in fatty-acid desaturation at low temperature is caused by *de novo* synthesis of desaturases but not by low-temperature-induced activation of the existing enzymes.

2aF03

ワラビ葉緑体遺伝子*accD*では、開始コドンも終止コドンもともにRNAエディティングによってつくられる。

西川暁、若杉達也、島田浩章[1]、山田恭司（富山大・理・生物、[1]三井東圧化学ライフサイエンス研）

葉緑体遺伝子*accD*は、脂肪酸合成に関与するアセチルCoAカルボキシラーゼのサブユニットをコードすると考えられている。我々は、ワラビの葉緑体ゲノム上にも*accD*相同配列が存在することを見いだし、その転写産物でRNAエディティングが起こっている可能性が高いことを示唆した（国際植物分子生物学会、1994年）。本研究では、ワラビ*accD*におけるRNAエディティングの可能性を検証するために、RT-PCR法によりcDNAを増幅し、その塩基配列を決定した。その結果、ワラビ*accD*転写産物は計14にもおよぶ部位でRNAエディティングを受けていることが明らかになった。とくに、開始コドンAUGはC→U変換によってできること、また、ゲノム配列上の終止コドンUAAは、U→Cの逆変換によって消失し、その150塩基下流に新たな終止コドンUGAがC→U変換によってできることが確認された。

葉緑体でのRNAエディティングはこれまで被子植物でしか報告されていなかったが、本研究の結果、下等な維管束植物であるシダ植物でも高頻度に起こっていることがはじめて証明された。さらに、今回見いだされたU→Cの逆変換型のRNAエディティングは、葉緑体では初めての発見である。我々は、このようなシダ植物についての解析をすすめることによって、葉緑体RNAエディティングの起源や進化について重要な知見を得ることができると考えている。

2aF04

Alternative splicingにより調節を受ける２種類のカボチャ・ヒドロキシピルビン酸レダクターゼ

真野昌二[1, 2]，林　誠[1, 2]，西村幹夫[1, 2]([1]基生研・細胞生物，[2]総合研究大学院大・生命科学)

[目的]ヒドロキシピルビン酸レダクターゼ(HPR)は，光呼吸グリコール酸経路の主要酵素で緑葉ペルオキシソームに局在する．演者らはこれまでにカボチャ緑化子葉のcDNAライブラリーから相同性の高い２種類のHPR cDNAを単離し，一方のHPR (HPR1)にはそのC末端にマイクロボディ輸送シグナルが存在するが，もう一方のHPR (HPR2)には存在しないことを明らかにした[1]．これら二つのアイソザイムは一つの遺伝子からalternative splicingより生じることが強く示唆されている．今回，この２種類のHPRの発現と細胞内局在性について解析を行ったので報告する．

[結果]カボチャ子葉の緑化に伴う２種類のmRNAの変動は，輸送シグナルのあるHPR1よりもHPR2の方が顕著に誘導を受けることが明らかとなった．また，HPRタンパク質が緑葉ペルオキシソームのみならず細胞礎質にも存在することが明らかとなった．これらの結果は，マイクロボディ機能転換に光制御によるalternative splicingが働いている可能性を示唆している．

1) Hayashi *et al.*, Plant Mol. Biol. in press (1995)

2aF05

アグロバクテリウム法を用いたイネへの遺伝子導入とタペート細胞特異的プロモーターによるGUS遺伝子の発現解析

横井修司, 土屋亨, 鳥山欽哉, 日向康吉 (東北大・農)

イネから単離した*Osg6B*プロモーターは形質転換タバコにおいてタペート細胞特異的に発現誘導することが知られている (土屋ら 1994)。我々はこのプロモーターの下流にGUS遺伝子を連結したプラスミドを構築し、アグロバクテリウム法を用いてイネ品種ヤマホウシに導入した。

22 の独立した形質転換体が得られ、その際の形質転換効率は 15% であった。

形質転換イネの葯におけるGUS活性を調査したところ、GUS活性はタペート細胞に特異的であり、葉及び根では活性が認められなかった。また、発現時期について調査したところ、GUSの活性は花粉のステージで1核期中期から認められ、1核期後期から2核期中期で最大になり、開葯 2 日前には消失した。それ以後のステージの葯及び成熟花粉ではGUS活性は認められなかった。このようにイネにおいても *Osg6B* プロモーターはタペート細胞特異的に発現誘導することが明らかになった。

2aF06

サツマイモの２種の塊根主要タンパク質遺伝子プロモーターに共通して存在する糖応答性発現に関わるシスエレメント

前尾健一郎、森上敦、石黒澄衛[1]、赤池美紀子、中村研三
(名古屋大・農・生化、[1]京都大・理・植物)

サツマイモ塊根の主要タンパク質であるスポラミンとβ－アミラーゼの遺伝子の発現は、塊根形成に伴って活性化されるほか、高濃度のショ糖やその他の代謝可能な糖によって、葉や葉柄でも発現が誘導される。我々は先にスポラミン遺伝子プロモーター：ＧＵＳ融合遺伝子の形質転換タバコの葉切片での糖応答性発現にはそれぞれ -266 ～ -255 と -192 ～ -181 に存在する領域Ａと領域Ｂの２種の配列が 13 bp 以上離れて存在することが必要であることを示してきた。

β－アミラーゼ：ＧＵＳ融合遺伝子のタバコ葉切片での糖応答性発現に関わるシスエレメントを決定するため、様々な5'側からの欠失や内部欠失を持つプロモーターの解析を行ったところ、転写開始点からはるか上流の -933 ～ -820 の 114 bp の領域に糖応答性発現に必須な配列の一つが存在することが明らかになった。この領域にはスポラミン遺伝子プロモーターの領域Ａ中の糖応答性発現に必須な TGGACGG エレメントと同一の配列が存在した。そこで、この配列の欠失と共に、その内部及び周辺に置換変異を持つプロモーターを作製して解析を行った。その結果、β－アミラーゼ遺伝子の糖応答性発現においてもこのエレメントが重要な役割を果たしていることが明らかになった。β－アミラーゼ遺伝子の場合にも、その糖応答性発現にはこの TGGACGG エレメント以外の領域も必要であるが、この領域にはスポラミン遺伝子のＢ領域と相同な配列は存在しないことから、TGGACGG 結合因子は他の因子と共に糖応答性を示す転写装置の構築に関与している可能性が示唆される。

2aF07

ジャスモン酸により誘導されるタバコ培養細胞のオルニチンデカルボキシラーゼ遺伝子の発現

今西俊介、村本伸彦、宇都野要、小島久恵、中村研三
(名古屋大・農・生化)

植物界に広く存在するジャスモン酸類は、様々な生理活性を示し、種々の遺伝子の発現を制御することが知られるが、その制御機構は明らかにされていない。タバコ培養細胞 BY-2 を methyl jasmonate (M-JAS) で処理するとニコチンの蓄積が誘導され、この時発現が誘導される cDNA の中にプトレシンからのニコチン合成に関わる酵素と共に、動物や酵母のプトレシン生合成の律速酵素であるオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) をコードする cDNA も含まれていた。M-JAS 処理による ODC mRNA の蓄積は、0.5 時間後には最大となり、シクルロヘキシミドによって阻害されないことから１次応答であると考えられた。

今回 cDNA に相当する部分において 93.7% と高い相同性を示す１種類の核遺伝子クローンがタバコ NK326 株のライブラリーから得られた。この核遺伝子の 5'-上流域 1095 bp と GUS レポーターとの融合遺伝子の形質転換 BY-2 細胞を *Agrobacterium* を介して作成し、M-JAS 処理による誘導を行ったところ、M-JAS 処理２時間後にはＧＵＳ活性値の上昇が見られ、６時間で最大となった。一方、上流 460 bp を持った融合遺伝子では顕著な誘導は見られていない。現在さらなる解析を行っている。

2aF08

イネグルテリン遺伝子プロモーター中のAACAモチーフに結合する蛋白質のcDNAクローニングの試み

鈴木章弘, 田辺史生[1], 高岩文雄（農水省・生物研, [1]名大・遺伝子）

イネ種子貯蔵蛋白質グルテリンをコードする遺伝子は、胚乳組織特異的発現を示す。これまでのシス配列解析の結果から、本遺伝子の組織特異的発現には5'上流－２４５bpまで必要であることが明らかにされている。さらに、この領域中のGCN4, G-boxそしてAACA の各モチーフの作用により組織特異的発現が制御されることが示唆されている。

今回我々は、これらの内AACAモチーフに結合するMYB様蛋白質のcDNA単離を試みた。トウモロコシの ｃ１cDNAをプローブにイネの cDNA ライブラリーをスクリーニングした結果、２０種類以上の独立した Myb ホモログを単離した。現在、これらについて塩基配列を決定するとともに、コードしている蛋白質の AACA モチーフに対する結合活性を検定しているところである。

2aF09

ヒストン遺伝子発現制御に関わるタイプＩエレメントのタバコ幼植物体の分裂組織における機能

賀屋秀隆・辻 博之・中山卓哉・荒木 崇・飯哲夫・岩淵雅樹（京都大学・大学院理学研究科・植物科学系）

タイプＩエレメントは、コムギ・ヒストンH3遺伝子のプロモーター領域に存在するシスエレメントのひとつであるが、他の植物ヒストン遺伝子にも見いだされている。我々は、すでにこのシスエレメントの機能解析実験から、これがH3遺伝子のS期特異的発現に関わっていることを明らかにした。今回、このエレメントの植物体での機能を知るため、トランスジェニック・タバコを作出した。H3遺伝子のプロモーター（-185～+52）にGUS遺伝子をつないだキメラ遺伝子[-185H3/GUS]と、３コピーのタイプIエレメントとCaMV35S最小プロモーター[35S(M7)]にGUS遺伝子をつないだWT/35S(M7)/GUSを作製し、Ti-プラスミドベクターを用いて形質転換タバコを得た。-185H3/GUSは主根，茎頂，側根などの分裂組織で特異的に発現し、WT/35S(M7)/GUSは、茎頂と側根の分裂組織でのみ発現した。これらの結果は、タイプIエレメントが分裂細胞での発現制御に深く関わっているが、総ての分裂組織での発現を制御しないこと、さらにH3プロモーター活性は、タイプIエレメントと他のシス配列との協調のもとに組織特異的および発生時期特異的発現に関与していることを示唆した。

2aF10

シロイヌナズナからのCys2/His2型Zn-finger蛋白質遺伝子の単離

坂本秀樹・荒木 崇・飯 哲夫・岩渕雅樹（京都大学大学院理学研究科植物科学系）

Cys2/His2型Zn-fingerは最もよく解析されているDNA結合モチーフの１つであり、動物や酵母のZn-finger型転写因子では通例、多数のモチーフがタンデムに連なって存在している。近年、植物においてもCys2/His2型Zn-finger蛋白が多数存在することが明らかになってきたが、機能解析がなされたものは、当研究室でコムギから単離されたWZF-1(wheat zinc finger protein-1)や、ペチュニアのEPF1等、まだ数種類にすぎない。これらの高等植物のZn-finger型転写因子は、１個あるいは２個のZn-fingerモチーフを持ち、２個持つのものでは２つのモチーフが離れて配置している。これらの特徴は、動物のZn-finger型転写因子とは大きく異なっており、高等植物のZn-finger型転写因子に独特の制御様式が存在することを示唆している。

我々は、高等植物におけるZn-finger型転写因子の機能解明を目的とし、WZF-1とEPF1及びEPF2のZn-fingerで保存されている領域を基にdegenerate primerを設計し、シロイヌナズナ・ゲノムDNAを対象にPCRクローニングを行った。その結果、Zn-fingerモチーフをコードする DNA断片を多数得ることが出来た。さらに、これらをプローブとしてシロイヌナズナ・ライブラリーをスクリーニングし、幾つかのクローンを得た。これらクローンに関する発現様式（時期、組織）を含む解析結果について報告する。

2aF11

コムギ葉緑体光応答プロモーターのシス配列および配列特異的ＤＮＡ結合タンパク質の解析

中平洋一、角山雄一、米田章登、椎名隆、豊島喜則（京大、人間・環境学研究科）

葉緑体遺伝子の転写装置は、多くの原核生物的な特徴を備えていることから、その転写調節はσ様因子や配列特異的DNA結合タンパク質によって行われていると考えられる。しかしながら、その分子機構の詳細については未だ明らかにされていない。本研究では、コムギ葉緑体psbD/C遺伝子クラスターに存在し光に応答して活性化されるD/C-3プロモーターを対象に、転写活性に関わるシス配列およびその配列を特異的に認識するDNA結合タンパク質について解析した。

D/C-3プロモーターの５'領域を順次欠失させた鋳型を用いて*in vitro* 転写を行った結果、原核生物型のコアプロモーター領域（-35,-10領域）のさらに上流（-78～-46）に、転写活性を強めるシス配列が存在することが明らかになり、それ以外に光応答に関わる領域が存在することが示唆された。DNaseIフットプリント法およびゲルシフト・アッセイにより、転写開始点よりかなり上流の配列（-85～-60）を特異的に認識するDNA結合タンパク質が少なくとも１つは存在することが明らかになった。以上の結果より、このDNA結合タンパク質が転写活性を強めるトランス因子として作用していることが強く示唆された。配列特異的DNAアフィニティーカラムクロマトグラフィー等の方法で行ったDNA結合タンパク質の精製についても併せて報告する。

2aF12

コムギ成熟葉緑体におけるpsbD/C-3プロモーター活性の光応答性の解析

佐藤淳子、馬場恭子[1]、椎名隆、豊島喜則（京大、人間・環境学研究科、[1]金沢大、自然科学研究科）

コムギ葉緑体psbD/C遺伝子クラスターに存在する4つのプロモーターのうち、D/C-3プロモーターの転写活性が光に応答することは既に報告した。本研究では、成熟葉緑体でのD/C-3プロモーター活性の光強度依存性を、*in vitro* 転写と *in vivo* でのmRNAの蓄積量変化から調べた。5日間明所(72 μE $m^{-2}s^{-1}$)で生育したコムギを24時間暗所に移し転写活性を減少させた後、16・320 $\mu Em^{-2}s^{-1}$の光強度で再照射すると、D/C-3からのmRNAの蓄積量は光強度に依存して、暗処理後の値の2・3倍に増加した。*in vitro* での転写活性の測定から、この蓄積量の増加は光照射によりD/C-3プロモーターが急激に活性化されたことに起因し、その活性化の度合いは光強度に依存することがわかった。また5日間明所(16 $\mu Em^{-2}s^{-1}$)で生育させた後、直接320 $\mu Em^{-2}s^{-1}$の光条件下に移した場合も同様に蓄積量の増加が認められた。D2タンパク質の*in organello* 合成速度は、明→暗で減少し、暗→明で増加した。これらの結果は、光に応答するD/C-3プロモーターの活性がD2タンパク質の合成速度を制御することを示唆している。D/C-3プロモーターの光応答性はDCMUに影響されず、酸化還元電位による制御は否定的である。一方、シクロヘキシミド処理は転写活性を抑制することから、D/C-3プロモーターの活性は未知の核遺伝子の光による発現を介して起こると推測される。

2pF01

エチレン誘導に関与するタバコ転写因子群の生化学的性質

伊藤嘉信, 高木　優[1], 進士秀明[1], 山崎健一(名古屋大学・農学部生化学制御, [1]工技院・生命研・植物)

エチレンで誘導されるタバコのキチナーゼとβ-1,3-グルカナーゼの遺伝子上流に存在するエチレン応答性エレメント(ERE)に結合する転写因子群(EREBP-1,-2,-3,-4)をコードするcDNAがとられている（Ohme-Takagi et al., 1995）。

我々は、このタンパク質が植物の転写制御因子としての機能を有するかどうかを確かめるために、このcDNAの翻訳領域を大腸菌発現ベクターに組み込み、組み換えEREBPsを精製し、タバコ試験管内転写系に添加することにより、その生化学的性質を明らかにしようとしている。

一方これと平行して、これらの因子のcDNAの翻訳領域を植物のプロモーターの下流に挿入したエフェクタープラスミドを作製して、タバコ培養細胞内における転写因子としての機能を解析したところ、EREBP-4がEREをTATAエレメントの上流に持つプロモーターからの転写の増幅因子として働くことを発見した。

2pF02

シロイヌナズナ転写抑制因子Dr1の生化学的性質

岩滝暢子, 黒森　崇[1], 山本正幸[2], 山崎健一(名古屋大学・農学部・生化学制御、[1]岡崎基生研、[2]東京大学・理学部・生物化学)

分裂酵母のcAMPカスケード上の突然変異を回復させるマルチコピーサプレッサーとして選抜されたシロイヌナズナのcDNAの塩基配列から推定されるポリペプチドのアミノ酸配列は、ヒトの転写抑制因子として知られるDr1のそれと高い相同性を示した（Kuromori and Yamamoto, 1995）。

我々は、このタンパク質が植物の転写抑制因子としての機能を有するかどうかを確かめるために、このcDNAの翻訳領域を大腸菌発現ベクターに組み込み、組換えDr1を精製し、タバコ試験管内転写系に添加することにより、その生化学的性質を明らかにした。

ヒトのDr1はTBPと結合してアデノウィルス主要後期プロモーターからの転写を抑制すると考えられている。シロイヌナズナのDr1もカリフラワーモザイクウィルスの35Sプロモーターからの転写に抑制的に働くことが観察されたことから、ヒトから植物に至る生物種に共通した転写抑制の機構が存在することが示唆された。

2pF03

植物の転写コアクティベーター

山崎健一, 広瀬　進[1](名古屋大学・農学部・生化学制御、[1]国立遺伝研)

真核生物における、ある特定遺伝子の転写増幅において、転写増幅因子がその標的DNA配列（シスエレメント）に結合した後、その転写増幅信号が、ある場合にはコアクティベーターと呼ばれる情報仲介因子を経由して転写装置に伝えられることが知られている。

李ら（1994）は、ショウジョウバエのホメオティック遺伝子, fushi tarazu, の転写を試験管内で正に制御するカイコの転写因子(BmFTZ-F1)からの転写増幅信号がコアクティベーター(MBF1, MBF2)を経由して転写装置に伝えられることを明らかにした。

我々は、カイコのMBF1をコードするcDNAの一次構造を参考にしてプローブを作製し、植物のcDNAライブラリーよりcDNAを単離し、塩基配列を決定したので、その構造的特徴について報告する。

2pF04

イネ増殖細胞核抗原(PCNA)遺伝子の分裂細胞特異的発現に必須なシス因子に結合するタンパク質のcDNAクローニング

小杉俊一、大橋祐子（農水省・生物研）

イネPCNA遺伝子の分裂組織特異的発現に関わるプロモーター領域内のシス制御配列 (site IIa及びsite IIb) には、核抽出物中に存在するタンパク質が配列特異的に結合する。我々はYeast one-hybrid system を用いてこのタンパク質をコードするcDNAの単離を試みた。site IIaの配列をいくつか繰り返したDNAを*CYC1* minimal promoter- *HIS3* レポーター遺伝子の上流に置き、それを酵母ゲノムに組み込んでさらにイネ培養細胞由来の pGAD424 cDNA library をその酵母に導入した。His^+の表現型を示すコロニーをスクリーニングした結果、二つの独立したクローンが得られた。これらクローンの示す His^+の表現型は、レポーター遺伝子に挿入したsite IIaまたはsite IIbの配列に依存していた。そのインサートcDNAの配列から予想されるアミノ酸配列にはbasic helix-loop-helixドメインが二つのクローン共に存在していた。大腸菌で作らせたこれらのタンパク質は、site IIaまたはsite IIbのDNA配列に特異的に結合した。さらにNorthern blot解析から、これらの転写物はイネの分裂の盛んな細胞・組織に多く存在することがわかった。以上の結果は、このcDNAがイネPCNAプロモーター中のシス制御因子site IIa及びsite IIbに直接結合し発現を制御する転写因子をコードしている可能性を示唆している。

2pF05

大腸菌のモリブデン酸輸送系遺伝子の転写制御

三宅仁、佐藤敏生、○山本勇（広島大 理 生物科学）

モリブデンを有する酵素は、細菌、動植物など多くの生物に見い出されている。我々は一昨年の本大会で大腸菌のモリブデン酸輸送系遺伝子をコードする遺伝子*modABCD* のクローン化と構造について報告した。今回、*modABCD*の転写因子について検討を行った。

*modABCD*遺伝子のプロモーターを同定するために各ORFの上流域をプロモーターレスの*lacZ*遺伝子を持つベクターに組み込み、β-ガラクトシダーゼ活性を測定した。プロモーター活性は*modA*と*modB*の各上流域で見つかった。硝酸とモリブデン酸による制御は見られなかったが、*modA*と*modB*の転写開始点がプライマー伸長法で検出され、*modABCD*が二つの転写単位からなることが示された。*modA*の上流域のDNA断片をプローブにしたゲルシフトアッセイでは結合タンパク質が観察され、少なくとも*modA*の転写制御にはDNA結合タンパク質が関与していることが示唆された。

2pF06

AOBPは、Steroid hormone receptor および GATA1 に似たZinc-binding domain を持つ

木須康智[1]、鈴木理[2]、小野智幸[1]、江坂宗春[1]（[1]広島大・生物生産、[2]MRC Lab. of Mol. Biol., Cambridge）

高等植物に特有な酵素アスコルビン酸酸化酵素（AAO）は、オーキシンによって誘導されることがわかっているが、その生理的機能については不明である。我々は、オーキシンによる発現調節を調べるために、カボチャのAAOゲノム遺伝子の5'上流域に焦点をあてた研究を行い、5'上流域のAT-richな配列に結合する蛋白質（AOBP）のcDNAクローンをサウスウェスタン法により得ている。

AOBPは、52アミノ酸からなる一部のアミノ酸配列のみにおいて、トウモロコシで見つかっているDNA結合蛋白質MNB1aと高い相同性を示した。また、アラビドプシスからもこの保存性の高い領域（以下ZACdomain）をコードするcDNAクローンを得た。大腸菌によるAOBPの発現実験から、このZACdomainを含む領域にDNA結合ドメインが存在することが示された。ZACdomain中には、5つの Cys が完全に保存されており、GATA1、および Steroid hormone receptor の Zinc-binding domain と類似の構造をとる可能性が示された。また、AOBPはAAO遺伝子上流域の塩基配列AGTA配列を特異的に認識しているものと予測された。一方、AOBPとAAOとのmRNA発現量は負の相関があり、AOBPがAAO遺伝子の転写抑制因子である可能性が示された。

2pF07

形質転換植物を用いたタバコ葉緑体核様体DNA結合性タンパク質CND41の機能解析

中野雄司[1]、村上真也、吉田茂男[3]、山田康之[2]、佐藤文彦（京大・農、[1]現・理研・植物機能、[2]奈良先端大、[3]理研）

タバコ葉緑体核様体中に同定された塩基性で分子量41kDのDNA結合性タンパク質は、そのcDNAのクローニングの結果、新規のタンパク質であることが明らかとなり、CND41と命名された。このCND41は、成熟CND41のN末端に存在する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こと、さらに葉緑体DNAに非特異的に結合することなどが明らかとされている。また、作製した抗CND41抗体を用いたCND41タンパク質の植物各組織における蓄積量の解析、ならびに各組織の葉緑体DNAコードの遺伝子群のノザン解析などにより、CND41は、糖により発現が誘導され、さらに葉緑体DNA上の遺伝子発現を抑制する機能を持つ可能性が考察されている。

続いてCND41の植物体内における機能について、さらに詳細な知見を得るため、CND41cDNAををCaMV35Sプロモーター下流にアンチセンスに組み込んだベクターを作製し、アグロバクテリウムを用いてタバコの形質転換を行った。さらに、PCRにより形質転換を確認した個体について、抗CND41抗体を用いてCND41タンパク質発現量の低下した個体のスクリーニングを行った。その結果、選抜された数個体では、野性型株に比べて、一般に矮性を示し、比較的緑化の進んだ緑葉を持つ等の共通する形態的特徴が見られた。現在これらの個体について、葉緑体遺伝子群のノザン解析等を行っている。

2pF08

Two-hybrid system を用いた転写因子 HBP-1a と相互作用するタンパク質の同定と解析

玉井宏紀・岡南政宏・飯　哲夫・岩淵雅樹（京都大学・大学院理学研究科・植物科学系）

HBP-1a (17)は、コムギ・ヒストン H3 遺伝子(TH012)上流にある cis 配列ヘキサマーと結合する因子としてクローニングされた b-ZIP 型核タンパク質である。この因子のN末端近傍にはプロリン残基に富む領域が存在するが、これと相同性の高い領域が、他の多くの植物 b-ZIP 型タンパク質に見いだされている。この領域が潜在的に転写活性化ドメインとして機能することは、シロイヌナズナの GBF1 と HBP-1a(17)において報告されている。これらのことから、このプロリンに富む領域と相互作用する因子が広く植物に存在し、かつ、それら因子の一次構造も種間で保存されていることが示唆される。このプロリンに富む領域が転写制御機構にどのように関わっているかを解明するため、我々は、この領域と相互作用する因子の同定を試みた。 HBP-1a (17)のプロリンに富む領域を二分した時、各々が転写活性化能を示すことが明らかにされているので、このことを利用して3種のプローブを用意し、two-hybrid system を用いてシロイヌナズナ cDNA library をスクリーニングした。その結果、十数個のポジティブクローンを得た。今回、これらのクローンについての解析結果を報告する。

2pF09

CO_2濃度変動に応答する緑藻クラミドモナス炭酸脱水酵素遺伝子*CAH1*の転写調節領域

福澤秀哉，九町健一，大山莞爾（京大・農・農化）

多くの微細藻類は低CO_2濃度環境にさらされると、無機炭素濃縮機構が機能し、このとき炭酸脱水酵素(CA)が誘導される。クラミドモナスのペリプラズムCAをコードする遺伝子*CAH1*の発現は、高CO_2条件（5%CO_2）で抑制され、明所で低CO_2条件(0.04%, air level)にすると約1時間以内に誘導される。*CAH1*遺伝子のCO_2変動に応答する分子機構を明らかにするために、CO_2応答に必要なシス因子の検索を行った。

PCRにより得た様々な長さの*CAH1*遺伝子上流域をレポーター遺伝子(*ars*；arylsulfatase)に連結したキメラ遺伝子を作製し、硝酸還元酵素(nit)遺伝子を持つ選抜用プラスミドpMN24とともにクラミドモナス宿主株(nit欠損株)に導入した。アンモニア非要求性となった形質転換株について、発色基質を用い低CO_2ならびに高CO_2条件下における*ars*活性を調べた。この結果、転写開始点から-293塩基までの上流域があればCO_2濃度の変動に応答できることが判明した。光に対する形質転換体の応答についても合わせて報告する。

2pF10

*Anabaena*におけるRNA結合タンパク質遺伝子*rbpA3*の解析

圓山恭之進，佐藤直樹（東京学芸大，生命科学）

RRMモチーフをもつ低分子量のRNA結合タンパク質について現在多数報告されている。*Anabaena variabilis* M3株においてもRNA結合タンパク質遺伝子群が確認されており、少なくとも8個のメンバーから構成されている。その内すでに5個の*rbp*遺伝子（*rbpA1,A2,B,C,D*）が単離された。本研究においては6個目の*rbp*遺伝子*rbpA3*の単離、および構造の比較を行った。ゲノムDNAの 0.9kbp HindIII断片の塩基配列を決めた結果、306 bpのORFを得た。この遺伝子がコードするタンパク質は、C末端に特にグリシンに富んだドメインをもっており、転写産物は低温で顕著に増加することがわかった。これは他の*rbp*遺伝子と類似した性質である。現在、この遺伝子のオーバーエクスプレションを行っており、タンパク質産物の研究を進めている。

2pF11

シアノバクテリアＲＮＡ結合タンパク質の低温における蓄積とその役割

佐藤直樹（東京学芸大・生命科学）

真核生物でよく研究されているRNA-recognition motif (RRM)タイプのＲＮＡ結合タンパク質(Rbp)が，シアノバクテリアにも広く存在することがわかってきた。*Anabaena variabilis* M3 (PCC7118と同一起源）にはRbpをコードする少なくとも8個のrbp遺伝子が存在し，そのうちの6個の配列が解明された。大部分の*rbp*遺伝子の発現は，30℃以下の温度（低温とよぶ）で著しく高まり，Rbpの総量は22℃培養細胞の総タンパク質の約2％に達した。主要なRbpの一つをコードする*rbpA1*の遺伝子破壊株は，低温でproheterocyst分化・*nifD*遺伝子再編成など窒素欠乏応答の一部を示した。このことは，本来窒素供給により制御されているこれらの窒素欠乏応答の抑制が，低温では不完全(leaky)になること，RbpA1がこのleakinessを低下させることを意味している。低温ではＲＮＡの二次構造が異常に安定化されて，正常な遺伝子発現を妨げる可能性があり，これをRbpが防いでいるというのが現在の作業仮説である。

2pF12

Anabaena variabilis における *dps* 相同遺伝子 *dph* の解析

長谷川実加，佐藤直樹（東京学芸大，生命科学）

A. variabilis M 3 株において、*E. coli* の *dps* (DNA binding protein from starved cells) 遺伝子と相同性がある遺伝子が見つかった。この *dph* (*dps* homolog) のコード領域をGSTとの融合タンパク質として大腸菌で発現させ、抗体を作製した。Dph特異抗体を用いたウエスタンブロットによる分析の結果、遺伝子からの計算値、20kDaより少し大きい23.5kDaのバンドが検出され、暗所処理細胞で著しく蓄積することが解った。最近、Dpsファミリーに含まれる *Synechococcus* のDpsAタンパク質がバクテリオフェリチンのC末端と相同性があり、DNA結合タンパク質であると同時にヘムタンパク質であるという報告があった。精製した *Anabaena* のDphタンパク質は、Fe^{3+}を含んでいたが、DNAの結合性やプロトヘムの存在は検出されなかった。Dpsファミリーに属するタンパク質は機能の面からさらにいくつかに分類されると考えられる。

3aF01

ハンマー式遺伝子導入装置の開発と導入した遺伝子の発現解析

森川弘道、高橋美佐、雉鼻晃[1]（広島大・理・遺伝子科学、[1]（株）日本医化器）

我々はパーティクルガン遺伝子導入装置について、窒素ガス式[1)]、圧縮空気圧手動式[2)]、圧縮空気圧自動式[3)]などを開発してきた。パーティクルガン遺伝子導入装置において遺伝子 DNA をまぶした金粒子が細胞壁や膜を貫通し、核内へ到達するために必要な力はどの程度必要かについては不明な点が多く、従来の装置よりも簡易な装置で有効な遺伝子導入が可能であると考えられる。

そこで本研究では従来の装置とは発想を逆転し、停止した振動板に DNA をまぶした金粒子を予め付着させておき、この振動板をハンマー弾でたたくことにより、金粒子を試料細胞へ発射させ、遺伝子導入する装置を考案、開発した。本装置の概要および導入した遺伝子の発現について報告する。

1)H.Morikawa et al., Appl. Microbiol. Biotechnol. 31:320-322 (1989).
2)A.Iida et al., Theor. Appl. Genet. 80:813-816(1990).
3)H.Morikawa et al., In "Particle bombardment technology for gene transfer" pp. 52-59. eds. N. Yang and P.Christou, Oxford Univ. Press, New York (1994).

3aF02

異なる生理条件下にあるシロイヌナズナ植物葉への遺伝子導入と発現の解析

入船浩平、田中俊憲*、森川弘道（広島大・理・遺伝子科学、*現：長崎県総合農試）

トランスジェニック生物学において、遺伝子導入のターゲットとする対象細胞の生理的な状態がトランスジーンの発現にどの様な効果を持つかは大切な課題である。そこで、本研究ではシロイヌナズナ実生から切り放していない葉(attached leaf)と実生茎から切り放した葉(detached leaf)へ別々にパーティクルガンを用いて遺伝子導入し、それぞれにおけるトランスジーンの発現を解析した。

実験材料として、播種後約５週間めのシロイヌナズナのattached leaf およびdetached leaf(カルス誘導培地で３日間前培養）を用いた。３種（CaMV35S 、NiR 遺伝子、petE遺伝子）のプロモーターおよびNOS ターミネターの間にホタルluciferase遺伝子を結合した発現ベクターを構築し、常法によりパーティクルガンを用いて導入、発現解析した。また、pBI221を同時に導入し、内部標準とした。これらの結果について報告し、討論する。

3aF03

パーティクルガン法によって得られたトランスジェニック植物の外来遺伝子組込み部位の構造と機能の解析

五島直樹、清水克哉、入船浩平、川上茂樹、越智泰彦、尾崎秀司、森川弘道（広島大・理・遺伝子科学）

植物ゲノムにおける外来遺伝子組込み部位の構造については、これまでにほとんど報告されていない。我々は、タバコ培養細胞株(BY-2)にpCaMVNEO(CaMV 35S- *nptII* - NOS ter)をパーティクルガン法により導入し、得られた形質転換体の１系統(2-1)を用いて外来遺伝子のゲノムDNAへの組込み部位の解析を行った。その結果、導入したプラスミドはタンデムに２コピー連なって組込まれており、それを挟むように1.3kbの相同なゲノムDNA配列が向き合う形で存在していた。この組込み部位の配列には、核骨格に結合するScaffold Associated Region (SAR)に特徴的な塩基配列TOPOII box, A-box, T-boxが多数存在しており、DNA湾曲構造をとっていることが明らかとなった。タバコ核から調製した核骨格とこのDNA断片との結合性をin vitroで調べたところ、この断片が特異的に核骨格と結合することが明らかになった。さらに、in vivoでもこの領域は核骨格と結合していることが示唆された。また、この配列をnptII遺伝子発現カセットの両端に組み込んだベクターを構築し、タバコ培養細胞に導入したところ、形質転換効率、遺伝子発現量の上昇が認められた。我々は、外来遺伝子の組込み部位のホットスポットとしてSAR配列がどの程度一般性を持っているのか、またそのメカニズムについて検討する。

3aF04

シロイヌナズナ亜硝酸還元酵素遺伝子に存在するSAR配列の解析

田中俊憲[1]，澤崎達也，高橋美佐，入船浩平，五島直樹，森川弘道（広島大・理・遺伝子科学，[1]現：長崎県総合農試）

我々はシロイヌナズナ植物から亜硝酸還元酵素（NiR）をコードする遺伝子（*Nii1*）を単離，その塩基配列を報告した[1)]。本遺伝子の5'上流域はAT含量が高く（翻訳開始点から上流約1.25kbのAT含量＝71.5%），またT-boxやunwinding nucleation siteなどいわゆるNuclear Scaffold Associated Region (SAR)に特徴的な構造を持っていた。

本研究ではまず，タバコ培養細胞BY-2からNuclear Scaffoldを調製し，Binding Assayを行った。それらの解析結果から，上記配列はSARであると結論された。次に，この配列および関連配列をhygryomycin phosphotransferase (HPT)遺伝子（*hpt*）発現ベクターに結合したプラスミドを構築しパーティクルガンを用いて，常法によりシロイヌナズナ根外植片に導入，形質転換体を選抜し，シロイヌナズナSAR配列の形質転換効率および*hpt*の発現に対する効果について解析を行っている。これらの結果について報告する。

1) Tanaka, T., Ida, S., Irifune, K., Oeda, K. and Morikawa, H. (1994) DNA seq. 5: 57-61.

3aF05

トランスジェニックトルコギキョウ植物の育成とその解析 ーパーティクルガン法による形質転換ー

西原昌宏、小林仁、Piyasak Chaumpluk、星伸枝、山村三郎（財団法人岩手生物工学研究センター）

リンドウ科の植物であるトルコギキョウに関してはこれまでいくつかの方法により形質転換体の作出例が報告されている。今回、我々はパーティクルガン法を用いて3種の材料に遺伝子導入し、本植物の形質転換体を得たので報告する。

材料としては播種後3～4週目の実生切片、液体培養で増殖させた根切片及び懸濁培養細胞を用いた。パーティクルガンを用いて pARK22 (CaMV35S pro-*bar*-NOS ter) と同時に、pBI221 (CaMV35S pro-*gus*-NOS ter)あるいはその他の有用遺伝子（アントシアニン生合成関連遺伝子、耐病性遺伝子）を導入し、選抜を行った。X-Glucを基質とした組織化学的GUSアッセイにより、トランジェントなGUSの発現を観察したところ、用いた全ての材料で1シャーレあたり、200～500個のブルースポットが得られた。次に、pARK22を導入した材料からビアラフォスを含む再分化培地で耐性カルス、シュートの選抜を行ったところ、導入後約2カ月で、導入した1シャーレあたり、実生切片で0.2個、根切片で2.4個、懸濁培養細胞で3.8個のビアラフォス耐性カルスまたはシュートが得られた。これらの材料よりDNAを抽出しPCR法により解析した結果、*bar*遺伝子の存在が確認された。cotransformした遺伝子に関しては、50～100%の割合で*bar*遺伝子と同時に検出された。また、サザンブロット解析を行い、導入した遺伝子が植物ゲノムに組み込まれていることを確認した。今後、得られた植物体を馴化させ、外来遺伝子の発現を解析する予定である。

3aF06

*Agrobacterium rhizogenes*を用いたダイズ形質転換系によるウリカーゼ遺伝子のプロモーター解析

高根健一，河内宏[1]，田島茂行（香川大学・生物資源科学，[1]農水省・生物研）

ダイズ根粒ウリカーゼは、根粒形成過程で誘導される植物側遺伝子産物の1つで、固定窒素の主要な転流形態であるウレイド生成の最終段階を触媒し、根粒中では、非感染細胞のパーオキシゾームに局在する。我々は、ダイズ根粒ウリカーゼ遺伝子の転写調節機構を解明し、根粒形成に伴う発現調節因子を決定することを目的として、ダイズ根粒ウリカーゼ遺伝子のプロモーター解析を行っている。

まず、ダイズ(*Glycine Max.* (L) cv. Akisengoku)ゲノミックライブラリーより8個のポジティブクローンを単離し、制限酵素地図を作製した。パターンの異なったUR2、9についてダイズ根粒cDNAライブラリーからスクリーニングを行い、UR2C、9Cを得た。2つのクローンのシークエンシングの結果ともに930bpのORFを持ち、ホモロジーは96.6%であった。それより予想されたアミノ酸配列は、310アミノ酸中12アミノ酸が異なっていた。そこでUR2、9両方のプロモーター解析を行った。

pBI121を、pNOS-LUC-NOS-3'と改変、さらにその下流にウリカーゼ遺伝子の翻訳開始点から上流約3.3Kb、GUS、NOS-3'をタンデムに接続したbinary vectorを作製した。このvectorを導入した*A. rhizogenes* K599をダイズに接種し、毛状根を誘導させた。ルシフェラーゼ活性を指標に選別した形質転換されていない毛状根、及び主根を切除した。根粒菌感染後、毛状根に形成された根粒についてGUS活性を測定した。その結果、2つのウリカーゼ遺伝子とも非感染細胞特異的な発現が観察された。さらに、1.7Kb、1.0Kb上流を導入したvectorを用いて、cis-領域について検討を行った。

3aF07

新規な遺伝子導入法によるマーカー・フリー組換え植物の作出

松永悦子、杉田耕一、山門幹子、海老沼宏安（日本製紙・中研）

遺伝子組換え植物を作成するためには、目的遺伝子と供に選抜マーカー遺伝子を用いる必要がある。この遺伝子の残留が、組換え体への再度の遺伝子導入や環境への放出の障害となっている。

この問題を解決するために我々は、新規の遺伝子導入法：MAT (Multi-Auto-Transformation) Vector System を開発した。このシステムは、選抜マーカーとして *ipt* 遺伝子（サイトカイニン合成遺伝子）を用い、組換え体を多芽体として肉眼により選抜すること、さらに *ipt* 遺伝子をトランスポゾン（pNPI106）又は酵母の部位特異的組換え系（pNPI132）により組換え体から除去し、マーカー・フリー組換え体を正常個体の出現として判別することを特徴とする。タバコを用いた評価実験の結果、感染後6ヵ月でpNPI106 では約5%の多芽体から、pNPI132 では約60%の多芽体から正常に伸長する shoot が得られ、これらはすべて正常に発根した。さらにこれらの個体がマーカーフリーの組換え体であることをDNA分析により確認した。

この技術は従来の選抜マーカーを除く方法と異なり、交配を必要としないので栄養繁殖性の植物への応用も可能である。また同じ方法で繰り返し遺伝子導入を行うことができる。さらに我々は *ipt* 遺伝子を用いた肉眼での組換え体の識別が、*Populus* 属の樹木の一種である交雑ヤマナラシにおいても可能であることを確認し、マーカーフリーの組換え体を得ることができたので報告する。

3aF08

ハイグロマイシンで選抜可能なTi-プラスミド自動変換ラムダファージベクターの作製

布施拓市、児玉浩明、林田信明[1]、篠崎一雄[1]、射場　厚
（九州大・理・生物、[1]理研・植物分子）

連鎖地図に基づいた遺伝子のクローニングにおいては、最終のクローニングのステップで、標的とする遺伝子座に対する相補性検定を、突然変異株に対して行なわなければならない。この相補性検定を簡便化するために作製したラムダファージベクター、λTI1とλTI2は、Cre-*lox* site-specific recombinationを利用して、植物体にそのまま導入可能なTi-プラスミドに自動的に変換することができる。また、このTi-プラスミドはpBI121を基本としているので、形質転換植物はカナマイシンで選抜することができる。しかしながら、シロイヌナズナでは、カナマイシンによる選抜が不確実なことがあるため、λTI1にハイグロマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子を導入し、新しいラムダファージベクター、λTI3を作製した。λTI3を用いることで、ハイグロマイシンによる形質転換植物の選抜が可能となるので、シロイヌナズナにおける相補性検定がより確実になると考えられる。

3aF09

過剰発現形タギングベクターを利用したシロイヌナズナタグラインの大量作製

林　浩昭、藤原　徹、白野由美子[1]、柴田大輔[1]、茅野充男　（東京大学・農学生命科学、[1]三井業際バイオ研）

エンハンサー配列をT-DNAのライトボーダー近傍に持つタギングベクター(pVICE)を利用して植物体を形質転換し、大量のタグラインを作製すれば、優性の挿入変異を持つ特異な変異株をスクリーニングすることができ、さらに、その変異の原因遺伝子を特定することが可能である。本報告では、シロイヌナズナを*Agrobacterium*で形質転換し、大量のランダムなタグラインを作製していく過程を報告する。

まず、簡便な形質転換法である*In Planta*法を用いて大量のシロイヌナズナ(WS)を形質転換した。得られた種子1000個あたり1-5株の形質転換体(ハイグロマイシン耐性)を得ることができた。それぞれの形質転換体より種子を採取しタグラインとした。現在まで、約1000株の独立なタグラインが得られている。次世代のハイグロマイシン耐性を調べたところ、ほぼすべての植物が耐性を示した。得られた変異株のうち、形態的な変異を示す株が得られており、これらの変異株を用いてタグラインの有用性を確認している段階である。

3aF10

染色体の特定領域のcDNA選抜法のシロイヌナズナゲノム由来のコスミドコンティグへの応用

関原明、林田信明、加藤紳子[1]、養王田正文[1]、篠崎一雄（理研・植物分子生物、[1]理研・化学工学）

モデル植物であるシロイヌナズナでは、ゲノムの構造解析や、遺伝子歩行のための環境が整備されつつある。このような背景の下に、特定のゲノム領域に由来するcDNAを体系的かつ効率的に選択する方法の必要性が指摘されている。前回の本学会で我々は、ラテックス粒子に共有結合したシロイヌナズナゲノム由来のYACクローンのDNAを用いて、cDNAを選択することにより、染色体の領域特異的なサブライブラリーを作製する方法、および作製したライブラリーから回収したcDNAクローンの解析結果を報告した。本発表では、この方法をさらに発展させ、シロイヌナズナゲノム由来のコスミドクローンへの適用を試みたので、その結果について報告する。第四染色体上に位置するABI1遺伝子を含む領域をカバーする9個のコスミドクローンからなるコンティグを用いて実験を行った。これまでに5個のコスミドクローンより計11種類のcDNAを単離した。単離されたcDNAの中には、カチオニックパーオキシダーゼ遺伝子や酵母のホスファチジルセリンデカルボキシラーゼ遺伝子とホモロジーを有するものなど、新しい遺伝子が6個存在していた。残りの4個のコスミドクローンについて現在解析を進めている。

3aF11

イネゲノムのBACライブラリーの完成

[1]中村信吾、[2]浅川修一、[1、3]田中良和、[3]山田哲治、[2]清水信義、[1]川崎信二（[1]農水省・生物研、[2]慶応大・医、[3]岡山大・農）

近年のゲノム解析技術の進歩により、植物の生物学においてもゲノム機能の解析は将来性の大きなテーマとして浮上してきたが、その基礎となるゲノムライブラリーの作成ではわが国は、欧米に大きな遅れをとってきた。今後各種の植物のゲノムライブラリーを研究室レベルで構築し、運用していく上ではBAC(Bacterial Artificial Chromosome)ライブラリーは最も実戦的なライブラリーとしての性質を備えている。すなわち、1）大腸菌用のベクターを用いているので、一晩で増殖し、ｱﾙｶﾘ法で抽出でき、そのまま使える；2）抗生物質(chloramphenicol)耐性で選べるので扱いが容易；3）導入効率が約$10^5/\mu$ gDNAと高い；4）導入ｲﾝｻｰﾄが100-150 kBとかなり大きい；等である。我々は、わが国で経済的重要性が高く、わが国独自の遺伝情報も豊富で、ゲノムサイズも小さく（約400MB）、形質転換系も確立しているイネをモデルとしてBACﾗｲﾌﾞﾗﾘｰの構築を行い、平均175 kBという大きなｲﾝｻｰﾄｻｲｽﾞのﾗｲﾌﾞﾗﾘｰを約8ゲノム分のサイズで約5カ月で完成させた。全コロニー21,504は(6×6−4)×96の配列で7枚のﾒﾝﾌﾞﾚﾝにまとめられた。ゲノムDNA源は緑葉のプロトプラストを用いた。葉緑体DNAの混入は7％であった。以上は多くの他の植物にも容易に応用することが可能である。

G 会 場：オルガネラ・生体膜

キーワード：脂質，生体膜，オルガネラ，イオン輸送，細胞内輸送，吸収·転流，栄養，代謝

第一日目 午前	
開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aG01
9:45	1aG02
10:00	1aG03
10:15	1aG04
10:30	休 憩
10:45	1aG05
11:00	1aG06
11:15	1aG07
11:30	1aG08
11:45	1aG09

第二日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	2aG01
8:45	2aG02
9:00	2aG03
9:15	2aG04
9:30	2aG05
9:45	2aG06
10:00	2aG07
10:15	2aG08
10:30	休 憩
10:45	2aG09
11:00	2aG10
11:15	2aG11
11:30	2aG12

第三日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	3aG01
8:45	3aG02
9:00	3aG03
9:15	3aG04

第一日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	1pG01
13:15	1pG02
13:30	1pG03
13:45	1pG04
14:00	1pG05
14:15	1pG06
14:30	1pG07
14:45	—
15:00	休 憩
15:15	1pG08
15:30	1pG09
15:45	1pG10
16:00	1pG11
16:15	1pG12
16:30	1pG13
16:45	1pG14
17:00	1pG15
17:15	1pG16

第二日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	2pG01
13:15	2pG02
13:30	2pG03
13:45	2pG04
14:00	2pG05
14:15	2pG06
14:30	2pG07
14:45	—
15:00	休 憩
15:15	2pG08
15:30	2pG09
15:45	2pG10
16:00	2pG11

1aG01

逆相 HPLC によるカロテンの分離，同定

高市真一，*新山孝弘
（日本医大・生物，*明治大学・農化）

カロテノイド色素のうちカロテン類の分離は性質が似ているため難しい．逆相 HPLC を用いて分離する条件，吸収スペクトルよりクロモフォアを同定する方法を確立した．

方法　カロテノイド色素を有機溶媒で抽出し，シリカゲルカラムクロマトグラフィーによりカロテンをヘキサンで溶出した．Novapak C_{18} (Waters) の HPLC でアセトニトリル／メタノール／ＴＨＦ (58:35:7) で溶出するとカロテン類がよく分離し，フォトダイオードアレイ検出器 (MCPD-350, 大塚電子) で吸収スペクトルを測定した．

結果　共役二重結合の数が長いほど溶出が早く，β-イオノンがあると溶出が遅くなった．吸収スペクトルにより非環，一環，二環型カロテンを区別でき，クロモフォアの構造を同定できた (S. Takaichi & K. Shimada (1992) Methods Enzymol. 213: 374-385).

1aG02

細胞性粘菌*Polysphondylium pallidum*の脂肪酸と脂質の解析

斉藤玉緒、落合 廣
（北海道大学・理学研究科・生物科学専攻）

細胞性粘菌は、細胞-細胞間の接着を含む相互作用を研究する上で優れたモデル生物である。二分裂で増殖する細胞は飢餓処理によって発生を開始し、分泌された走化性物質に向かって集合し、多細胞の集合体を形成する。脂質及び脂肪酸の解析は膜の流動性など細胞間相互作用を調べる上で基礎をなす知見である。そこで私たちは、細胞性粘菌*Polysphondylium pallidum*の脂質および脂肪酸を分析した。その結果、1)新規の脂肪酸を持つこと、2)奇数鎖の脂肪酸含量が高いこと、3)増殖期と比べ集合期では脂肪酸の不飽和化が進んでいること――が明らかとなった。また脂質組成については、集合期においてセラミドを含む糖脂質含量が増加する傾向が見られた。これらの特徴と細胞の接着がどの様に関連づけられるのかを考察したい。

1aG03

ラン藻*Synechocystis* sp. PCC 6803の低温下における生育と膜脂質のジエン脂肪酸の役割

田坂恭嗣、Zoltan Gombos、西山佳孝、大場哲彦[1]、大木和夫[1]、村田紀夫(基礎生物学研究所、[1]東北大・理・生物物理)

膜脂質における不飽和脂肪酸の生化学的役割を明らかにするために、我々はラン藻*Synechocystis* sp. PCC 6803のΔ12、ω3、Δ6位 脂肪酸不飽和化酵素の遺伝子(*desA*、*desB*、*desD*)を挿入変異法を用いて順次破壊し、脂肪酸の不飽和化が段階的に停止した欠損株を作出した。得られた変異株を用いて生育速度、光合成活性の比較を行った。そしてチラコイド膜を単離しタンパク質組成の比較、示差走査カロリメトリー(DSC)を使ってチラコイド膜の相転移温度の測定を行った。

その結果、ジエン脂肪酸を持たない変異株の生育が低温下で著しく低下していた。しかしその光合成活性とチラコイド膜のタンパク質組成には変化が見られなかった。またDSCを用いて推測したチラコイド膜の相転移温度がジエン脂肪酸への不飽和化を止めることにより上昇することが確認された。これらの事実は、ジエン脂肪酸が低温下でのラン藻のチラコイド膜の物理的、生化学的特性の維持のために重要な役割を演じていることを示している。

1aG04

キクイモ塊茎組織の培養に伴う細胞膜リン脂質組成の変化

長谷 昭，上岡華代 （北海道教育大・函館・生物）

キクイモ塊茎から組織切片を切り出して培養することによって，カルス化の有無に関わらず，細胞膜H^+-ATPaseをはじめとしていくつかの細胞膜酵素活性が増加することをすでに報告している (PCP34(1)，日本植物学会第59回大会)．これらの膜酵素活性の増加が，細胞膜の脂質環境の変化による可能性を検証するために，塊茎及び培養組織から分画遠心と水性二相分配法によって単離精製した細胞膜を用いて，総脂質を抽出しリン脂質組成の変化を二次元薄層クロマトグラフィーによって調べた．

膜タンパク質あたりのリン脂質含量は塊茎及び培養組織で大きな差がなく，約0.3mg/mg proteinであり，カルス化の有無による違いも少なかった．majorなリン脂質であるホスファチジルエタノールアミン(PE)とホスファチジルコリン(PC)は，塊茎，培養組織いずれでも合わせて総リン脂質の70%前後を占めたが，PE/PC比は塊茎での約1.5から培養組織での1.1に減少した．一方細胞膜H^+-ATPaseを活性化することが報告されているリゾレシチン(LPC)は，総リン脂質の１～2%と少なく，培養に伴う増加やカルス化の有無による違いも認められなかった．

以上の結果は，培養組織における細胞膜H^+-ATPaseの活性化が，細胞膜単離操作中でのPCの分解に由来するLPCの増加によるアーティファクトではないことを示すとともに，PE/PC比の変化が膜酵素活性に何らかの影響を与えている可能性を示唆している．現在リン脂質以外の脂質成分の培養に伴う変化についても検討中である．

1aG05

シャジクモ類における機械刺激受容　II. 薬理学的解析

新免輝男　（姫路工大・理・生命）

シャジクモ類の細胞を機械刺激すると受容電位を発生する。受容電位は刺激の強さに依存し、それが閾値に達すると活動電位が誘導される。本研究では受容電位および活動電位のイオン機構を薬理学的に解析した。材料としてはオオシャジクモの節間細胞を用いた。細胞の一部にアクリル樹脂のブロックをのせて、その上にガラス管を落とすことによって刺激した。

プロトンポンプ阻害剤：静止電位は-220mVであったが、100μMのDCCDで処理すると約-130mVにまで脱分極した。しかしながら受容電位の大きさおよびおよび活動電位のピーク値には顕著な影響はなかった。カルシウムチャンネル阻害剤：La^{3+}(100μM)、nifedipine(100μM)ともに受容電位には大きい影響を与えなかったが、活動電位は著しく阻害した。また、外液のCa^{2+}濃度を1μMに下げた場合も同様な結果が得られた。クロライドチャンネル阻害剤：ethacrynic acid(1mM),anthracene-9-carboxylic acid(1mM)ともに受容電位には大きい影響を与えなかったが、活動電位は著しく阻害した。また、機械刺激受容チャンネルの阻害剤として知られているGd^{3+}(100μM)についても上記チャンネル阻害剤と同様な結果が得られた。

以上の結果をもとに、受容電位及び活動電位の発生機構について考察する。

1aG06

シャジクモの水チャンネル特性ーHg及びZnによる阻害

田沢仁、浅井一視[1]、岩崎尚彦[1]　（福井工大・応用理化学、[1]大阪医大・生物）

最近植物細胞にも水チャンネルを構成すると思われるタンパク質が発見され、その水透過性は動物の水チャンネル同様Hgによって顕著に阻害されることが明らかになってきた。今回われわれはシャジクモの水透過性(Lp)に対する$HgCl_2$の効果を調べたところ、1 mM $HgCl_2$はLpを1分以内に95%も阻害することがわかった。この阻害は10 mM 2-メルカプトエタノール(ME)でほぼ完全に回復する。液胞膜除去細胞でも同様の阻害がみられた。以上の事実は次の事を示す。(1)シャジクモの細胞膜にはHgに感受性のある水チャンネルが存在する。(2)細胞膜の水輸送は主として(95%)水チャンネルを介して行われる。(3)水チャンネルの水透過性にはSH基が重要な働きをしている。

さらにわれわれは次の事を見いだした。(4) Lpは$ZnCl_2$でも阻害される。阻害はpHに依存する。pH5.6では弱く、pH 7.4のときは強く、$HgCl_2$同様2-3分で90%阻害し、MEで回復する。(5)水透過の極性、即ち内向きの透過性(Lpen)が外向きの透過性(Lpex)より高いという性質は、水チャンネルそのものの特性である。

1aG07

シャジクモ節間細胞における電気刺激直後の、興奮の主過程に先立って流れるイオン電流の分離作業

大川和秋、筒井泉雄[1]、野坂修一[2]（阪大・理・生物、[1]岡崎生理研・生体膜、[2]滋賀医大・麻酔科）

シャジクモ節間細胞の興奮の主過程におけるイオン電流の解析は、これまでに数多くの報告があり、また植物細胞では最も詳しく解析がなされてきた。私達はこの主過程に先行する時間内に、K^+ チャンネルの開口が、他のイオンチャンネルの開口よりも顕著な時期があること、外液の Ca^{2+} はこの開口に何らかの役割を果たしていることを報告してきた[1]。現在、興奮の主過程に先行するイオン電流を分離すること、この時期に開口するK^+チャンネルの種類を同定すること、その開口の時定数の電圧依存性を知ることを目的として実験を進めている。

電圧固定法により、100 mS の時間の矩形波電圧により、膜電位を -200 mV から+100mV まで変えたとき、-120mVから-40mVの膜電位領域で、外向き電流が減少する。-40mVよりも正側では外向きの電流が顕著である。この顕著な外向きの電流がK^+によると予想される。外液の Ca^{2+} 濃度を高めると(0.1 mM から 0.5 or 1.0 mM) 外向き電流の減少がより顕著になり、あたかもK^+電流を抑制しているかのように思われる。実際は外液Ca^{2+}は内向きの電流を誘起しているのであり、そのために、Ca^{2+} 存在下では K^+ の外向きの電流がある程度マスクされた状態にある。Ca^{2+} 除去条件下では外向き電流がより顕著になる。内向き電流の主成分はCa^{2+}とCl^-と予想される。外向き電流のみが顕著な条件下では、即ちCa^{2+}除去条件下ではこの外向き電流は顕著に 1mM TEA により抑制を受ける。通常の 0.1 mM Ca^{2+} 存在下では TEA の抑制作用は不明瞭なことが多い[2]。現在、Ca^{2+}除去の実験条件を探ることにより、Ca^{2+} により活性化される電流成分を明確にすることと、マスクされていた K^+ 電流を抑制する薬剤を見出すことを試みている。

1)Ohkawa,T. et al. (1995): Plant Cell Physiol. 36, 299-312.
2)大川和秋他 ：1994年度日本植物生理学会

1aG08

シラタマモ節間細胞の低張処理に伴う膨圧調節と液胞内カルシウムイオン

岡崎芳次・岩崎尚彦（大阪医大・生物）

汽水産車軸藻シラタマモの節間細胞の低張処理に伴う膨圧調節は、外液からCa^{2+}が細胞膜を介して細胞質に流入し、細胞質Ca^{2+}濃度が増加しないと起こらない。本実験では液胞から細胞質へのCa^{2+}の流入も必要かどうかを確かめた。その為に液胞内をCa^{2+}を含まない人工細胞液に置換した細胞を調製した。0.36 Osm海水に適応している節間細胞を実験に用いた。

まず、Ca^{2+}を含む人工細胞液で液胞内を置換して、0.36 Osm海水に戻すと、それだけで浸透圧の減少が起きた。その浸透圧の減少は灌流細胞を最初から0.52 Osm海水に移すと起きず、続いて0.21 Osm海水に移すと元の膨圧を回復した。

次に、Ca^{2+}を含まない人工細胞液で置換した細胞を0.52 Osm 海水から0.21 Osm海水に移したところ、同じように元の膨圧を回復した。このことは液胞内Ca^{2+}は低張処理に伴う細胞質Ca^{2+}濃度の増加に関与していないことを示唆する。

1aG09

粘菌*Polysphondylium*の細胞接着タンパク質gp64の*Dictyostelium*での発現と細胞膜上へのターゲッティング

舟本　聡，落合　廣（北大・理学研究科・生物科学専攻）

細胞性粘菌 *Polysphondylium* の糖脂質アンカー型タンパク質 gp64 は Fab を用いた細胞接着阻害実験により同定された．私たちは近縁の*Dictyostelium* 細胞にgp64 cDNAを導入し(形質転換体, H2), gp64タンパク質を発現させた．転換体H2のgp64量は細胞には元の1/10と少なく，大部分は培地に放出された．gp64を異種の細胞に発現させると細胞外に放出される原因を追及するために，gp64 の翻訳後の修飾に注目した．① 本来 gp64 は糖脂質アンカーを介して膜に保持されているが，H2のgp64もアンカーを持ったまま培地に放出されていることが分かった．② また，本来 gp64 は36 個のCys 残基がすべてS-S 架橋を形成しているが，H2 の gp64 も同様であった．しかし，③ H2 の gp64 には，本来の gp64 にあるフコースを含む糖構造が付加していないことが分かった．なお，gp64遺伝子の 3' 末端側に*Dictyostelium* の細胞接着タンパク質gp80遺伝子の 3' 末端ドメインを融合しキメラ遺伝子を発現させると、gp64 が培地に放出されず膜に保持された．

1pG01

葉緑体ゲノムにコードされたタンパク質のチラコイド膜透過機構の解析

浅井友実、野原哲矢、中井正人、杉浦昌弘*、遠藤斗志也（名大・理・化学、*名大・遺伝子実験施設）

高等植物葉緑体のチラコイドを構成するタンパク質のうち、核の DNA によってコードされているものは、細胞質ゾルで合成された後、葉緑体に輸送され、さらにチラコイドに局在化する。これらのタンパク質のチラコイド膜透過過程については、現在までに、エネルギー要求性の異なる３つの経路の存在が示唆されている。われわれは、昨年の本学会において、酸素発生系 33Kタンパク質のチラコイド膜透過に、ストロマに存在する SecA タンパク質ホモログ（SecA タンパク質；大腸菌等におけるタンパク質の細胞質膜透過において必須の役割を担っている）が関与している事を報告した。本研究では、葉緑体 DNA にコードされているタンパク質の中で、チラコイドに局在化するシトクロム f について、そのチラコイド局在化機構の解析を行った。まず、タバコ葉緑体 DNA のシトクロム f 遺伝子を用いて、その前駆体タンパク質を *in vitro* において合成し、エンドウ緑葉から単離したチラコイドへの輸送実験を行った。その結果、チラコイド内へ輸送され、プレ配列部分が切除されたと考えられる成熟体が観察された。この輸送過程がナイジェリシンやアジ化ナトリウムで阻害される事からシトクロム f のチラコイド膜透過には、核コードの 33Kタンパク質の場合と同様、ストロマの SecA タンパク質が関与していることが示唆された。

1pG02

高等植物葉緑体 SecY タンパク質の cDNA クローニングと機能解析

野原哲矢、中井正人、遠藤斗志也（名大・理・化）

Sec タンパク質は、大腸菌等の原核生物におけるタンパク質の細胞質膜透過反応において重要な役割を担っているタンパク質である。われわれは、高等植物葉緑体における SecA タンパク質ホモログを同定し、その機能解析により、葉緑体内のチラコイドへのタンパク質の輸送に、原核生物型のタンパク質輸送装置が関与していることを明らかにした[1-2]。本研究では、SecA タンパク質とともに大腸菌におけるタンパク質輸送装置の中心的役割を担っている SecY タンパク質の高等植物葉緑体におけるホモログの同定と、その機能解析を試みた。まず、シロイヌナズナの SecY の cDNA クローンを単離し、その全塩基配列を決定した。推測されるシロイヌナズナ SecY タンパク質は、551 アミノ酸からなり、ラン藻 SecY と40%、大腸菌 SecY と 33% の相同性を示した。また、そのN 末端に、葉緑体局在化のための transit 配列様の延長ペプチド配列を有すること、さらには、シロイヌナズナ SecY に対する抗体が、エンドウ葉緑体チラコイド膜の 35kDa のタンパク質を特異的に認識することから、葉緑体チラコイド膜に存在する SecY タンパク質ホモログであると結論した。現在、エンドウ SecY の cDNA クローニングと、チラコイド膜におけるタンパク質輸送への関与について検討中である。

1)Nakai et al. (1994) *J. Biol. Chem.* **269**, 31338-31341
2)Nohara et al. (1995) *FEBS Lett.* **364**, 305-308

1pG03

DTT処理による白質前駆体蛋白質の新生細胞内輸送
飯石可美典・松岡　健・中村研三（名大・農・生化）

我々はマウスDT40細胞を用いて，ニワトリ型ミトコンドリア前駆体タンパク質の細胞内輸送を調べている．（D. 影響）35S-メチオニンで短時間パルスラベルした後，過剰量の非ラベルメチオニンを加えてチェイスすると，ラベルされたポリペプチドは細胞内を移動し，約2時間後にはほぼ全てが細胞外へ分泌された．この分泌過程は，0℃，ATP枯渇，ミトコンドリア膜電位消失，ジスルフィド結合還元剤，SH基修飾剤，ATPase阻害剤，ATP合成阻害剤，プロテアーゼ阻害剤，ミトコンドリア膜透過阻害剤，ミトコンドリア内膜電位消失

1pG04

シロイヌナズナのプラスチド局在性シャペロニン10 (AT2) のcDNAクローニングとその発現

河本恭子，鳴田知生，西村幹夫　（基生研・細胞生物）

シャペロニン10 (cpn10) はシャペロニン60 (cpn60) とともにミトコンドリアとプラスチドでタンパク質の折りたたみに働いている．14量体のcpn60に対して7量体のcpn10が結合して機能すると考えられている．最近，ホウレンソウのプラスチド型cpn10がcpn10様のドメインが2つタンデムにつながった構造であることが報告された．

今回，演者らがシロイヌナズナより単離したcpn10 (AT2) のcDNAは全長958塩基で，253アミノ酸からなるタンパク質をコードしていた．ホウレンソウのプラスチド型cpn10とはアミノ酸レベルで61%の同一性を示した．AT2タンパク質はN末端に51アミノ酸のトランジットペプチドを持ち，その後ろにcpn10様のドメインが2つ(D1とD2)つながったプラスチド型cpn10に特徴的な構造であった．D1とD2の同一性は41%であった．AT2遺伝子はゲノムあたり1コピーであることが示唆された．AT2のmRNAは葉で多く蓄積しているとともに根でも蓄積が見られ，mRNAの蓄積量は熱処理によって増加した．N末端にヒスチジンタグを付けたAT2タンパク質を大腸菌内で発現させ，特異抗体を作製した．イムノブロット解析よりシロイヌナズナ粗抽出液に約22kDaのタンパク質が検出され，AT2がタンデムのままで機能していると考えられた．現在，AT2の機能を解析するために形質転換植物を作製中である．AT2のオリゴマー構造について大腸菌の発現産物をゲルろ過とクロスリンク法によって解析したので，その結果もあわせて報告する．

1pG05

シロイヌナズナの3種の液胞プロセシング酵素の発現様式

木下　哲[1,2]，西村いくこ[1,2]，西村幹夫[1,2]（[1]基生研・細胞生物，[2]総合研究大学院大学・生命科学）

液胞プロセシング酵素（VPE）は様々な種子タンパク質の成熟化や活性化に関わっている新規のシステインプロテイナーゼであるが，VPEの活性は種子のみならず，根，胚軸，葉等でも検出される．この結果は，栄養器官でも，種子と同様の液胞プロセシングの機構が働いていることを強く示唆している．

今回我々は，シロイヌナズナのゲノミックライブラリーより3種類の遺伝子（α-VPE, β-VPE, γ-VPE）を単離し，これらの発現様式を解析した．その結果，α-VPEとγ-VPEは葉等の栄養器官特異的で，β-VPEは種子特異的な遺伝子であることが分かった[1,2]．ついで，それぞれのプロモーター領域にGUS遺伝子をつないでシロイヌナズナとタバコに導入したところ，β-VPEプロモーターは両植物の種子とタバコの花粉に強く発現していた．一方，α-VPEとγ-VPEは老化子葉などの組織のほか，排水組織や根と胚軸の境目において顕著に発現していた．さらに，エチレンやサリチル酸による発現誘導の結果についてもあわせて報告する．

1) Kinoshita, T. *et. al.* (1995) *Plant Mol. Biol.*, 29: 81-89.
2) Kinoshita, T. *et. al.* (1995) *Plant Cell Physiol.*, in press.

1pG06

ヒマ液胞プロセシング酵素の酵母細胞における発現

平岩呂子[1, 2]，西村いくこ[1, 2]，井上香織[1, 2]，和田洋[3]，西村幹夫[1, 2]（[1]基生研・細胞生物，[2]総合研究大学院大学・生命科学，[3]東大・教養）

液胞プロセシング酵素（VPE）は高等植物の液胞タンパク質の成熟化に関与する酵素である[1)]．演者らは単離したVPEのcDNAを用いた解析から，本酵素が不活性型前駆体として合成されることを既に報告した[2-3)]．VPEの活性発現にはプロ領域の除去が必要であると考えられるが，この活性発現機構を解析するため，酵母でVPEの発現を試みた．

GAL1プロモーターの下流にVPE前駆体（pVPE）cDNAをつないだ融合遺伝子を酵母株に導入した．抗VPE抗体を用いたイムノブロットにより，59kDaのpVPEが検出された．細胞分画の結果，pVPEは液胞に局在することが示された．この59kDaのpVPEはツニカマイシン処理により分子量の低下が見られることから，ヒマVPEは糖鎖をもたないが，酵母細胞内ではpVPEにN結合型糖鎖付加が起こっていると考えられた．pVPEはgalactoseによる誘導3時間後から減少し，それに伴ってVPE活性の上昇が見られた．この不活性型pVPEから活性型VPEへの変換は液胞内で起こっていることが示唆された．以上の結果を基にVPEの活性発現機構について考察する．

1) Hara-Nishimura, I. *et al.* (1995) *J. Plant Physiol.*, 145: 632-640.
2) Hara-Nishimura, I. *et al.* (1993) *Plant Cell*, 5: 1651-1659.
3) Hiraiwa, N. *et al.* (1993) *Plant Cell Physiol.*, 34: 1197-1204.

1pG07

種子細胞におけるゴルジ体を経由しない液胞タンパク質の輸送経路の存在

西村いくこ[1]，幡野恭子[1,2]，西村幹夫[1]（[1]基生研・細胞生物，[2]京大・総合人間）

種子タンパク質の細胞内輸送経路については，粗面小胞体（rER）で合成されたタンパク質がゴルジ体を経由して液胞へ輸送されると考えられてきた．この経路は酵母の液胞タンパク質の細胞内輸送過程と類似のものとして受け入れられてきたが，今回，カボチャ種子タンパク質がゴルジ体を経由しないで液胞へ輸送されることを示唆する結果を得たので報告する．

カボチャ種子タンパク質の前駆体はrERからデンスベシクルと名付けた輸送小胞を経由して液胞へ送られ，この液胞はやがてプロテインボディへと変換する．ERに局在することが知られている分子シャペロンBiPの抗体を作製し，これを指標に種子タンパク質の輸送経路を解析した結果，ERのみならず，輸送小胞であるデンスベシクル及び最終蓄積部位プロテインボディにもBiPが存在することが確認された．BiPはERからゴルジ体に輸送された場合，ERに送り返す機構が働くことが知られているので，今回得られた結果は，種子細胞内ではゴルジ体非依存的なバイパスが機能しているという可能性を強く示唆している．登熟期のカボチャ種子の細胞では，種子タンパク質を含む直径100-300nmの電子密度の高い構造体が，ER内やリボソームが付着した小胞内に頻繁に観察される．このようにER上で大きく発達した構造体はゴルジ体に輸送されずに，液胞へ送られことが考えられる．

1) Hara-Nishimura, I. *et al.* (1993) *Plant J.*, 4: 793-800.

1pG08

マイクロボディ輸送シグナルとして働くC末端トリペプチドのアミノ酸配列特異性

林　誠、青木雅弘、近藤真紀、西村幹夫
（基生研・細胞生物）

［目的］我々は、カボチャ・リンゴ酸合成酵素の細胞内輸送機構の解析を行った結果、C末端に存在するアミノ酸配列（SRL）が、グリオキシソーム、緑葉ペルオキシソームおよび根の特殊化していないマイクロボディなどすべてのマイクロボディに共通するタンパク質輸送シグナルとして機能していることを明らかにした。一方、これまでに解析されたマイクロボディタンパク質のC末端には、ＳＲＬ以外の配列を持つものが知られている。そこで、形質転換アラビドプシスを用いて、マイクロボディ輸送シグナルとして働きうるC末端トリペプチドのアミノ酸配列を同定した。

［結果］リンゴ酸合成酵素のC末端アミノ酸配列の一部をアミノ酸置換した１０アミノ酸からなるペプチドをコードする合成オリゴヌクレオチドを作成し、β-グルクロニダーゼ遺伝子のストップコドンと置き換えた。これらのキメラ遺伝子をアラビドプシスへ導入し、発現された融合タンパク質の局在性を免疫組織化学的方法によって検討した。その結果、高等植物のマイクロボディ輸送シグナルとして機能するC末端トリペプチドのアミノ酸配列は（S／A／C／P）-（K／R）-（L／M）であることが判明した。

1pG09

形質転換アラビドプシスにおける2Sアルブミン-PAT融合タンパク質の発現とその細胞内局在化機構

林　誠、鳥山可菜子、近藤真紀、西村いくこ、西村幹夫
（基生研・細胞生物）

カボチャ2Sアルブミンはプロテインボディのマトリクスに局在する種子貯蔵タンパク質である。このタンパク質はまずプレプロ型前駆体として粗面小胞体で合成されたあとに、デンスベシクルを経て、プロテインボディへ輸送されることが知られている（１）。我々は、2Sアルブミンの局在化機構をさらに詳細に解析するため、カボチャ2SアルブミンとPAT（phosphinotricin acetyltransferase）をつないだ融合タンパク質（SB）をアラビドプシスで発現させ、細胞内における挙動を検討した。

2Sアルブミンの全長とPATをつないだSB1融合タンパク質およびシグナルペプチドのみをつないだSB4融合タンパク質については、播種後2週目の形質転換植物体中には検出できなかった。一方、シグナルペプチドから2Sの小サブユニットまでをPATとつないだSB2融合タンパク質は、野生型アラビドプシスの細胞内には見られない新規の小胞に局在していた。また、薬剤耐性試験を行ったところ、SB1とSB4は10μg/ml phosphinotricinに対して耐性を示し、SB2は感受性を示した。

以上の結果から、2Sアルブミンの細胞内局在化機構を考察する。

（１）Hara-Nishimura, I. et al., Plant J (1993) 4: 793-800

1pG10

グリオキシゾームリンゴ酸脱水素酵素前駆体のＮ末端領域はマイクロボディへの輸送シグナルである

加藤朗、林誠、近藤真紀、西村幹夫（基生研・細胞生物）

発芽カボチャ子葉に見出されるグリオキシゾームリンゴ酸脱水素酵素(gMDH)はグリオキシル酸回路を構成する一酵素であり、Ｎ末端に３６アミノ酸からなる延長配列を持つ高分子量前駆体として合成される。このＮ末端アミノ酸配列は、同様に高分子量前駆体として合成されるグリオキシゾームクエン酸合成酵素(gCS)やチオラーゼのＮ末端と相同性が高く、２つの保存配列が存在する(1)。gCSのＮ末端領域はマイクロボディへの輸送シグナルとして機能することから、gMDH前駆体のＮ末端領域にもマイクロボディへの輸送シグナルとしての機能が期待される。そこでgMDHのＮ末端領域の役割を明らかにするためＮ末端４３アミノ酸をβ-グルクロニダーゼに連結した融合蛋白質をシロイヌナズナにおいて発現させた。形質転換植物における融合蛋白質の細胞内局在性を免疫電顕によって、またプロセシングをイムノブロットによって解析した。更に延長配列内にアミノ酸置換を導入することにより保存領域の役割について検討を行った。その結果、１）gMDH前駆体のＮ末端配列はマイクロボディへの輸送シグナルとして機能すること、２）延長配列Ｎ末端側に位置する保存領域が融合蛋白質の輸送に関与すること、３）延長配列Ｃ末端に保存されたシステイン残基が延長配列のプロセシングに関与することが明らかになった。

(1) Kato et al., Plant Mol. Biol. 27: 377-390. (1995)

1pG11

プラスチド発達過程におけるプラスチド核様体構成成分の分析

三角修己、佐藤直樹、黒岩晴子[1]、黒岩常祥[2]（東京学芸大・生命科学、[1]共立女子短大・文、[2]東大大学院・理・生物科学）

エンドウの葉の発達過程で、プラスチドが発達する播種後６日目には、プラスチド核様体は包膜に沿って配置し、葉緑体が成熟する14日目では、チラコイド膜周辺に移る。単離した核様体を構成するタンパク質をSDS-PAGEによって分析した結果、６日目と14日目では、多くのバンドは両者に共通していたが数本のバンドについて量の違いがみられた。プラスチドDNAに結合するDNA結合タンパク質PD1 (87 kDa), PD3 (130 kDa)をウェスタン法で分析した。これらのタンパク質は、６日目の葉の細胞で多く発現し、14日目では減少していた。しかし、単離した核様体について分析するとこれらのタンパク質の量はほぼ一定であった。この結果は、PDタンパク質は、プラスチドの発達する若い時期に大量に合成され、その後はプラスチドDNAと共に分配されていくということを示唆している。

1pG12

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の核形態と転写産物の空間的、量的な解析

戸田恭子、高野博嘉、高橋秀典、黒岩晴子[1]、黒岩常祥
（東京大・大学院理学系・生物科学、[1]共立女子短大・文科）

原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae*10D は、植物細胞の遺伝子制御や核とオルガネラとの相関を調べるのに適した次のような特質を持つ。まず、細胞内には、核、ミトコンドリア、色素体がそれぞれ1つずつこの順に並んでいるので、核や転写産物とオルガネラとの位置関係が見やすい。また、核ゲノムサイズは色素体を持つ真核生物の中では最小(14Mbp)で、解析がしやすい。そこで染色体と、染色体 DNA の転写についての分子細胞学的研究を行った。

蛍光顕微鏡と TEM により細胞核を観察した結果、分裂時の核は球形だが、G_1、S 期の核は1部が突起状に変形してミトコンドリアに接することがわかった。次に核の形態と個々の染色体の挙動との相関を調べるために、パルスフィールドゲル電気泳動で染色体を解析した。その結果、*C. merolae* は 420kbp から 2050kbp の 17 本の染色体を持つことが分かった。その内、最小の染色体（420kbp）断片をクローン化し、構造解析した。サザンハイブリダイゼーションの結果、33 のうち 24 のクローンが複数の染色体とハイブリするコピー配列のクローンであるが、9つは染色体特異的配列のクローンであることが分かった。この内、転写される DNA クローンや rRNA、アクチン遺伝子の転写産物の量的変動をノーザンハイブリダイゼーションで解析した。*in situ* hybridization による rRNA の細胞内の局在の解析と合わせて報告したい。

1pG13

ピンポイント分子生物学へ向けて：（1）選択的に単離したミトコンドリアで”ミト”コンドリアと描く

黒岩常祥，高野博嘉，佐々木成江，松永幸大，東山哲也，黒岩晴子[1]（東大大学院・理・生物科学，[1]共立女子短大・文）

細胞質遺伝を分子ﾚﾍﾞﾙで研究する手段として究極は，狙った特定の組織内細胞(ﾋﾟﾝﾎﾟｲﾝﾄ)の中に局在する1個のｵﾙｶﾞﾈﾗ(ﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱや色素体など)を取り出して，それを物質的に解析することであろう．

これを可能にするには，先ず，1）高倍率の顕微鏡下で選択的に1個のｵﾙｶﾞﾈﾗを取り出すこと，2）取り出したｵﾙｶﾞﾈﾗを顕微鏡下で自由に動かし操作すること，更に，3）1個のｵﾙｶﾞﾈﾗからDNA，RNA，ﾀﾝﾊﾟｸ質等の分子を抽出し解析すること，ができなければならない．

我々は，ﾏｲｸﾛﾀﾞｲｾｸｼｮﾝ装置（Zeiss Palm-Laser Microscope System）のﾚｰｻﾞｰ刃と光ﾋﾟﾝｾｯﾄの先端を改良し極度に鋭利にすることによって自由にオルガネラを動かすことに成功した．この装置を用いて，粘菌から単離したﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱを用いて”ミト”ｺﾝﾄﾞﾘｱと描いた．この方法をオルガネラクラフト(ﾐﾄｺﾝﾄﾞﾘｱｸﾗﾌﾄ,色素体ｸﾗﾌﾄ)と名付ける．現在，3）に関して研究を進めているので合わせて紹介したい．

1pG14

紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* においてナリジキシン酸がオルガネラ核の複製・分裂に及ぼす効果

伊藤竜一、高橋秀典、戸田恭子、黒岩晴子[1]、黒岩常祥
（東京大・理学系・生物科学、[1]共立女子短大・生物）

C. merolae は葉緑体・ミトコンドリアを１個ずつ持つ単細胞藻である．両オルガネラはそれぞれ１個のオルガネラ核を持ち、細胞分裂に先立って､両方のオルガネラ・オルガネラ核が同時に分裂する.我々は *C. merolae* の 12h/12hの明暗同調系を用いて、DNAジャイレースの阻害剤ナリジキシン酸がオルガネラ核の複製・分裂に及ぼす効果を解析した．まず、同調培養した細胞をDAPI染色し、オルガネラ核の蛍光を顕微測光装置で測定して、オルガネラDNA合成期を決定した．両オルガネラでDNA合成は明期の開始から起こり、3h以内に終了した．明期の開始に 5 μg/ml のナリジキシン酸を添加するとオルガネラのDNA合成は阻害された．次に、明期の開始あるいは終了にナリジキシン酸を添加し、暗期に起こるオルガネラ核分裂を観察した．どちらの実験でも、50-70%の葉緑体核が不均等に分裂した．一方、ミトコンドリア核は全て均等分裂した．この結果は、オルガネラ核の複製及び葉緑体核分裂へのDNAジャイレースの関与、両オルガネラ核の分裂機構の違いを示唆するものである．

1pG15

細胞核,色素体核,ミトコンドリア核の分別単離と単離核のDNA/RNA合成活性の解析

酒井敦、佐々木成江、黒岩常祥（東大大学院・理・植物）

真核植物細胞は、細胞核、色素体核、およびミトコンドリア核に存在する３ゲノムの相互作用により成り立っている。したがって、植物細胞の増殖・分化を研究するためにはこれら３核の複製・転写を同時に捉える必要がある。我々はこのような観点から、タバコ培養細胞BY-2を材料として細胞核、色素体核およびミトコンドリア核を同時に単離し、その転写・複製活性を測定することを試みた。最初に、定量的サザンハイブリダイゼーションにより、単離した核の純度検定を行った。その結果、単離色素体核にはミトコンドリア核が最大5%程度混入してくるものの、それ以外の組合せについては相互混入率は1%以下であった。次に、これら単離核のin vitroにおけるDNA/RNA 合成活性を測定した。RNA 合成に関しては、単離細胞核、オルガネラ核ともにほぼ同等な活性（8-13 pmol UTP/μg DNA·h）を示す。一方、DNA合成に関しては単離細胞核の活性は極端に低く（0.1 pmol dCTP/μg DNA·h）、単離オルガネラ核（9-15 pmol dCTP /μg DNA·h）の1/100程度の活性しか示さなかった。この理由は現在検討中である。単離した３核の in vitro DNA/RNA 合成活性の性質および構成タンパク質（特にDNA/RNA ポリメラーゼとDNA結合タンパク質）の比較を行った結果も併せて報告する。

1pG16

高等植物の根の組織分化に関わるゴルジ体の形態学的観察

河津　維、河野重行、黒岩常祥（東大大学院・理学系・生物科学）

ゴルジ体は細胞の分裂や細胞内外への分泌に深く関わっており、各組織の細胞内でその数や分布が大きく変化する。ゴルジ体の研究は主に電子顕微鏡を用いてなされており、組織・細胞の極小部分における観察に主眼が置かれており、組織分化過程におけるその挙動は完全に把握されていない。そこで、ゴルジ体の形態・挙動を光学顕微鏡で観察する方法（テクノビット$DiOC_6$-DAPI二重染色法）を開発し、タバコ(*Nicotiana tabacum*)の根の組織分化にともなうゴルジ体の変化を観察した。根端では、表皮細胞、根冠起源細胞、根冠が表皮細胞に隣接している部分の３カ所で、特異的なゴルジ体の増幅が観察された。単子葉植物のトウモロコシ(*Zea mays*)においても同様な結果が示された。一方、伸長領域では表皮細胞のゴルジ体の増幅は観察されなかったが、根毛の基部の表皮細胞では明らかなゴルジ体の増幅が観察された。ゴルジ体の特異的破壊剤である1μMのbrefelidin A(BFA)をタバコとアラビドプシス(*Arabidopsis thaliana*)に処理をすると、根の伸長は正常に起こるが、根毛の伸長と根冠の形成が選択的に阻害された。根冠のみならず、根毛の形成にゴルジ体が関与している可能性が示唆された。さらに、ゴルジ体と組織分化との関係を詳しく調べるために、根毛の有無を標識にして、EMS処理したアラビドプシスからBFA非感受性株を現在単離している。

2aG01

ジャガイモ塊茎における液胞膜H^+-pumpの特性解析

遠藤千絵，箱山晋，前島正義[1]（北農試・畑研センター・品質チーム，[1]名古屋大・農・生物化学）

ジャガイモ塊茎等の貯蔵器官における液胞の機能を理解するために，ジャガイモ塊茎より生育段階を変えて液胞膜を調製してH^+-pumpの特性を解析した．

ジャガイモ（*Solanum tuberosum* cv. Touya）を圃場で栽培し，播種45，70，110日後の塊茎および収穫後4℃にて7カ月貯蔵した塊茎よりそれぞれ液胞膜を調製して，H^+-ATPase，H^+-PPaseの基質分解活性，H^+輸送活性を測定した．その結果，液胞膜タンパク質当たりの両酵素の活性は，基質分解，H^+輸送ともに検討した生育期間を通して高いレベルで存在することが明らかとなった．H^+-PPase活性は未熟塊茎で多く肥大に伴って半減した．また，両酵素のサブユニットの分子サイズをヤエナリ下胚軸の液胞膜H^+-ATPase，H^+-PPaseサブユニットの特異抗体を用いた免疫ブロットで調べたところ，ジャガイモ塊茎ではH^+-ATPaseのA,Bサブユニットのサイズはそれぞれ65-, 54-kD，H^+-PPaseは75-kDであることがわかった．

以上のように，貯蔵器官であるジャガイモ塊茎において，他の植物組織と比べても充分量の液胞膜H^+-pump活性がみられたことから，膜を介した活発な物質輸送の存在が示唆された．

2aG02

液胞膜H^+-ATPaseのH^+輸送能と低温の影響

山口峰生、中村善行[1]、小林秀行[1]、笠毛邦弘[2]（筑波大・生物、[1]農水省・食総研、[2]農水省・生物研）

液胞はH^+輸送に関与する酵素等を介して、細胞内のpH調節を行っている。低温に曝されることにより植物細胞では細胞内の酸性化が起こり、これに液胞膜H^+-ATPaseが関与していることが明らかになっている。我々は低温馴化の一環としてイネ培養細胞（*Oryza Sativa* L. cv.Nipponbare）が低温に曝されることにより液胞膜H^+-ATPaseのH^+濃度勾配形成が高まることを観察し、その機構を明らかにするためにH^+濃度勾配形成と脂質との関連について調べたので報告する。

常温で培養した細胞と低温処理（５℃、３～１０日）した細胞から液胞膜をショ糖とソルビトールの二層による浮遊遠心法により単離し、アクリジンオレンジの蛍光の変化からH^+濃度勾配形成を測定した。常温で培養した細胞に比べ低温処理した細胞では低温でH^+濃度勾配がより大きく形成された。液胞膜H^+-ATPaseは、取り囲む脂質によって活性が変化することが知られており、液胞膜の脂質組成を調べたところ、低温処理した細胞ではホスファチジルエタノールアミンが増加し、ジガラクトシルジグリセリドが減少していることがわかった。これら脂質と低温馴化の関連を明らかにするため現在、H^+-ATPaseの再構成系を用いて解析中である。

2aG03

キクイモ塊茎における細胞膜H^+-ATPaseのC末端自己阻害ドメイン切除による活性化.

上岡華代，長谷　昭　（北海道教育大・函館・生物）

キクイモ塊茎から組織切片を切り出し培養すると，カルス化の有無に拘わらず細胞膜H^+-ATPaseの基質加水分解活性及びH^+-ポンプ活性が，急激に増加することを日本植物学会第59回大会で既に報告した．このような活性化をもたらす機構を調べるために，細胞膜H^+-ATPaseに対する特異的抗血清を用いて免疫ブロットを行ったところ，細胞膜H^+-ATPaseポリペプチドの低分子側への移動が認められた．また更に，細胞膜H^+-ATPaseC末端近傍保存配列に対する特異的抗血清を用いた免疫ブロットでは，キクイモ培養組織において一部の細胞膜H^+-ATPaseのC末端自己阻害ドメインが切除されている可能性が示された．そこで，培養組織の細胞膜H^+-ATPaseとトリプシン処理してC末端自己阻害ドメインを切除した塊茎の細胞膜H^+-ATPaseとの反応速度論的比較を行った．トリプシン処理によりC末端部分が除去された細胞膜H^+-ATPaseの基質加水分解活性は，未処理の1.5倍になり，Km値は約1/4となったが，最適pHやV_{max}には大きな変化はなかった．それと同様に培養組織ではカルス化の有無に拘わらず細胞膜H^+-ATPaseのKm値は約1/2に低下した．

以上の結果は，キクイモ塊茎培養組織では一部の細胞膜H^+-ATPaseがC末端自己阻害ドメインが切除され，基質に対する親和性が増すことによって活性化されていることを示唆している．

2aG04

ポリアミンによるエンドウ細胞膜ATPaseの阻害効果

樽井 裕，飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

Polyamines inhibited the ATPase activity of the plasma membrane isolated from elongating internodes of red light-grown pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. Plasma membrane was isolated from the microsomal fraction by zonal centrifugation followed by sucrose density gradient centrifugation. The spermine-sensitive ATPase activity co-migrated with glucan synthase II in the sucrose gradient (the peak, at about 1.16 g/ml); the nitrate-sensitive ATPase activity and the IDPase activity were well separated from the spermine-sensitive activity. The vanadate-sensitive ATPase activity showed a broader distribution and was located more to the position of the nitrate-sensitive one. The Lineweaver-Burk plot indicated that spermine inhibits the ATPase activity in a competitive fashion (Ki = 3mM). The detergent Softes 12 caused about two-fold stimulation of the ATPase activity. In the presence of stimulating concentration of the detergent, spermine inhibited the ATPase activity similarly, indicating that spermine does not inhibit the ATPase activity by affecting the tightness or sidedness of the membrane vesicles. It is also suggested that the spermine-acting site and the catalytic site of the ATPase face the same side of the membrane. The inhibitory effect of spermidine was similar to that of spermine, whereas putrescine and cadaverine showed a much smaller inhibition.

2aG05

海産ラフィド藻*Heterosigma akashiwo*
P-type ATPase cDNAのクローニングと解析

庄野真理子[1]，和田雅人
（[1]植工研，筑波大・遺伝子実験センター）

これまでの植物生理学会で，海産ラフィド藻*H. akashiwo*の細胞膜上にP-typeのNa^+-ATPase活性を発見し，そのリン酸化反応中間体を指標にタンパク質の精製結果を行い，これが140kDaのシングルペプチドであることを示した。さらに，単離マイクロゾーム画分にATP依存のNa^+輸送活性を明らかにした。

P-type ATPaseの保存領域をプライマーに用いて，これまでに，2種のP-type ATPaseをクローニングした。しかし，これらは内膜系に局在し，目的とする細胞膜のNa^+-ATPaseではなかった。今回，より長いcDNA合成を行う逆転写酵素を用いて反応を行ったところ，新しく数種のDNAが合成された。それらをシークエンスした結果，動物のNa^+,K^+-ATPaseと高いホモロジーを持つものがあったので報告する。

2aG06

好酸性の紅藻イデユココゴメの細胞膜H^+-ATPaseのクローニング

太田尚孝、白川 仁[1]、内田浩二[2]、吉田充輝[1]、松尾雄志[2]、榎並 勲 (東理大・理・生物、[1]東理大・基礎工・生工、[2]オリエンタル酵母長浜生物科学研)

酸性温泉に生息する好酸性の単細胞藻 (紅藻) イデユココゴメ (*Cyanidium caldarium*) は、pH0という極限酸性領域でも生育できる唯一の光合成生物である。本藻は細胞内に核、ミトコンドリア、大きな1個の葉緑体をもつ絶対独立栄養の真核生物である。また、液胞をもたないのも特徴の一つである。これまでの筆者らの研究から、このような強酸性環境下で生育しているにもかかわらず、イデユココゴメの細胞内pHは、細胞膜H^+-ATPaseによりH^+を細胞外に放出させるH^+ポンプ作用により、中性pHに保持されている事が、明らかになっている。本研究では、この耐酸性を担っている細胞膜H^+-ATPaseをコードしている遺伝子をイデユココゴメのcDNAライブラリーからクローニングすることを試みた。まず、酵母や赤パンカビなどの細胞膜結合型でバナジン酸感受性のH^+-ATPaseのアミノ酸配列のコンセンサス領域を検索し、それをもとにプライマーを合成した。これを用いてPCR法によりプローブを作成し、cDNAライブラリーに対してスクリーニングした結果、約3.3kbのクローンを得ることができた。現在、その塩基配列を決定しているが、部分的な塩基配列(約1500)からみると、トマトの細胞膜H^+-ATPaseと高いホモロジーがあることが判明した。全塩基配列を決定中である。

2aG07

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC7942の硝酸イオン輸送系の膜結合性基質結合タンパク質の膜への結合と機能の関係

前田真一、小俣達男（名古屋大・農・応用生物科学）

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC7942の硝酸イオン輸送体は、基質結合タンパク質(NrtA)、膜貫通型タンパク質(NrtB)、ATP結合性タンパク質(NrtC, D)から構成されるABC型輸送体である。一般にグラム陰性細菌の基質結合タンパク質はペリプラズムに遊離して存在しているが、このラン藻のNrtAはリポタンパク質として細胞質膜に結合している（前田・小俣1995年度年会）。グラム陽性細菌では外膜がないために基質結合タンパク質の細胞質膜への結合が必要とされているが、グラム陰性細菌では基質結合タンパク質の細胞質膜への結合の意味は不明である。そこで我々はNrtAをペリプラズムに遊離するように発現させ、その機能を解析した。NrtAのシグナルペプチドをRhdAのものに変換したところ、遊離型のNrtAをペリプラズムに蓄積させることはできたが、その細胞では硝酸イオンの取り込み活性はなかった。このことからNrtAの機能にとって細胞質膜への結合が必須のものであることが明らかとなった。

2aG08

酵母の自食作用変異株の解析

白浜佳苗、野田健司、和田洋、大隅良典 （東大・教養・生物）

酵母は、栄養源飢餓条件下に自食作用を誘導する。自食作用は、大規模な膜現象を伴う自己の細胞質成分の液胞内での分解過程であり、その制御には多くの因子が関与する。私たちはこれまでに自食作用の過程に関する新たな知見を得ることを目的に、富栄養条件下でも自食作用を誘導する２つの*csc*変異株を単離している。今回、*csc1-2*変異を相補する酵母の染色体ＤＮＡを*csc1-2*変異株の窒素源飢餓条件下で死にやすいという表現型を指標に、クローニングした。遺伝子解析の結果、*CSC1*遺伝子は、第XIV番染色体上に存在し、437アミノ酸からなる推定分子量48.2kDaのタンパク質をコードし、*END13/VPS4*と同一であることが示された。Csc1pは、AAA (ATPase associated to a variety of cellular activities)ファミリーに属するATPaseである。現在、Csc1pの機能解析を行っており、その結果について報告する。

2aG09

シロイヌナズナの低分子量GTPase、Ypt7

武藤智恵子、佐藤雅彦、大隅良典、和田 洋(東大・教養・生物)

高等植物の液胞は細胞体積を増加させる際の空間充填コンパートメントとして機能する。私たちは高等植物の液胞形成機構を分子レベルで明らかにしたいと考え、シロイヌナズナの液胞形成に関与する遺伝子の同定を進めている。今回、液胞形成に機能すると考えられるYpt7について解析を行った。*Rab/Ypt*は細胞内の膜小胞輸送の過程でオルガネラ膜間の認識に機能する低分子量GTPaseをコードしている。動物のＲａｂ７は後期エンドソームにおいて、酵母のVam4/Ypt7は液胞においてそれぞれ機能している。動物・酵母・植物のRab７/Ypt7に共通に見られるGTP結合ドメインとエフェクタードメインの構造を手がかりに、シロイヌナズナのESTデータベースを検索し、４種のcDNAを見いだした。そのうち一つのcDNAは２０６アミノ酸からなるタンパク質をコードしており、このタンパク質は酵母のVam4/Ypt７と５５％の相同性を示した。このcDNAを酵母の変異株に導入し、表現型を観察したが、相補は見られなかった。シロイヌナズナではこの他に少なくとも３種の*Ypt*７相同遺伝子の存在が示唆された。それらに関しても解析を進めている。

2aG10

液胞形態形成に機能する低分子量GTP結合タンパク質，Vam4p

和田 洋（東大・教養・生物）

出芽酵母の液胞形態の形成には少なくとも９つの*VAM*遺伝子の機能が必須であることが遺伝学的解析により示されている．液胞が小胞化してしまう*vam4*変異を解析した結果，*VAM4*遺伝子は低分子量GTP結合タンパク質，Rab/Ypt7の酵母の相同遺伝子，*YPT7*と同一であることが示された．このことは液胞形成の後期の段階に，Rab7/Ypt7pが機能することを示している．低分子量GTP結合タンパク質のヌクレオチド結合活性を変化させる変異を*VAM4*遺伝子に部位特異的に導入し，酵母細胞での機能を解析したところ，液胞形態形成過程にはGTP結合型のVam4/Ypt7pが機能していることが示された．現在，酵母の*VAM4/YPT7*遺伝子を*Arabidopsis thaliana*に導入した形質転換植物を作成する試みを進めている．これまで，酵母Vam4/Ypt7pを高レベルで発現するラインをひとつ得ているが，顕著な表現型を同定できていない．

2aG11

低分子量GTP結合タンパク質*ARA* familyの細胞生物学的研究

上田貴志、中野明彦[1]、塚谷裕一、内宮博文（東大・分生研、[1]東大・生物科学）

低分子量GTP結合タンパク質は、細胞内において、多様かつ重要な働きを担っていることが知られている。しかし、それらの植物における機能の多くは未解明のままである。我々はその中でも、分泌や細胞内輸送経路において働く*rab/ypt* familyに属する遺伝子群、*ARA* familyに関して研究を行ってきた。その結果、これらの遺伝子産物が、他生物の相似遺伝子と同様の生化学的性質を有すること、アラビドプシス内にこれらのGTPase活性を促進する因子が存在すること、さらに、*ARA* familyの一員である*ARA-4*の産物が、ゴルジ体及びその周辺の小胞に存在することなどを明らかにしてきた。そこで、これらの遺伝子産物の機能をより詳細に解析する目的で、酵母を用いた解析を行ったのでその結果を報告する。まず、*ARA-2,ARA-3,ARA-4*の各遺伝子が、酵母の*ypt* mutants *(ypt1,sec4,ypt3,ypt6,ypt7)*においてその変異を相補するかを調べた。その結果、これらの遺伝子は、いずれも酵母の*YPT*遺伝子を相補しなかった。さらに*ARA-4*に関しては、その産物が、特定の*ypt* mutants *(ypt1,sec4,ypt3)*の生育を著しく阻害した。そこで、Ara-4pを発現させた*ypt* mutantsを電顕観察したところ、*ARA-4*は、それぞれの*ypt* mutantにおいて分泌経路の異なったステップを阻害していることが解った。現在、この様な現象を指標にして、Ara-4pと相互作用する因子の探索を行っている。

2aG12

小胞体ーゴルジ体間輸送に必須な Sar1 GTPase ータバコ *SAR1* 遺伝子の BY-2 細胞と酵母での機能解析

竹内雅宜，中野明彦（東大・院理系・生物科学）

低分子量 GTPase である Sar1 タンパク質は，酵母において，小胞体からゴルジ体へ移行する輸送小胞の形成に必須であることが証明されている．この *SAR1* 遺伝子のホモログが，最近，高等植物において次々に同定されてきた．植物の *SAR1* 遺伝子の機能を明らかにすることは，多細胞系におけるタンパク質輸送の意義を理解していくために有用と考え，まず酵母とタバコ培養細胞 BY-2 を用いた機能解析を試みた．

昨年の本大会で報告したように，われわれは，すでにクローン化されていたシロイヌナズナ *SAR1* 遺伝子をプローブに用い，BY-2 細胞の cDNA ライブラリーよりクロスハイブリダイゼーションによってタバコ *SAR1* 遺伝子を単離した．このタバコ *SAR1* 遺伝子を，酵母の *GAP1* プロモーターにつなぎ，酵母細胞で発現させたところ，酵母の *SAR1* 遺伝子欠失の致死性を相補した．この相補は完全ではなく，23-35.5℃では相補するが 37℃では相補しないという温度感受性を示した．この性質は導入したタバコ遺伝子のコピー数にはよらなかった．また，酵母の *sar1* ts 変異株 D32G と E112K はタバコ *SAR1* 遺伝子によって相補できなかった．この酵母とタバコ遺伝子の性質の違いは，Sar1 タンパク質の機能を制御する因子との相互作用の違いに起因する可能性が考えられる．

また，植物細胞において *SAR1* 機能を直接解析する系として，優性致死変異を持つタバコ *SAR1* 遺伝子を BY-2 細胞に導入し，条件的に発現させて表現型を調べようという実験を進めている．その結果についても報告したい．

2pG01

根の発達にともなうK^+吸収・移行速度の変化と膜局在性輸送タンパク質の発現との関連

大家理哉、柴坂三根夫（岡山大資源生物科学研究所）

昨年度の日土肥大会で、我々はオオムギ、トウモロコシ、エンドウでは根の先端より基部方向に離れた部位にK^+の転流活性のピーク（移行中心）が存在すること、そこでは内皮の Casparianbands が発達し、また維管束組織が成熟した部位であることを報告した。移行中心におけるK^+の放射方向の輸送には Apoplastic barrier までに Symplasm への取り込みがおこっていると思われる。そこで本報告では、オオムギ根を用い、細胞内へのK^+の取り込みに関与している原形質膜 H^+-ATPase について、ELISA 法により根軸に沿ったアポタンパク質の定量と、免疫組織化学的染色による根組織中のその局在性を調べた。また xylem flow を担う水の輸送に関与する Water channel についても報告する予定である。

2pG02

アラビドプシスK^+channel の構造と機能解析

魚住信之、W. Gassmann [1]、Y. Cao[1]、
J. I. Schroeder [1]
(名大生物分子応答研究センター、UC San Diego[1])

必須イオンのK^+は栄養元素、細胞生長の際の浸透圧調整、生体膜におけるイオン拡散電位形成に重要な役割を担い、K^+チャネルの開閉は細胞情報伝達の初期過程に寄与する。*Arabidopsis thaliana* cDNA ライブラリーより、K^+-channel を 2 種類クローン化した。そのうちの一つは推定されるアミノ酸配列から、内向き整流性 6 回膜貫通構造を有していた。クローン化したK^+-channel をアフリカツメガエル卵母細胞に発現させて膜電位依存性、イオン選択性を検討した。発現量に依存して、 threshold potential が膜電位の小さくなる方向へ移動することが明らかとなった。イオン透過領域の同定とそれに重要なアミノ酸を検討したところ、Na^+の共存でK^+電流の透過を阻害する変異蛋白質が得られた。本変異K^+-channel をK^+取り込み能の欠損した突然変異酵母に導入したところNa^+による生育阻害が観察された。生理条件下においてもNa^+がK^+の透過を阻害することが強く示唆された。

2pG03

シロイヌナズナ無機リン酸トランスポーターの分子生物学的解析

光川典宏，奥村暁，白野由美子，佐藤茂，柴田大輔
（三井業際植物バイオ研究所）

植物の無機リン酸輸送の分子機構についての知見は少ない。我々は、酵母無機リン酸トランスポーター遺伝子(*PHO84*)[1]のホモログを検索するために、植物のExpressed Sequence Tag (EST)データベースを利用し、一つのESTを得た。このESTクローンをプローブとしてシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)から 2 種のcDNAクローンと 5 種の核遺伝子クローンを単離した。これら遺伝子の塩基配列から推定したアミノ酸配列は、酵母*PHO84*遺伝子とは約30%の相同性を示し、相互には70%以上の相同性を示した。

現在、遺伝子産物の機能を確認するために、酵母変異体(MB192)[1]と形質転換植物を用いて解析を実施している。

1) M.Bun-ya, M.Nishimura, S.Harashima and Y.Oshima (1991) Mol Cell Biol 11: 3229-3238

2pG04

葉緑体による亜硝酸イオンの取込

村田祐二、尼子克己、高橋正昭（大阪府大・農・応用生物化学）

土壌養分から吸収された硝酸イオンは、細胞質で硝酸還元酵素により亜硝酸に還元され、葉緑体などのプラスチドに取り込まれる。単離葉緑体に光照射すると亜硝酸イオンが吸収されるが、亜硝酸イオンの還元や同化が続いて起こるため、輸送過程のみについての解析は困難であった。我々は今回、暗条件下で、無傷葉緑体による亜硝酸イオンの輸送を測定することが出来たので報告する。

亜硝酸ナトリウムを含んだ反応液（外液）にホウレンソウ無傷葉緑体を加え、暗条件下で一定時間放置した後、シリコンオイル遠心法により葉緑体のみを分離し、葉緑体中に含まれる亜硝酸イオンの量をスルファニルアミド法により測定した。

暗条件下、外液（pH=6.8）に亜硝酸ナトリウムのみを加えたときには、葉緑体内への亜硝酸イオンの輸送はみられなかった。しかし外液に5 mMのATPを添加したところ、暗条件下でも葉緑体内への亜硝酸イオンの輸送がみられ、ATP依存の亜硝酸イオンの輸送が示された。また外液のpHを下げても亜硝酸イオンの輸送がみられ、プロトンによる亜硝酸イオンの共役輸送が示唆された。

2pG05

植物の窒素トランスポーターに相同性を示す葉緑体包膜タンパク質のイオン輸送特性

高橋　正昭、杉浦　美羽[1]（大阪府大・農・応用生化，[1]神戸大・自然科学）

土壌中から吸収された硝酸の植物による還元的同化において、亜硝酸への還元は細胞質で行われ、次いで細胞質で生成した亜硝酸は直ちに葉緑体内に取り込まれ亜硝酸に還元される。この亜硝酸のストローマへの早い輸送には葉緑体包膜に局在する亜硝酸に特有なトランスポーターが働くと考えられているが実体については明らかになっていない。我々はキュウリの緑化中の芽生えから、これまで報告された植物の窒素化合物トランスポーターに相同性を示すトランスポーターをコードすると思われるcDNAをクローニングした。本実験ではこのcDNAによって形質転換した大腸菌および酵母のイオン輸送の性質を検討することにより、葉緑体包膜に局在するこのタンパク質の機能を明らかにする。

酵母のアスパラギン酸、グルタミン酸、グリシンに対する吸収速度は形質転換によって変化しなかったが、グルコース存在下で認められる亜硝酸に対する取り込みは形質転換により遅くなり、細胞内の亜硝酸の蓄積も抑えられた。形質転換大腸菌は塩素酸耐性を示し、このタンパク質はこれらの細胞では外向きの亜硝酸輸送を行うことが明らかとなった。

2pG06

亜硝酸トランスポーター形質転換タバコの特性

岡　桂子、尼子　克己、高橋　正昭（大阪府大・農・応用生化）

硝酸から還元されて生成した亜硝酸の葉緑体への移行は無機窒素の還元同化の効率を維持する大切な過程であり、また、炭酸固定とのバランスを調整するためにも機能していると推定される。我々は亜硝酸の輸送を行う、緑色組織に特有なトランスポータcDNAをクローニングした。本研究では、このトランスポーターの発現量の増加や抑制、非緑色組織での発現などにより、植物の窒素の土壌中からの吸収と移行、および、同化効率にどのような影響が及ぼされるかを調べ、亜硝酸トランスポーターの機能を明らかにするとともに、亜硝酸の輸送能力を変えることによる窒素同化効率の改変の可能性について検討した。

亜硝酸トランスポーターcDNAをpBI121のT-DNA領域中にあるCaMV35Sプロモーターの下流の*Pst*I、*Sac*I部位の間に挿入し、*A. tumefaciens* LBA4404を用いてタバコに導入した。形質転換植物はカナマイシン耐性を指標にして選抜した。

形質転換植物の亜硝酸吸収、成長に対する培地への亜硝酸の添加の影響、他の窒素化合物の亜硝酸トランスポーターの発現量に対する影響などについて報告する。

2pG07

イネチオレドキシンhの細胞間移動性に関する解析

石渡　裕，藤原　徹，林　浩昭，*William J. Lucas，茅野　充男（東大大学院・農学生命科学，*University of California, Davis）

植物における篩管は，物質の貯蔵，転流だけでなく，植物体レベルでの信号伝達にも関わる重要な組織である．篩管液タンパク質は，こうした篩管機能に重要な役割を演じていることが示唆されている．また篩管液タンパク質は，分化の途中で脱核する篩管細胞ではなく，伴細胞で合成され，細胞間連絡を通って篩管中に移行すると推定される．

我々は，これまでにイネの篩管液中にあるタンパク質として，チオレドキシンhを同定した．これをコードしているcDNAをもとに，大腸菌で発現させたタンパク質は，チオレドキシンとしてのジスルフィド結合還元能を持ち，機能タンパク質であると考えられた．そこでこのタンパク質の細胞間移動性を検定する目的で，マイクロインジェクション法による植物体への導入を試みた．イネチオレドキシンhを蛍光標識した後に，タバコ葉肉細胞に導入したところ，細胞間を移動することが確認された．分子量の類似した大腸菌チオレドキシンについても同様の実験を行ったところ，移動が観察されなかったことから，イネチオレドキシンhタンパク質中に，細胞間移動能に関わる配列，もしくは構造があることが示唆された．

2pG08

ラン藻 *Synechococcus* sp. PCC 7942 において硫酸欠乏時に誘導される *rhdA* の調節領域の解析

鈴木英治, David E. Laudenbach（ウェスタンオンタリオ大・植物科学）

rhdA 遺伝子産物は、*Synechococcus* sp. PCC 7942 において硫酸欠乏時にペリプラズムに多量に発現される蛋白質である。硫酸透過酵素系遺伝子群と *rhdA* は染色体上でクラスターを形成しているが、これら遺伝子の硫酸欠乏時における転写活性化の機構は共通であると推測される。本研究では、転写制御に関与すると考えられる *rhdA* 遺伝子上流の領域について解析を行なった。

rhdA 遺伝子の転写開始点は、S 1マッピング法により、翻訳開始コドンの 31 bp 上流のT残基であることがわかった。次に *rhdA* 遺伝子の上流配列をレポーター遺伝子 GUS（β-グルクロニダーゼ）につないで、翻訳融合遺伝子を構築し、ラン藻に導入した。形質転換株では、硫酸欠乏に伴い GUS 活性の増大が認められた。さらに上流領域について 5' 欠失シリーズを作成し、各クローンについて調べたところ、転写開始点の 46 残基上流まで除去しても GUS 活性の誘導は保持された。-45 残基以降には、σ^{70} に認識される、プロモーター配列（-10 および -35 配列）が認められた。以上のことから、調節蛋白質の結合部位があるとすれば、それはプロモーターより下流部位である可能性も考えられる。

2pG09

トランスジェニック･アラビドプシスを用いた硫黄栄養応答性遺伝子の発現制御機構の解析

平井（横田）優美、藤原徹、内藤哲[1]、茅野充男　（東大院・農学生命科学・応用生命化学、[1]北大・農・応用生命科学）

ダイス種子貯蔵タンパク質の1つβ-コングリシニンβサブユニットをコードする遺伝子は、硫黄栄養欠乏（S欠）に転写レベルで応答して発現が強く促進され、遺伝子発現のS欠応答機構を解明するために有用な遺伝子の１つである。演者らは、同遺伝子プロモーター領域とGUS構造遺伝子との融合遺伝子を導入したトランスジェニック･アラビドプシスを実験系に用いた研究を行っている。EMS処理した上記アラビドプシスの種子におけるGUS活性を指標にしたスクリーニングにより、S欠条件下でGUS活性の上昇しない株を１株単離した。また、内在性遊離メチオニン含量の高まる突然変異*mto*を、GUS融合遺伝子を持つトランスジェニック･アラビドプシスに掛合せにより導入すると、メチオニンに応答してβサブユニット遺伝子プロモーターの転写活性が低下する。この植物体をS欠条件で栽培し、転写活性とメチオニン含量との相関について検討した。

2pG10

硫黄および窒素栄養条件によるダイズ種子貯蔵タンパク質の合成制御機構

金　晧衍, 平井（横田）優美, 藤原　徹, 林　浩昭, [1]内藤　哲, 茅野　充男　（東大大学院・農学生命科学・応用生命化学, [1]北大・農・応用生命科学）

ダイズ種子貯蔵タンパク質β-コングリシニンはa, a', βサブユニットからなり，βサブユニットは含硫アミノ酸含量が著しく低い．硫酸イオン欠乏条件下でダイズを栽培すると、βサブユニットタンパク質の蓄積量は増加する。演者らは形質転換植物を用いた実験によβサブユニット遺伝子の発現が硫黄、および窒素栄養によって転写レベルで制御されていることを明らかにしてきた。

植物に吸収された硫酸イオンは還元されて窒素化合物である、O-アセチルセリンと結合してシステインとなり、さらにメチオニンが合成され，タンパク質合成などに利用される。登熟過程のダイズ未熟子葉の*in vitro*培養系を硫酸欠乏にすると，βサブユニットタンパク質量の蓄積は増加する．硫酸を通常濃度とし、システイン生合成の直前の前駆体O-アセチルセリン（OAS）を与えたところ，βサブユニットタンパク質の蓄積が増加することが分かった．このことから，OASを加えることで相対的な硫黄欠乏条件（窒素過剰条件）となることが示唆された．OASが硫酸欠乏反応の中間シグナルである可能性についてさらに解析を進めている．

2pG11

イネの苗におけるグルタチオン含量の日周変動

西村重喜, 渥美茂明（兵教大･自然系教育･生物）

温室で栽培した発芽6～20日後のイネ苗の葉身抽出液中における総グルタチオン量は、日の出とともに増加を始め、正午頃には最大となり生重量1g当たり約360nmolに達したが、日の入頃から次第に減少し、日の出前には最小の約70nmolを示した。還元型グルタチオンは、日の出前には総グルタチオン量の約45%を占めていたが、正午頃には約30%へと減少した。 しかし、生重量1g当たりでは、約32nmolから約110nmolに増加した。また、単離葉緑体中のグルタチオンの量も、葉身に見られた日周変動に対応した変化を示した。また、グルタチオンの大半は単離葉緑体中に見いだされた。日周変動は、発芽1カ月後までは顕著に観察されたが、その後、成長とともに変動は次第に小さくなり、出穂の頃にはほとんど日周変動を示さなくなった。このときの葉の生重量1g当たりの総グルタチオン量は、苗の時期の10%程度にまで減少した。実験室内で、無菌的に栽培したイネ稚苗を用いても、光周期にともなう総グルタチオン量の変動を再現することができた。この実験系において、培地中の硫酸イオンを欠乏させたところ、日周変動は観察されなくなった。グルタチオンの日周変動には、十分な硫酸イオンの供給が必要である。現在、この実験系を用いて日周変動によって日々消失するグルタチオンを取り込むチオールの特定を試みている。

3aG01

緑豆由来の抗酸化物によるアルキルパーオキシラジカルの除去

中尾まゆみ、小野莞爾、前田浩[1]（熊本大・理・生物科学、[1]熊本大・医・微生物）

本研究の目的は、緑豆に含まれるフラボノイドや有機酸が抗酸化物として働き、ROO˙を除去するかどうかを調べることであった。測定は、(a) ケミルミネッセンス法、(b) バクテリア活性に基づく抗酸化作用で示されるバイオアッセイ、(c) ROO˙による DNA 切断の抗酸化物による防御効果、の3方法を用いた。(a) の方法によるフラボノイドのROO˙除去活性の値は、カテキン、ルチン、ネオヘスペリジン、ラムネチン、ケルセチンで高かった。有機酸類では、クロロゲン酸、カフェー酸、タンニンが高い価を示した。(b) の方法では、ルチン、ラムネチン、クロロゲン酸、バニリン、バニリン酸が高い除去効果を示した。また、(c) の DNA 切断抑制系の結果と(b)のバイオアッセイの結果はお互いによく似ていた。以上の結果、緑豆のフラボノイドや有機酸類は、抗 ROO˙活性として強い抗酸化能力を持つことから、これらは植物体内で発生した活性酸素の scavenger であることが示唆された。

3aG02

エンレイソウ（*Trillium apetalon*）、オオバナノエンレイソウ（*T.kamtschaticum*）におけるフラボノイドのメチル化の制御機構について

中村　友紀，寺本　進，吉玉　国二郎（熊本大・理・生物科学）

基本種のうちのエンレイソウ（*T.apetalon*）ではクエルセチンの3'位がメチル化されたイソラムネチンの配糖体が主要フラボノイドの一つとして多く検出されているが、オオバナノエンレイソウ（*T.kamtschaticum*）ではその成分は微量である。これに対し、クエルセチンからイソラムネチンへのメチル化を触媒する酵素フラボノール 3'-*O*-メチルトランスフェラーゼ（FL3'OMT）は2種間で同程度の比活性を示した。これよりオオバナノエンレイソウではイソラムネチン含有量とFL3'OMT活性に相関性がないと考えられる。

そこで本研究では、まずFL3'OMTに着目してエンレイソウの葉を材料に用い精製を行った。精製率は約280倍、基質特異性は高く、最適pHは7.0、EDTA,DTT,DTEによって活性が促進され、PCMB,NEMによって著しく活性が阻害された。ゲルろ過法により分子量は約78kDaと推定された。また、オオバナノエンレイソウでも同様の性質が得られた。

次に、オオバナノエンレイソウにおけるイソラムネチン生成の抑制機構を解明するために、クエルセチンからイソラムネチン以外への分岐をその要因の一つとして着目し、ガラクトシルトランスフェラーゼ（FLGaT）について調べた。オオバナノエンレイソウではFLGaT活性のほうがFL3'OMT活性よりも高く、2種間のFLGaT活性を比較するとオオバナノエンレイソウのほうが高かった。

3aG03

チャ葉におけるプリンアルカロイドの代謝

芦原　坦，加藤美砂子，F.M. Gillies[1]，A. Crozier[1]（お茶の水大・理・生物，[1]Div. Biochem. Mol. Biol., Inst. Biomed. Life Sci, Univ. Glasgow）

チャ葉におけるプリンアルカロイドの生合成と分解経路を^{14}C- 標識化合物をもちいて検討した。我々がすでにコーヒー葉で示したように[1]、カフェイン(Cf)の主要生合成経路はテオブロミンを経由するものであり、一方Cfの分解経路は、テオフィリン(Tp)と3- メチルキサンチン(3mX)を経るものであった。しかし、チャに特有な代謝経路も存在していた。若いチャ葉では、[8-^{14}C]TpはTbとCfに代謝された。さらに、[8-^{14}C]キサンチンはキサンチンデヒドロゲナーゼの阻害剤であるアロプリノール存在下でTb, Tp,Cfに変換された。TpやXは、Cfの分解系の中間産物であり、*in vitro*では、カフェイン合成酵素の基質とはならなかった。チャ葉には,Cfの分解で生じたこれらの化合物を再びCf合成に用いるサルベージ経路が存在することが示唆された。

Ashihara, H. et al. (1995) Planta *197*, in press.

3aG04

ウツボカズラ　*Nepenthes hybrida*の分泌する糖質

牧迫剛志、阿部美紀子、内海俊樹、東四郎（鹿児島大・理・生物）

ウツボカズラはマレーシア熱帯地方に分布する食虫植物である。葉の葉脈の先端が蔓状に伸び、壺状の捕虫器（pitcher）を形成する。pitcherの内部は開口部から順に誘引部位、誘導部位、消化部位の3つに区分されるが、このうち誘引部位開口部lipには蜜腺が存在し、昆虫を引き寄せるための誘引物質を分泌している。

本研究ではこの誘引物質中の糖質に着目し、この糖質によって昆虫に対する誘導性が生じるのかどうかを調べた。先ずSEMによる蜜腺の組織学的観察を行った。また分泌物をHPLC及びNMRを用いて含まれる糖の種類を同定した。さらにアリを用いて糖の嗜好性を調べた。

H 会 場：分化・形態形成

キーワード：生殖器官，生殖機構，種子形成·休眠，光形態形成，細胞分化，形態形成

第一日目 午前	
開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aH01
9:45	1aH02
10:00	1aH03
10:15	1aH04
10:30	休 憩
10:45	1aH05
11:00	1aH06
11:15	1aH07
11:30	1aH08
11:45	1aH09

第二日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	2aH01
8:45	2aH02
9:00	2aH03
9:15	2aH04
9:30	2aH05
9:45	2aH06
10:00	2aH07
10:15	2aH08
10:30	休 憩
10:45	2aH09
11:00	2aH10
11:15	2aH11
11:30	2aH12
11:45	2aH13

第三日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	3aH01
8:45	3aH02
9:00	3aH03
9:15	3aH04
9:30	休 憩
9:45	3aH05
10:00	3aH06
10:15	3aH07
10:30	3aH08
10:45	3aH09
11:00	3aH10
11:15	3aH11
11:30	3aH12

第一日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	1pH01
13:15	1pH02
13:30	1pH03
13:45	1pH04
14:00	1pH05
14:15	1pH06
14:30	1pH07
14:45	1pH08
15:00	休 憩
15:15	1pH09
15:30	1pH10
15:45	1pH11
16:00	1pH12
16:15	1pH13
16:30	1pH14
16:45	1pH15
17:00	1pH16
17:15	1pH17

第二日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	2pH01
13:15	2pH02
13:30	2pH03
13:45	2pH04
14:00	2pH05
14:15	2pH06
14:30	2pH07
14:45	2pH08
15:00	休 憩
15:15	2pH09
15:30	2pH10
15:45	2pH11
16:00	2pH12

1aH01

シロイヌナズナの雌しべ特異遺伝子の解析

安積良隆、高師知紀、小柴邦宏、鈴木秀穂
（神奈川大・理・応用生物）

我々は高等植物の雌性配偶子である卵の形成過程に興味を持ち、この過程に関わる遺伝子をシロイヌナズナよりクローン化し、その性質を明らかにすることにした。そのために二つの方法を採用した。一つはサブトラクション法による雌しべ特異遺伝子が濃縮されたｃＤＮＡライブラリーの作製で、雌しべのｃＤＮＡより葉でも発現している遺伝子のｃＤＮＡを除いた。このライブラリーよりディファレンシャルスクリーニングによって雌しべ特異遺伝子を選抜する。もう一つの方法はディファレンシャルディスプレイ法による区画化されたｃＤＮＡの比較である。この方法では、蕾中の若い雌しべ、開花後の花全体、および葉からＲＮＡを抽出し比較を行った。これら二つの方法によって得られたｃＤＮＡの遺伝子の発現の特異性をノーザンハイブリダイゼーションによって調べたところ、６つのｃＤＮＡは若い雌しべでのみ発現している遺伝子に由来していることが確かめられた。今後これらの遺伝子の発現の細胞特異性を in situ hybridization 法によって解析する。

1aH02

アサガオ花弁主要タンパク質の同定と性質

安部　弘、上田貴子、藤岡昭三、桜井　成（理化学研究所・植物生活環制御）

我々は、アサガオ(*Pharbitis nil*)花弁から47kDのタンパク質(PN47)を精製し、その部分アミノ酸配列を明かにした（植物生理学会1994年)。ウエスタンブロット解析により、PN47は花の発達と共に花弁で急激に蓄積し、葉、茎、根などの器官でも低レベルながらも検出された。

展開したアサガオ花弁から調製したポリ(A)$^+$RNAを用いて作製したcDNA発現ライブラリーを、抗PN47抗体を用いてスクリーニングした。単離したcDNAは402アミノ酸残基からなる分子量45,266Da、等電点5.20のタンパク質をコードし、以前に決定したPN47の部分アミノ酸配列を全て含んでいた。ホモロジー検索の結果、PN47はトリアシルグリセロールリパーゼと部分的なホモロジーがあった。PN47は、ホルモン感受性リパーゼの触媒部位のモチーフ(GXSXG)を持っていたが、正確な機能と役割に関しては不明である。

ノーザン解析の結果についても合わせて報告する。

1aH03

砂漠植物*Pectis papposa*の花芽形態形成に伴うDNA合成パターンの経時変化

林　誠、黒岩晴子[1]、黒岩常祥（東大大学院・理学系・生物科学、[1]共立女子短大・文）

形態形成における最初の兆候の一つは、細胞分裂に先立つ細胞核DNA合成である。キク科の短命植物*Pectis papposa*は種子吸水開始後わずか６日で生殖成長に移行し、１４日目には基本的な花芽形態形成を完了させる。われわれはDNA合成パターンからみた、栄養成長の茎頂分裂組織における、花芽形態形成以前の初期変化を解析した。茎頂に直接BrdU（DNA合成の基質であるチミジンのアナログ）を取り込ませ、テクノビット7100樹脂に包埋された組織切片（0.6-0.7μm）を抗体染色することで、茎頂分裂組織中央部に、細胞核DNA合成がみられないドーマントセルが数個明確に認められた。この方法を花芽形成開始後の茎頂に適用し、形態形成が始まる以前に、その予定域に特異的にBrdUの取り込みがみられることがわかった。

1aH04

ペチュニアの花器官特異的遺伝子のアサガオにおける発現様式の解析

山下博史、竹葉剛、黒岩常祥[1]（京都府立大・応用生物、[1]東京大・院・理・生物科学）

ディファレンシャルスクリーニングにより得られたペチュニアの花器官特異的遺伝子群のうち、PFS4は花弁と雌蕊に、PFS12は雄蕊に特異的に、PFS13は花弁に特異的に発現が見られ、それぞれの器官形成の初期段階から発現は見られる。これらの遺伝子の普遍性を明らかにするために、それぞれの遺伝子の塩基配列からプライマーを作成し、アサガオのゲノムDNAを鋳型としてPCRを行った結果、DNA断片の増幅がみられた。さらにアサガオの花芽から得たpoly(A)$^+$RNAを鋳型としてRT-PCRを行った結果、DNA断片の増幅がみられ、アサガオにおいても、このPFS遺伝子と相同な遺伝子が発現しており普遍姓があるものと考えられる。現在、この遺伝子の時間的空間的発現様式について解析を行っている。

1aH05

単細胞緑藻ｸﾗﾐﾄﾞﾓﾅｽの接合直後に発現する遺伝子zys1の解析

内田英伸，鈴木玲奈[1]（筑波大・生物科学，[1]東京医科歯科大・医）

単細胞緑藻ｸﾗﾐﾄﾞﾓﾅｽでは雌雄配偶子混合後に雄由来葉緑体核の選択的消失・細胞核の融合・べん毛の縮退・胞子の形成という現象が観察される．多くの藻類に共通にみられるこれらの諸現象は，接合開始後に発現される遺伝子群により制御されていると考えられる．この過程の早期に機能する遺伝子を単離するために，配偶子と雌雄配偶子混合後10分の細胞とでﾃﾞｨﾌｧﾚﾝｼｬﾙｽｸﾘｰﾆﾝｸﾞを行い接合子特異的に発現する遺伝子をcDNAｸﾛｰﾆﾝｸﾞした．得られた遺伝子の1つzys1は，ORF内・3'非ｺｰﾄﾞ領域がそれぞれ99・50％のﾎﾓﾛｼﾞｰがある2つの遺伝子（zys1A・B）から構成され，両遺伝子はｹﾞﾉﾑ上で14kbのMboI断片内にｺｰﾄﾞされていた．現在，この領域を含むｹﾞﾉﾐｯｸｸﾛｰﾝの制限酵素地図を作成し，zys1A・B遺伝子の塩基配列を比較検討している．

1aH06

単細胞緑藻クラミドモナスの接合直後に発現する遺伝子 *zys 3* の解析

栗山英夫、高野博嘉、鈴木玲奈[1]、内田英伸[2]、河野重行、黒岩常祥（東京大・院・理系・生物科学、[1]東京医科歯科大・医、[2]筑波大・生物科学系）

Chlamydomonas reinhardtii は遺伝的に決定している交配型に従って同型配偶子型の有性生殖方式をとる単細胞生物である。その接合後には雄由来葉緑体 DNA の選択的消化、細胞核融合、鞭毛退縮、胞子形成といった様々な現象が起こるが、直接的に関与する遺伝子はすべて接合後に発現すると考えられている。よって、接合子特異的かつ比較的早期に発現する遺伝子はこれらの現象を統括する重要な役割を担っている可能性が高い。*zys 3* は我々が接合後 10 分を経過した接合子由来の cDNA ライブラリーからディファレンシャルスクリーニングによって単離したもので、ゲノム中に数コピー存在する可能性がある。*zys 3* mRNA は接合後 10 分で検出でき、4 時間後にピークに達するが 6 時間後にかけて急激に減少する。またタンパク質は接合後 1 時間から出現し始め 6 時間以降に最大となり、1 日近く存続する。さらにそのアミノ酸配列中にはタンパク質タンパク質間相互作用に関わるとされるアンキリンリピートという繰り返し配列が存在するがこの領域を事実上欠失しているものの他の部分は全く同一である新たな cDNA クローンを単離した。この 2 つの分子種について独立に発現パターンを認識するためそれぞれに特異的なプローブを調整し、RNase protection 解析を行った。その結果、保存領域を含む分子種が主要な構成要素でそれを含まないものの発現量は少ないことが明らかになった。しかし双方とも時間的発現パターンがきわめて類似しており、別個の役割をもっている可能性もあると考えられる。

1aH07

クラミドモナスの接合子特異的遺伝子 *zys4* の接合子形成における機能

鈴木玲奈、内田英伸[1]、栗山英夫[2]、高野博嘉[2]、黒岩常祥[2]（東京医科歯科大・医、[1]筑波大・生物、[2]東京大・理・植）

単細胞緑藻クラミドモナス（*Chlamydomonas reinhardtii*）は接合後数時間に雄性葉緑体核の選択的消化、細胞壁の新生、細胞核融合等の現象が連続して起こる。これらには、接合直後から発現を開始する接合子特異的遺伝子群(*zys*)が関与すると考えられる。配偶子と接合子間のディファレンシャル・スクリーニングによって得られた*zys4*は、転写産物2.6kbで、mRNA蓄積のピークは接合後３時間であった。cDNA 塩基配列を決定しホモロジー検索より、*zys4*はセリン－プロリンの繰り返し配列を持ち、細胞壁主成分であるhydroxyproline-richglycoprotein (HRGP)をコードしていることがわかった。クラミドモナスは接合後に栄養細胞とは構造・性質の異なる細胞壁を新生することが知られている。接合子細胞壁は接合胞子に物理的強度と乾燥への耐性を与えるために、接合後２～３時間から細胞外に蓄積され始める。*zys4* のmRNA蓄積のピークとこの壁合成時期は一致することから、*zys4*は接合後、新たに合成される糖タンパクをコードし細胞壁を構成していると推定された。

1aH08

in vitro 重複受精における胚のうへの花粉管誘導過程の解析

栗山哲也、黒岩晴子[1]、河野重行、黒岩常祥（東京大・大学院理学系・生物科学、[1]共立女子短大・文）

被子植物では花粉管によって輸送される２つの精細胞が、助細胞を経由し、卵細胞および中心細胞と重複受精する。しかし、花粉管の誘導機構、花粉管の助細胞への進入機構、２つの精細胞の輸送機構など、重複受精過程の多くのメカニズムは解明されていない。これはほとんど全ての被子植物の胚のうが胚珠の内部にあり、重複受精過程を生きたまま経時的に観察することができないためである。そこで、胚のうが珠孔から胚珠の外部に突出する *Torenia fournieri* を用いて、胚珠培養によって卵細胞、助細胞、中心核を詳細に観察できる方法を開発した。またSYBR Green を用いた蛍光染色により生きた胚のうでも細胞核やオルガネラのDNA を観察できることを明らかにした。これらを用いて重複受精のメカニズムを解析するために *in vitro* での重複受精を試みた。胚珠と受粉後の花柱を超低融点アガロースの液体培地中で切り出し、そのまま培地を固化して培養した。その結果、切り取った花柱を通って伸長する花粉管を、*in vitro* で直接胚のうに誘導することに成功した。培地上を直進する花粉管は胚のうに接近すると突然挙動を変え、激しくうねりながら助細胞の一部である線形装置（filiform apparatus）へ向かっていくことを観察した。このとき花粉管の誘導は必ず生きている胚珠でのみ起こった。これらは培養過程において花粉管の誘導物質が新たに助細胞から培地へ分泌されていることを示唆している。

1aH09

雌雄異株植物雄性生殖器官特異的遺伝子の葯内における発現パターンの解析

松永幸大、河野重行、黒岩常祥（東大大学院・理・生物科学）

性染色体を持つナデシコ科雌雄異株植物*Melandrium album*(*Silene latifolia*)の初期の蕾には雌雄両方の生殖器官があるが、蕾の成熟に従って雄株では雌蕊の、雌株では雄蕊の発達が抑制され、雌雄の単性花が形成される。雌雄の蕾由来のcDNAプローブを用いたディファレンシャルスクリーニングにより、雄性生殖器官（雄蕾、雄花）で特異的に発現する遺伝子を４個（*MROS1*, *MROS2*, *MROS3*, *MROS4*）単離した。ゲノミックサザン解析の結果、これらの*MROS*遺伝子は雌雄両ゲノムに存在していることから、*MROS*遺伝子の器官特異性は転写制御によることが示唆された。塩基配列決定の結果、*MROS2*は中央部分にグリシンに富んだ領域をもつ20kDaのタンパク質を、*MROS3*は既知のタンパク質と相同性のない23kDaのタンパク質をコードしていた。

*MROS2*と*MROS3*の組織特異性をDIGラベルプローブを用いた*in situ* hybridization法により解析した。暗視野顕微鏡を観察に用いることにより、シグナル部分を青紫色に鮮明に判別することが可能となった。*MROS3*転写産物は葯内に四分子が形成される時期の成熟したタペータム細胞内に蓄積していた。*MROS2*転写産物は雄蕊伸長後期に葯の内皮と表皮で検出され、葯壁の発達とともに葯の表皮と口辺細胞（stomium)近傍に特異的な蓄積がみられた。開花直前期になると、*MROS2*の転写産物は葯の内皮と表皮では減少するが、成熟した花粉内では多量に検出された。このことから、雄蕊発達段階において*MROS2*は異なる時期と場所において葯と花粉の成熟の双方に関与する遺伝子であることが示唆された。

1pH01

イネのプロテアソームC2サブユニットの生化学的解析

梅田正明、真鍋弓月、内宮博文（東大・分生研）

我々はすでに、イネのカルス由来のcDNAライブラリーよりプロテアソームC2サブユニットと相同性を示すcDNAを単離し、その塩基配列を決定した。C2サブユニットは20S複合体の一成分で、プロテアソームのマーカーとしてよく利用されているが、その機能はまだ明らかになっていない。そこで我々は、細胞分裂におけるプロテアソームの機能を明らかにする目的で、まずこのC2サブユニットの生化学的特徴を解析した。

単離したcDNAを用いて、GSTとC2サブユニットとの融合タンパク質を大腸菌内で生産し、このタンパク質を用いて抗体を作成した。グリセロール密度勾配遠心でイネの細胞質タンパク質を分離したところ、この抗体は26S複合体と20S複合体の両方に含まれるC2サブユニットと反応した。またこの過程で、26S複合体を保持するためには、他の生物種と同様にATPが不可欠であることが明らかになった。さらにGST-C2の融合タンパク質を基質として用いてリン酸化アッセイを行なったところ、C2サブユニットはイネのカルスまたは植物体の粗タンパク質によってリン酸化されることがわかった。このリン酸化活性はヘパリンによって阻害されるが、cAMP依存性キナーゼ阻害剤の影響は受けない。現在、このキナーゼ活性についてさらに詳細に解析している。また、プロテアーゼ活性とC2サブユニットのタンパク質量、リン酸化活性との相関についても調べている。

1pH02

コムギ種子発達過程における休眠関連遺伝子の発現

川上直人、野田和彦[1]（横浜市大・木原生研、[1]岡山大・資生研）

休眠を持つ正常系統のコムギ種子胚には存在するが、完熟時に休眠を示さない突然変異体の種子胚には蓄積しないタンパク質、“ポリペプチドe”を見いだした。種子発達過程におけるポリペプチドｅ遺伝子の発現様式を調べるため、ポリペプチドｅの完全長cDNAを単離した。スクリーニングの過程で、ポリペプチドｅcDNAと70%程度の相同性を持つ２種のcDNAも得た。ポリペプチドｅ遺伝子の発現は胚の形態形成終了後、水分の減少とともに明らかとなり、成熟過程で増加した後減少した。この発現量の変化は、胚におけるABA量の経時的変化と一致する。ところが、ポリペプチドｅのmRNA量は胚をABAで処理しても増加せず、未熟種子および一度吸水した休眠種子を乾燥させると増加した。低湿度下で成熟したコムギ種子は、高湿度下で成熟した種子よりも強い休眠性を示すことが知られている。したがって、ポリペプチドｅが種子の休眠性に役割を担っている可能性がある。

1pH03

シロイヌナズナのアブシジン酸欠損変異株の解析

南原英司、川出洋[1]、神谷勇治[1]、内藤哲（北海道大・農・応用生命科学、[1]理研・フロンティア・植物ホルモン）

演者らは、アブシジン酸（ABA）の種子成熟期における役割を理解するために、シロイヌナズナを用いてジベレリン生合成阻害剤存在下で発芽できる変異株の選抜および解析をおこなっている。その中の一つであるEN7変異株は、種子休眠が浅い形質を示す他に植物体が乾燥し易い形質を示した。このような形質はABA欠損変異株もしくは非感受性変異株に見られる。そこで、発芽時のABAの発芽阻害作用を指標に発芽実験をおこなったところ、EN7変異株は野生株と同様に2μM以上のABAによって発芽が阻害された。このことから、EN7変異株はABA欠損変異株である可能性が考えられた。そこで、EN7変異株の内在性ABA含量を定量したところ、EN7変異株では野生株と比べて顕著（新鮮葉で1/5程度、乾燥葉で1/30程度）に内在性ABA含量が低下していることがわかった。シロイヌナズナではこれまでにABA生合成に係わる３つの遺伝子座（*ABA1*, *ABA2*, *ABA3*遺伝子座）が知られている。相補性試験、マッピングなどの遺伝学的実験の結果から、EN7変異株は新しい*aba2*変異株（*aba2-2*変異株）であることが明らかとなった。*aba2-1*変異株は、ABA生合成経路キサントキシンからABAアルデヒドが生じるステップに欠損が生じているとされている。*aba1*変異株の植物体は乾燥し易く黄化した形質を示すのに対して、*aba2*変異株の植物体は乾燥し易いものの黄化しないなど*aba1*変異株とは異なる形質を示す。本会では、*aba2-2*変異株の遺伝的および生理的解析結果について報告する。

1pH04

A／Tリッチプロモーター配列を介したジベレリン酸による遺伝子発現誘導

鷲尾健司、石川　鎮（北海道大・地球環境科学・環境分子生物学）

穀物種子の発芽過程においてジベレリン酸（ＧＡ）が糊粉層特異的に各種加水分解酵素の合成を誘導することが知られている。我々の研究室ではＧＡ応答性遺伝子であるイネ・３型カルボキシペプチダーゼ（ＣＰＤ３）遺伝子の発現解析を行ってきた。ＧＡ応答性オート麦糊粉層プロトプラストの実験系を用いた一連の実験においてＣＰＤ３遺伝子プロモーター内のＡ／Ｔ配列に富んだ領域がＧＡ応答性の遺伝子発現に関与しており、また実際にオート麦糊粉層細胞の核内因子がこの領域に相互作用することを明らかにしている。

このＡ／Ｔ配列に富んだ領域に塩基置換を引き起こしたＣＰＤ３遺伝子プロモーターの発現解析によりＧＡの応答性に関与する２つのモチーフが同定された。１つはＡ／Ｔリッチ配列に隣接した回文配列の中央に位置しており、もう一つは穀物種子糊粉層特異的にＧＡに発現誘導を受ける加水分解酵素遺伝子群の共通シス配列の可能性が高いとされるＴＡＡＣＡＧＡｂｏｘのコア配列（ＡＡＣＡＧＡ）と一致していた。現在、同定されたモチーフに相互作用する因子の探索を進めている。

1pH05

Dryopteris 仮根のフィトクロム依存性成長に対する La^{3+} の作用

八ッ橋寛子，Robert SCHEUERLEIN[1]（宮崎大・教育・生物，University of Jena, Inst. Gen. Botany /Plant Physiol.)

Dryopteris 胞子発芽時の仮根成長は光によって誘導され，フィトクロムが光受容体として関与している。成長が起こるためには光照射開始から２時間以降に外生 Ca^{2+} が必要であった（日本植物学会58回大会)。仮根細胞を持つ胞子に６時間の赤色光を照射すると Ca^{2+} 培地中では十分な成長が起こるが，La^{3+} を加えた培地中では著しく阻害され，外生 Ca^{2+} の細胞への流入が成長の実現に必要であることが示唆された。しかし，照射中に与えた La^{3+} は特異的な阻害効果を示さなかった。そこで，照射前１時間 Ca^{2+} ionophore とEGTAを含む低 Ca^{2+} 培地に胞子を移した後，照射開始から一定時間 La^{3+} 培地で処理したところ，成長は有意に阻害された。La^{3+} の阻害効果は照射開始から２時間以内に顕著に見られた。この結果は，仮根成長において P_{fr} 形成直後に内生 Ca^{2+} が関与することを示唆する。

1pH06

西洋ワサビで過剰発現させたＣ末端部分を削除したフィトクロムＡの性質について

中澤美紀，小杉慶子，東真由美，富澤健一[1]，斉藤力[2]，鎌田博[2]，眞鍋勝司（横市大・理，[1]理研・フロンティア，[2]筑波大・遺伝子）

シロイヌナズナのPhyA遺伝子を組み換えて1122個のアミノ酸よりなる全長（ＦＬ）のフィトクロムＡ（PHYA），およびＣ末端側からそれぞれ３個（ＣＡ），21個（ＣＢ），156個（ＣＣ），354個（ＣＤ）のアミノ酸配列を欠くPHYAを発現するようにＲｉプラスミド-アグロバクテリウムによる導入系を用いて西洋ワサビで発現させた。

過剰発現体の毛状根の光による不定芽形成活性（PHY依存性）を測定したところＦＬ，ＣＡ，ＣＣの３種がいずれも対照試料の約３倍という強い活性を示した。過剰発現体には元もとの西洋ワサビのPHYA及び導入したPHYAが存在するが，これらの存在量が毛状根および植物体のシュート中でどう変化するかを，種々の光条件下で測定した。また，それぞれの２量体形成能について測定した。

1pH07

光による遺伝子発現抑制を媒介するフィトクロームシグナル伝達機構

山形裕士、G. Neuhaus [1], C. Bowler [2]、平塚和之 [3]、N.-H. Chua [4]（神大・農、[1]スイスETH研究所、[2]イタリアナポリ臨海実験所、[3]奈良先端科技大、[4]米国ロックフェラー大学）

光応答性遺伝子の発現を誘導するフィトクローム(PHY A)の光シグナル伝達経路はcGMP経路、Ca^{2+}経路、cGMP/Ca^{2+}経路の3経路から構成されている。一方、フィトクロームを介して明所で発現が減少する遺伝子も数例知られている。このうちエンドウのアスパラギン合成酵素遺伝子(*AS1*)の発現の光制御に関わるシグナル伝達経路を解明する目的で、トマトの野生株およびPHY A欠損変異株 *aurea* の胚軸細胞へ*AS1-GUS*を薬物と共に微量注入し、GUS発現を追跡することにより解析した。

野生株に注入した*AS1-GUS*の発現は暗所で増加し明所で減少するが、この制御はPrによる発現誘導ではなく、Pfrによる発現抑制と考えられた。さらに*AS1*の光による発現抑制は、*fnr*(フェレドキシン-NADP還元酵素)の発現を誘導するのと同じcGMP/Ca^{2+}経路によって引き起こされることを見出した。Pfrによる発現制御のターゲットとなっている*AS1*プロモーター中のシスエレメントをloss of function型実験とgain of function型実験により解析した結果、光抑制に関わる17bpのシスエレメント(RE3)を同定した。RE3は、同じく明所で発現抑制される*PHY A*プロモーター中のネガティブエレメントRE1に類似しており、PfrからcGMP/Ca^{2+}経路を経てその活性が制御されるレプレッサーのターゲットとなっていることが推定された。

1pH08

トウモロコシ幼葉鞘の照射時間依存光屈性：その発現は赤色光信号に依存する

劉 玉軍，飯野盛利（大阪市大・理・植物園）

We previously characterized the effects of red-light pretreatment on pulse-induced phototropism of dark-adapted maize (*Zea mays* L.) coleoptiles (Liu & Iino: *Plant Cell Environ.*, in press). Here, we present the results obtained for the effect of red light (3 min) on the time-dependent phototropism (TDP), or the second positive curvature. It was found that the dark-adapted coleoptiles showed no TDP for blue-light irradiation as long as 40 min. The TDP, which is induced when blue-light irradiation exceeds a few minutes, became apparent only after the red-light treatment. The responsiveness for TDP increased gradually for about 1 h after the red light; the lag time for the red-light effect was about 15 min. The results demonstrate for the first time that red light, probably mediated by phytochrome, leads to the establishment of the TDP system. It is also found that the coleoptiles pretreated with a saturating red-light pulse showed an additional phototropic response when red light was given during blue-light stimulation. The result suggests that the Pfr responsible for the response may undergo dark reversion to Pr after the red light-pulse.

1pH09

西洋わさび毛状根からのフィトクロム遺伝子の単離と解析

齋藤 力、橋爪亜紀、原田 宏、鎌田 博 （筑波大・生物）

西洋わさび（Armoracia rusticana）にA. rhizogenesを感染させることで得られる毛状根を明所下において植物ホルモンを含まないMS培地上で培養すると不定芽が形成される。この光誘導不定芽分化においては、光受容体としてフィトクロムが関与していることを光作用スペクトル、近赤外光による可逆的反応、フィトクロム活性の測定等によって明らかにしてきた。

そこで、この光誘導不定芽形成に関与しているフィトクロムの分子種を明らかにするため、西洋わさび毛状根でフィトクロム活性の高い（暗所で12週間以上培養した基部側）部分より作成したcDNA libraryから、フィトクロム遺伝子を単離し、その解析を行った。その結果、PHYAと分類されるArPHYA5, ArPHYA16, ArPHYA23 の3種のcDNAクローンが単離され、そのいずれもアラビドプシスPHYAとアミノ酸レベルで96%の相同性を示した。また、互いのクローン間でも97%以上の高い相同性が認められた。また、この単離遺伝子をプローブとしたゲノミックサザンの結果、西洋わさびにおけるPHYAのコピー数は2以上と推定された。

一方、同じライブラリーから、アラビドプシスPHYCとアミノ酸レベルで91%の相同性を示すArPHYC129が単離された。このクローンをプローブとして用いたゲノミックサザン分析の結果、西洋わさびにおけるPHYC遺伝子のコピー数は3-4と推定された。

1pH10

ホウライシダ・フィトクロム遺伝子ファミリーの単離と解析

野末一成、福田俊介、鐘ヶ江健、和田正三 （都立大・理・生物）

ホウライシダ(*Adiantum capillus-veneris* L.)は光生物学的・細胞生物学的手法を用いてフィトクロム反応が細胞レベルで解析されている数少ない材料である。この材料に分子生物学的手法を取り入れるため、我々は以前、暗所の胞子体葉よりフィトクロムcDNAクローンを一つ単離、塩基配列を決定した[1]。今回、そのcDNAの色素団結合領域をプローブとして、ゲノムライブラリーより21の陽性クローンを得た。これらのクローンの色素団結合領域の塩基配列から、ホウライシダ・フィトクロム遺伝子は最低3つのメンバーから成るファミリーであり、アミノ酸レベルでお互いに高い相同性があることが明らかになった。これらは全て高等植物のフィトクロム遺伝子よりも下等植物のフィトクロム遺伝子と高い相同性を示した。

1) Okamoto et al. (1993) Plant Cell Physiol. 34: 1329-1334

1pH11

ホウライシダ（*Adiantum capillus-veneris* L.）フィトクロムFP1遺伝子を導入したアラビドプシス形質転換体の解析

岡本晴子,阪本康司[1],富沢健一[2],長谷あきら[3],和田正三（都立大・理・生物,[1]理研・フロンティア,[2]RITE・植物分子生理,[3]東大・遺伝子実験施設）

ホウライシダのフィトクロムFP1遺伝子は、種子植物のどのフィトクロム分子種とも、アミノ酸レベルで50%程度の相同性を持つが、その推定アミノ酸配列中に他の下等植物および、種子植物のフィトクロムBに共通のモチーフを有していた(Okamoto et al. 1993)。また、この遺伝子の発現は光による制御を受けないことが分かっている(第59回植物学会)。そこで我々は、FP1遺伝子が種子植物の中でフィトクロムBと同様の機能を持つかどうかに興味をもち、これをアラビドプシスに導入した。

FP1遺伝子を、35Sプロモーターの制御下において、アラビドプシス(Landsberg *erecta*)に導入し形質転換体を得た。形質転換体において、免疫化学的にFP1蛋白質の発現が確認されたが、それらの胚軸の赤色光および、近赤外光による伸長抑制は、野生型のそれとほとんど変わらなかった。このことは、導入したFP1フィトクロムが種子植物内で胚軸の伸長抑制に関わるような機能は持たないことが示唆された。

1pH12

赤色光誘導光屈性を欠くホウライシダ突然変異体の単離とその特徴

門田 明雄、和田 正三　（都立大・理・生物）

シダ配偶世代では胞子発芽、原糸体成長、光屈性、葉緑体光定位運動など様々な反応がフィトクロム、青色光吸収色素の両者により調節されている。今回はホウライシダ胞子のＥＭＳ処理により赤色光誘導光屈性を欠く変異体を単離し、その光反応を調べた。

胞子は滅菌後、ＥＭＳで２４時間処理し、約２週間、側方からの赤色光下で培養し、赤色光に対し光屈性を示さない変異体を４株単離した。これらの変異体はいづれも青色光に対する光屈性は正常であった。また、葉緑体光定位運動を調べると、すべての株において青色光反応は見られるが赤色光反応は認められなかった。さらに、これら変異体のうち、自家受精により胞子体が得られた１株から胞子を集め、胞子の光発芽反応を調べたところ、野生型と同様のフィトクロム依存を示した。これらの結果は、赤色光による光屈性と葉緑体定位運動が胞子発芽とは異なるフィトクロム系、あるいは信号伝達初期過程を持ち、ここで単離された変異体がこの部分に変異を持つ可能性を示唆する。

1pH13

ゼニゴケ (*Marchantia polymorpha* L.) 胞子の光発芽の解析

中里　直、門田明雄、和田正三　（都立大・理・生物）

ゼニゴケの光形態形成反応を明らかにするために、まず胞子発芽に対する光の作用の解析を行った。ゼニゴケ胞子は白色光下では高い発芽率を示すが、暗所ではほとんど発芽せず、光発芽性を示す。白色光による発芽誘導には、10時間以上の連続光照射が必要であった。近紫外・青・緑・赤・近赤外の各波長域の光で0.1Wm^{-2}、1日照射による波長効果を調べると、赤色光が最も効果的であった。しかし赤色光を用いても発芽誘導には10時間以上の光照射が必要であった。そこで間欠照射による発芽誘導を調べたところ、2時間毎に15分間の赤色光照射を1日行うと、高い発芽率が得られることがわかった。しかしこの間欠照射による赤色光の効果は近赤外光で打ち消すことはできなかった。そこでさらに光発芽に対する光合成阻害剤DCMUの効果を調べると、100μMのDCMUで発芽が阻害された。ゼニゴケ胞子が暗所でも葉緑体を形成すること、培地に糖を加えると暗所でも発芽が起こることから、胞子の光発芽には光合成が関与していることが示唆された。

1pH14

ミズワラビ前葉体における青色光による細胞伸長阻害の微光束照射法による解析

村田　隆，門田明雄[1]，和田正三[1]（東京大・教養・生命，[1]都立大・理・生物）

ミズワラビ（*Ceratopteris richardii*）胞子を白色光照射により発芽誘導した後に暗所で培養すると，細長いへら状の前葉体になる。このへら状前葉体は，先端部に分裂組織，中間部に伸長域，基部に伸長停止域を持つ。この前葉体に青色光（約２Wm^{-2}）を連続照射すると，伸長域の細胞が伸長停止し，表層微小管の配向が生長軸に直角から，斜めもしくは平行に変化することは既に報告した（日本植物学会第58回大会）。本研究では，微光束照射法によりこの伸長阻害における光受容部位の検討を行ったので報告する。

２Wm^{-2}の青色光を先端分裂組織，伸長域の細胞，および前葉体全体に照射した。先端分裂組織を照射したものでは，光照射しない対照と同様に，伸長域の細胞伸長は阻害されなかった。一方，伸長域の細胞を照射したものでは，前葉体全体を照射した場合と同様の伸長阻害が見られた。この結果は，ミズワラビ前葉体では青色光による細胞伸長阻害の光受容が伸長細胞自体によって行われていることを示している。

1pH15

MORPHOLOGICAL RECOVERY OF ELONGATED INTERPHASE NUCLEI IN PROTONEMATA OF THE FERN *Adiantum capillus-veneris*

Christian WUNSCH[1], Masashi KURACHI[2], Mahito KIKUMOTO[2], Hideo TASHIRO[2], Masamitsu WADA[1]; [1]Dept. Biol., Tokyo Metropolitan Univ., Hachioji 192-03, [2]Photodynamics Research Center, RIKEN, Sendai 980

Morphological recovery of elongated interphase nuclei in protonemal cells of *Adiantum capillus-veneris* after centrifugation is driven by the microfilament system and other factors which probably reside in the nucleus (unpublished data). We recently started to investigate the properties of the nuclear interior during recovery by using the optical trap. After basipetal centrifugation at 2000 x *g* over 2 h, most of the nucleoli were located in bubble-like terminal widenings of the elongated nuclear basal poles and connected to the tip of the chromatin thread that spanned through the elongated nuclear region. Using an infrared laser trap with a final trapping force of about 10 pN, the nucleolus inside not centrifuged nuclei was not moveable, but it could easily be moved in three directions inside the terminal bubble after basipetal centrifugation. Despite arrestment of the nucleolus by the optical trap, the surrounding bubble continued moving acropetally, suggesting that the chromatin thread and the nuclear envelope may shorten apart from each other. From further experiments using laser optics in the living cell, we expect to determine the extent of membrane tension in the nuclear envelope and perhaps chromatin tension in deformed interphase nuclei.

1pH16

ヒゲカビ接合反応における光阻害の作用スペクトル

山崎裕，片岡博尚，宮嵜厚，渡辺正勝[1]，大瀧保 （東北大・遺生研，[1]基生研・培養育成）

接合菌ヒゲカビ（*Phycomyces blakesleeanus*）の有性生殖である接合反応は，光で阻害，あるいは遅延される．基生研の大型スペクトログラフを用いてこの光阻害の一連の作用スペクトルを得た．ヒゲカビの有性生殖器官は(+)(-)の菌糸先端が接触し，接合枝を作った後，7～8の形態的に特徴ある段階を経て約25時間で接合胞子ができる．48時間の連続単色光照射の後で生殖器官数の段階ごとの配分パターンから，各発達段階の光感受性を解析するために，移行率なる指標を導入した．これはある段階の器官数の何%が次ぎの段階に進んだかを示すものである．一連の光強度ー移行率カーブから発達段階ごとに異なる6種の作用スペクトルを得た．発達後期になるほど光感受性が高かった．前配偶子嚢形成までの初期過程阻害の作用スペクトルは350-370nmの峰と410nmの小さい肩を持った．次の配偶子嚢形成はUV-A光のみで阻害された．接合子形成からの最後の段階は，弱光と強光で阻害され，それらの作用スペクトルの形は異なった．すなわち，前者は卓越した390nmの峰と490nmの亜峰を持ち，後者はUV-Aから紫の領域に接近した2峰（370nm, 410nm）を持っていた．

1pH17

PHYA-MEDIATED CHANGES IN PLASTID DEVELOPMENT IN *ARABIDOPSIS* COTYLEDONS CAUSED BY IRRADIATION WITH CONTINUOUS FAR-RED LIGHT.

Naoko K. NISHIZAWA, Simon A. BARNES, Ronaldo QUAGGIO *Garry WHITELAM and Nam-Hai CHUA; Lab. of Plant Molecular Biology, The Rockefeller Univ. New York, NY10021-6399, USA, *Dept. of Botany, Univ. of Leicester, Leicester LE1 7RH, UK

Irradiation by continuous far-red light blocks greening of *Arabidopsis* seedlings. Irradiation by far-red light for 2 days is sufficient for wt seedlings (Landsberg) to lose the ability to turn green after exposure to white light. However, a phyA null mutant *phyA-201* and a mutant *fhy1*, that is proposed to lack a signaling component of the phyA signal transduction pathway, were still able to turn green even after 4 days of irradiation. In contrast to *phyA-201* and *fhy1*, a phyB mutant *phyB- 1* could not turn green after 4 days of irradiation similar to the wt. Therefore, the block of greening caused by continuous far-red light is mediated by phyA and the phyA signal transduction pathway but not by phyB. Plastid development in cotyledons irradiated by continuous far-red light was investigated by EM. As a result, we found that vesicles appeared specifically in developing plastids of wt and *phyB-1*. Far-red light, therefore, causes aberrant plastid development in *Arabidopsis* seedlings. Addition of sucrose to the medium repressed the block of greening and formation of vesicles.

2aH01

形質転換タバコにおける*SLG*^{9},*SRK*^{9}ゲノムクローンの発現

鈴木剛、渡辺正夫、鳥山欽哉、磯貝彰[1]、日向康吉（東北大・農、[1]奈良先端大・バイオサイエンス）

自家不和合性*Brassica campestris*から単離した自家不和合性関連遺伝子*SLG*^{9},*SRK*^{9}のゲノムクローンをタバコに遺伝子導入し、その発現を解析した。*SLG*^{9}と*SRK*^{9}のプロモーター部分には、雌しべでの発現に重要だとされてきた保存領域(boxIII)において7 bpの欠落が認められたが、両遺伝子は形質転換タバコの雌しべで正常に発現していた。この結果により、雌しべでの発現に必要なプロモーター領域が、Dzelzkalns et al. (1993)が示したものより、小さいことが推定された。

また、*SRK*^{9}を導入した形質転換タバコにおいて*SLG*様の転写産物が確認され、*SRK*がオルタネイティブ・スプライシングによりSLG様のタンパク質を産生していると考えられた。このSLG様タンパク質は、SLG、SRKと共に自家不和合性の認識反応に重要な働きをしていると思われる。

2aH02

ユリの減数分裂時期に発現が誘導されるLIM18遺伝子の機能解析

皆見政好、平塚理恵[1]、平塚和之、高瀬尚文、堀田康雄（奈良先端大・バイオ、[1]慈恵医大・生物）

LIM18遺伝子は、減数分裂時期のユリ花粉母細胞より単離された遺伝子であり、HSP70様蛋白質をコードする。減数分裂進行過程では、遺伝子の組み換えが高頻度で起こり、特異的な蛋白質の合成・分解活性が高まることが知られている。この点とHSP70蛋白質が分子シャペロンとして機能することを考えると、LIM18遺伝子産物がこの時期に合成される蛋白質の高次構造の形成過程や、遺伝子組み換え等に関わる各種蛋白質の細胞質から核への輸送、および細胞骨格や染色体構造の変化に関与する可能性が考えられる。そこで、これらの可能性を検証する目的で、大腸菌に発現させた組み換えLIM18蛋白質を抗原に用いて抗体を作成し、LIM18遺伝子産物の組織・時期特異性、発現様式の解析を行った。

解析の結果、（1）減数分裂時期のユリ花粉母細胞には、LIM18遺伝子産物を含めて、少なくとも2種類のHSP70様蛋白質が恒常的に存在することを高等植物で初めて見出した。（2）LIM18遺伝子産物は、ユリ花粉母細胞の熱処理によって量的変動を示さず、LIM18遺伝子は非熱誘導型Hsp70様遺伝子であると考えられた。

2aH03

雄性生殖細胞形成過程に発現誘導されるセリンプロテアーゼに関する研究

上藤洋敬,奥田将生,平塚理恵[1],平塚和之,高瀬尚文,堀田康雄（奈良先端大・バイオサイエンス,[1]慈恵医大・生物）

テッポウユリ（*Lilium longiflorum*）の雄性生殖細胞形成過程の減数分裂期に転写誘導が見られるLIM 9 遺伝子は、推定されるアミノ酸配列からセリンプロテアーゼをコードしていると考えられる。今回、テッポウユリの減数分裂期の各ステージの花粉母細胞、花粉、花粉管を伸長している花粉から細胞抽出物を調製し、LIM 9 プロテアーゼの発現様式をポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロット解析により調べた。ザイゴテン期から四分子期の花粉母細胞では、75 kDa, 78 kDa, 85 kDa の位置にシグナルが検出され、花粉では75 kDa のシグナルのみが見いだされた。減数分裂期の各ステージの花粉母細胞でのプロテアーゼ活性を調べたところ、75 kDa のLIM 9 プロテアーゼが検出されるザイゴテン期以降のステージで、プロテアーゼ活性の上昇が確認された。細胞内局在性を調べた結果と併せて、LIM 9 セリンプロテアーゼの生殖細胞形成過程における機能について考察する。

2aH04

蘚類 *Physcomitrella patens* のカルス及び配偶体初期発生の走査型電子顕微鏡による観察

藤原研二郎、東江昭夫（東京大・理学系研究科）

蘚類の *Physcomitrella patens* は世代時間が２ヵ月半と短く、原糸体と配偶体が半数体であるため以前から遺伝学の材料として用いられてきた。オーキシンやサイトカイニンといった植物ホルモンが細胞分化に関わり、特にサイトカイニンが原糸体からの配偶体を誘導することが知られている。我々はこれまでにサイトカイニンとグルコースで *P.patens* のカルス分化とその再分化系を確立し、植物ホルモンの応答が異常になったいくつかの突然変異体の解析を通じて、カルスと配偶体の発生初期が生理学的に近い性質を持つことを示してきた。今回、その類似性をさらに詳細に調べるため、カルスの形成過程と配偶体の初期発生の表層構造を走査型電子顕微鏡を用いて表層構造を観察し、野生型と突然変異体で比較したので報告する。

2aH05

高密度培養条件下でのニンジン不定胚形成

坂野勝啓、矢崎芳明、清田誠一郎　（農水省・生物研）

一般に高細胞密度条件下では不定胚形成が阻害されることが知られており、その原因として、細胞から培地中に何らかの阻害物質が放出されるためと考えられてきた。静置培養による形態観察を中心としたこれまでの研究で、高細胞密度条件では酸素濃度低下等のガス環境の悪化と培地の酸性化が確かめられた。

今回はこれらの環境要因についての定量的な検討とその人為的調節についての予備的な検討を行った。このために溶存酸素濃度及び培地pHを測定・制御可能な回転型培養装置を導入した。その結果、好気的なガス環境（平衡する気相の酸素濃度換算で15%以上）を維持し、培地pHを調節することによって、高密度条件下（initialで約0.5 ml PCV/500 ml -2,4-D MS medium)、3 週間の培養期間で大量の魚雷型胚（約$2x10^5$個）を含む不定胚を調製することができた。（全収量約60g fresh weight）

2aH06

シロイヌナズナにおけるAtECP遺伝子のRFLPによるマッピング

楊　和平、斎藤　力、米田好文[1]、鎌田　博（筑波大・生物；[1]北大・院・理）

私たちはシロイヌナズナの成熟種子から、ニンジンECPのホモログをコードするAtECP31とAtECP63cDNAをクローニングしてその塩基配列を決定し、ノーザン解析を行ったところ、それらはLEAタンパク質をコードし、成熟種子においてのみ発現しており、胚発生後期、特に胚の成熟や乾燥耐性の獲得に関与することが示唆された。しかし、その真の生理機能を解析するためには、突然変異体の単離が必要である。シロイヌナズナでは、胚発生に関する多くの突然変異体が知られているので、AtECP遺伝子のRFLP解析を行って染色体へのマッピングを行い、これら突然変異体との位置関係を調べることとした。

まず最初に、野生型のColumbia株とLandsberg株のゲノムDNAを用い、さまざまな制限酵素で切断した後にゲノミックサザン解析を行い、制限酵素断片長型(RFLP)を探索した。その結果、AtECP31 cDNAにおいては、*Bst*NIで、AtECP63 cDNAにおいては、*Pst*Iで切断した場合に、RFLPが見られた。次に、mto-1とW100を交配させ、F2植物におけるマーカー遺伝子の分離を検索するとともにし、各植物個体からゲノムDNAを抽出し、*Bst*NIあるいは*Pst*Iで切断した後に、ゲノミックサザン解析を行うことで、RFLP分離データを得た。これらのデータをもとに、コンピューターによる連鎖分析を行ったところ、AtECP31はhy2及びgl1と、AtECP63はcer2と連鎖しており、それらのおおよその位置も決定できた。hy2とgl1は三番、cer2は四番染色体上に存在するので、AtECP31とAtECP63はそれぞれ三番と四番染色体に位置することが明らかとなった。現在、CAPS法やSLLPs法でさらに詳細な位置決定を行っているところである。

2aH07

ニンジンの再生した幼植物体からの不定胚形成について

佐藤 豪、保田 浩、増田 宏志 （帯広畜大・生物資源化学）

私達は、これまでにニンジンの芽生えの胚軸切片を2,4-Dで短時間処理し、次いで植物ホルモンのない培地に移し培養すると不定胚が形成されるという系を見いだした。しかし、この系では生化学的研究をする場合において、不定胚形成の頻度や同調性について問題がありました。そこで、今回はこの系で再生した幼植物体を材料にして2,4-Dで同様に処理することにより、芽生えのものと比べて、より短時間で、より高頻度かつ同調的に不定胚が形成されることを見いだしたので報告します。

再生した幼植物体の胚軸切片を2,4-D(1mg/l)で24時間処理し、次いで植物ホルモンのない培地に移し培養すると4日目頃から胚軸の表皮が大きく剥がれ始めてくる。この場合、剥がれた表皮細胞は分裂して細胞塊を形成している。これら細胞塊形成は高頻度で同調的に行われていた。これらをさらに培養すると、高頻度である程度同調的に前球状胚を経て球状胚になる。人為的に胚軸から剥がした表皮組織と細胞塊形成時(培養前期)と前球状胚形成時(培養後期)及び球状胚形成時の4段階の細胞を用い^{35}S-methionineの取り込み実験を行った。その結果、特に培地のタンパク質組成が大きく異なっていた。この他に、私達の不定胚形成系で得た魚雷型胚段階までの不定胚を2,4-Dで処理し、その後2,4-Dのない培地で培養しても不定胚は形成されず幼植物体に再生したもので初めて形成された。これら再生した幼植物体からの不定胚形成の初期段階過程をSEMで観察したのであわせて報告する。

2aH08

ニンジン不定胚形成におけるexpanding cellの細胞間接着について

保田 浩、増田 宏志（帯広畜大・生物資源化学）

私達は、以前にニンジンの不定胚形成過程で細胞塊や不定胚の表面にexpanding cellの存在を見いだし、それが不定胚の形態形成にも関連があることを示唆する報告をした(植物学会、金沢、1995)。これらのexpanding cellが不定胚表面で分裂と伸長を繰り返していくが、不定胚を一定の形に修正していく過程では、細胞同士が堅く接着しなければならない。今回は、expanding cellと細胞との接着を走査型電子顕微鏡により観察したのでその結果を報告する。

走査型電子顕微鏡で細胞塊や不定胚を構成する細胞の表面を拡大すると細かい縞模様が観察された。expanding cellが伸長する場合、この縞模様は伸長している部分ではより密になり、伸長が停止した部分では粗になっていた。このことは、この縞模様が伸長と関連するのかもしれないことを示している。また、expanding cell同士が互いに接触する部分では、この縞模様が融合していた。一方、細胞塊や不定胚を2,4-D存在下で培養すると、それらの発達は、抑制されることがよく知られている。そこで、2,4-Dで処理した細胞塊や不定胚の細胞表面を観察すると、expanding cellが伸長しないと思われる結果を得て、さらに、細胞表面の縞模様が破壊されていることが分かった。このことは、2,4-Dによる不定胚形成の抑制が部分的にexpanding cellに影響を与えることにより起こるのではないかと推定した。

2aH09

迅速かつ容易なニンジン不定胚への遺伝子導入法

得字圭彦[1]、福田裕穂[1,2]（[1]東北大院・理・生、[2]東大・理・植物園）

ニンジン不定胚形成は胚発生過程の良いモデル系としてこれまで広く研究されており、この過程で発現する様々な遺伝子が報告されてきた。これらの遺伝子の機能解析のために遺伝子導入は必須である。従来はカルスや懸濁培養細胞にAgrobacteriaを介して遺伝子を導入するという手法が取られていたが、この方法では短期間に多数の形質転換体を得るのは困難であった。増田らはニンジン芽生えの胚軸切片を高濃度の2,4-Dで短時間処理し、ホルモンを含まない培地で培養すると、一ヶ月以内にカルスを経ないで直接不定胚を形成することを報告している。この系を利用し、Agrobacteriaを介して遺伝子導入を行えば、より早く、かつ容易に形質転換不定胚が得られるのではないかと考え、諸条件について検討した。ニンジン(夏蒔鮮紅五寸)の芽生えの胚軸に48時間、1mg/ℓの2,4-D処理後、Hygromycin抵抗性遺伝子とGUS遺伝子を*Agrobacterium tumefaciens* EHA101により導入することにした。ホルモン無しの培地上で5日間前培養することによって、胚軸表面のクチクラ層を破壊させ、Agrobacteriaが感染しやすい状態にして感染させたところ、一ヶ月以内という短期間で形質転換不定胚が多数得られた。また、この不定胚から再生した幼植物体を再び2,4-Dで処理することによって二次不定胚を形成させることができ、同じ遺伝子が導入されたクローン不定胚を大量に得ることが可能になった。

2aH10

無窒素培養と日長性による花成誘導の共通性と相違点

長谷隆司，田中修（甲南大・理・生物）

アオウキクサ151系統の花成は、72時間以上の無窒素培養により、誘導される。花成を誘導する無窒素培養の期間は異なるが、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誘導系は、アオウキクサに普遍的に存在すると考えられる。この無窒素培養による花成は、タンパク質の分解により体内に増加する遊離リジンに由来することが示唆されている。一方、これらのアオウキクサは短日性であり、日長効果によっても、花成が誘導される。そこで、日長性による花成誘導が、無窒素培養による花成誘導と同じ機構でおこるのかを知るため、２つの花成誘導を比較、検討した。

その結果、日長性に敏感な6746系統では、日長性による花成誘導はリジンにより促進されること、花成誘導に必要な無窒素培養期間とほぼ同じ長さの一回の暗黒処理により花成が誘導されること、この暗黒処理中にタンパク質の分解が起こること、エラスタチナールによりこの花成誘導は阻害されることなどが明らかになった。それ故、無窒素培養と日長性による花成誘導が共通していることが示唆される。しかし、151系統や441系統においては、２つの花成誘導にいくつかの基本的な違いがあることが明らかになった。これらの結果を基に、日長性による花成誘導機構について考察する。

2aH11

アサガオ floricaula-leafy homolog の cDNA 単離と発現解析

小野道之、小野公代[1]、井上正保、鎌田博[1]（秋田県農短大・生工研, [1]筑波大・生物）

花芽誘導の分子機構を解明する目的で、短日植物アサガオ（*Pharbitis nil* Choisy cv. Violet）の floricaula-leafy homolog（*Pn*FLH）の cDNA をクローン化してその発現を調べた。キンギョソウの floricaula とシロイヌナズナの leafy は花芽形成の最初期から茎頂で発現することが知られている。

floricaula と leafy の mRNA の保存性の高い領域に基づいて PCR 法によりゲノムDNA断片を増幅し、そのエクソンをプローブとしてアサガオ頂芽の cDNA ライブラリーをスクリーニングして cDNA クローンを得た。*Pn*FLH の mRNA の蓄積に基づく発現様式を RT-PCR 法等によって解析した。

*Pn*FLH の cDNA の塩基配列は、floricaula 及び leafy のそれと高い相同性を示した。*Pn*FLHのmRNA は芽生えの各器官の中で頂芽のみで検出された。しかし、この mRNA は栄養成長段階にある連続光下（長日条件）で育てた6日目の芽生えの茎頂において、短日処理の有無に関わらず検出された。また、播種後2週間目の幼植物の第1節の腋芽は休眠しており短日処理による花芽誘導を受けない[1]が、この腋芽でも *Pn*FLH の mRNA は検出された。これらの結果はアサガオの *Pn*FLH の mRNA の蓄積と短日処理による花芽誘導現象との間には相関関係が無いことを示しており、タバコの相同遺伝子 NFL の結果と類似していた。

1) M. Ono *et al.* Phyiol. Plant. 87, 1-6 (1993)

2aH12

Differential display法によるアサガオ花成誘導特異的遺伝子のクローニング

小野　公代、[1] 小野　道之、鎌田　博（筑波大・生物、[1] 秋田県農短大・生工研）

アサガオ（*Pharbitis nil* Choisy, cv. Violet)は、光周刺激に極めて敏感な短日植物であり、芽生えの段階でも一回の短日処理によって花芽を誘導できる。このような光周的花成誘導を行う植物では、葉が光周刺激の感受及び花成誘導物質の生産の場であると考えられている。本研究では、花成誘導中の子葉での遺伝子発現の変化を調べる目的で、differential display法を用い、光周的花成誘導条件下で特異的に発現するmRNAの検出を行った。

花成誘導条件のみで検出されるバンドを同定し、得られたバンドをプローブとして子葉のcDNA libraryをスクリーニングし、対応する全長クローン(PnC401)を単離した。このクローンは既知の遺伝子とのホモロジーは検出されず、新規の遺伝子であることが示唆された。ノーザン解析の結果、PnC401は、誘導暗期中に発現量が増加し、誘導暗期終了直後には著しく発現量が減少し、また、サーカディアン変動を示すことも明らかとなった。一方、限界暗期長がVioletより短い品種Kidachiでは、誘導暗期中の発現のピークがVioletより早くなっており、花成誘導とPnC401の発現に何らかの関係があることが示唆された。

2aH13

トランスポゾンタッギングによるイネ開花時期を決定する遺伝子へのアプローチ

石田亘広[1]，中野年継[1]，井沢　毅[1]，橋本尚子[2]，島本　功[1]（[1]NAIST・バイオサイエンス，[2]植工研）

イネは代表的な短日植物であり，その開花時期は日長感受性によって決定されている。我々は環境変化に応答する開花機構を明らかにするため，日長に対して非感受性で開花時期に影響を与える突然変異体をトランスポゾンを用いて作製し，その遺伝子を単離することを目的とした研究を行っている。

まず*Ac*転移酵素遺伝子を導入した形質転換イネと*Ds*を導入した形質転換イネを交配し，得られた個体の自殖F_3，F_4世代をスクリーニングして開花時期が早くなっている系統を選抜した。さらにこれらの系統のF_5世代を調べた結果，変異体の表現型は安定しており，F_4世代同様に開花時期が早くなっていた。F_5世代C-2-3系統のサザン解析において，各ライン内において共通の場所にみられる*Ds*の存在を確認することができ，IPCR法によってこの*Ds*近傍の遺伝子を単離した。さらにRT-PCR法により，今回単離した遺伝子は構造遺伝子で，イネにおいて転写されていることが示唆された。

現在，単離した遺伝子が開花時期に関与するかを調べるために，*Ds*が転移した結果生じる復帰変異体の解析を進めている。

2pH01

シロイヌナズナ花序形態形成突然変異*acaulis2*の遺伝子領域に検出される遺伝子の発現の解析

稲塲-日向野　久美子、加藤　敦之、米田　好文
（北大・大学院理・生物科学）

栄養生長から生殖生長への移行時期に、シロイヌナズナにおいては花茎が伸長し花序を形成する。単離された*acaulis2*(*acl2*) 変異株は花茎の節間伸長に欠失を示し、*ACL2* 遺伝子はこの伸長に関与していると考えられる。*ACL2*遺伝子の発現部位や時期、その機能は未解明であり、遺伝子の現象への関与の解明を目指し*ACL2*遺伝子の単離を試みている。タギングや欠失による変異株が得られていないため、遺伝子の単離には、遺伝子座位に基づく方法を用いている。*ACL2*座位近傍の詳細な遺伝子地図を作成、近傍のマーカーを起点としYACクローンを用いた染色体歩行を始めた。以降、*ACL2*座をはさみ存在するSSLPマーカー、nga280、ATHGENEAの間に組換えのあるF2植物を約１０００株の中から集めて解析し、*ACL2*座近傍に新たな組換え点を同定、*ACL2*遺伝子領域を狭めた。また、YAC、Ｐ１クローンのコンティグを作成し、この中から*ACL2*座を含むYAC、Ｐ１クローンを得た。これらのクローンに存在する遺伝子をcDNAの単離により明らかにし、その発現様式の解析を進める。

2pH02

花芽形成抑制遺伝子としてのシロイヌナズナ*pin*突然変異体の解析

澤　進一郎[1,3]、Detlef Weigel[2]，町田　泰則[1]、岡田　清孝[3]、志村　令郎[3]（[1]名大、理、[2]Salk Institute for Biological Studies、[3]京大、理）

シロイヌナズナの*pin*突然変異体は花芽が形成されにくく、*tfl*突然変異体は茎頂部が花芽に変換する。*pin*突然変異体は時々*tfl*突然変異体様の表現形を示すことから*pin*の茎頂部は花芽としてのIDENTITYを獲得していると考えられる。花芽形成には*API, LFY*遺伝子が機能することが必要であると考えられており、*tfl*突然変異体の茎頂部では*API, LFY*遺伝子が発現し、花序が花芽に変換されることがしられている。*pin*の茎頂における*API, LFY*遺伝子の発現を検証した結果*API*の発現はみられたが、*LFY*の発現は見られなかった。そこで*pin*突然変異体において*LFY*遺伝子を強制発現させたところ花芽形成が促進され, *tfl*突然変異体の強いalleleのような表現型を示した。このことから、*PIN*遺伝子は*TFL*遺伝子と共同的に働いて*API*遺伝子を抑制することで花芽形成を抑制しているが、*TFL*は*API, LFY*両遺伝子の発現を抑制するのに対して*PIN*は*API*遺伝子のみを抑制することが示唆された。

2pH03

シロイヌナズナの花成遅延遺伝子の遺伝学的解析

荒木　崇・ Marty F. Yanofsky[1]・岩淵雅樹（京都大・理・植物，[1]カリフォルニア大・サンディエゴ校・生物）

この１０年間に、花芽形態形成過程の遺伝学的制御機構に関する理解は大きく進展した。この過程の最も初期の過程である花芽分裂組織のアイデンティティーの決定に関与する遺伝子が最近になってクローン化され、その詳細な解析が進められている。その結果、これらの遺伝子の直接ないしは間接の制御因子としての花成誘導遺伝子の理解の必要性の認識が高まりつつある。

シロイヌナズナでは１０以上の花芽誘導遺伝子が「花成遅延突然変異」として同定され、遺伝学的・生理学的に研究がなされてきた。さらに、最近になって２つの遺伝子がクローン化された。

われわれは、新しい花成遅延突然変異の単離と当該遺伝子のクローン化を目的として、Columbia野生株およびそれに由来する*ap1-13*変異を親株としたＴ－ＤＮＡタグ・ラインの作出と突然変異体のスクリーニングを進めてきた。その結果得られたＴ－ＤＮＡ挿入変異と考えられる花成遅延変異態の解析について報告する。

2pH04

シロイヌナズナを用いた根毛の形態形成に関与する遺伝子の解析

久保深雪、和田拓治、石黒澄衛、岡田清孝（京大・理）

寒天培地の表面を這っているシロイヌナズナの根では、根毛は短く、根の軸にたいして垂直に伸びる（寒天面型）が、根が空中に飛び出した場合には、根毛は長く、斜めに伸びる（空中型）。オーキシンやエチレン抵抗性の変異体は、空中型は正常に生じるが、寒天面上では根毛を生じない。このような根毛の形態変化がどのような仕組みで起こるのかを明らかにするために、EMS処理した種子をスクリーニングし、寒天面上では根毛を生じるが、空中では根毛を生じない変異体（*rot120*）を単離した。野生型およびこれらの変異体を液体培地中で育てたところ、*rot120*変異体では根毛の伸長が見られず、野生型および*aux1*変異体の根毛は空中型に類似した形態を示した。よって、空中に飛び出した場合の刺激が乾燥によるものではないことが示唆された。*aux1*変異体と*rot120*変異体の二重変異体を作成したところ、根毛は*rot120*変異体の形態を示した。よって、*rot120*遺伝子は根毛形成に関して*aux1*遺伝子と同じpathway上で働いていることが示唆された。現在、その他の根毛に関する変異体とも二重変異体を作成中である。また同時に、根毛が太く短く、枝わかれする変異体（*rot424*）も単離した。これらの遺伝子は*rot120*が第５染色体上に、*rot424*が第４染色体上にマッピングされた。

2pH05

葉形態形成に関わる遺伝子*LANCEOLATUS1*及び*MACROPHYLLA*－アラビドプシスの変異株を用いた発生遺伝学的解析

金　炅泰・塚谷　裕一・内宮　博文（東京大学･分子細胞生物学研究所）

双子葉植物の葉は複雑な発生過程を伴うため、その形態形成の仕組みはまだ十分解明されていない。そこで、我々はアラビドプシスから葉の形態の突然変異株を単離解析することで、葉の発生過程に与える遺伝制御系の解明を目指している。ここでは、細く小型の葉の形態を示す*lanceolatus1(lan1)*変異株（塚谷ら、94年度日本植物生理学会大会）及び大葉の形態を示す*macrophylla(mac)*変異株を解析した結果について報告する。

*LAN1*遺伝子は第2染色体上 32.8±4.0 map unitに位置し、その変異は葉身の細胞の伸長欠損と共に、細胞の数の減少を引き起こすことが確認された。この解析結果から*LAN1*遺伝子は、葉の展開に際して細胞伸長、及び細胞分裂の促進に関わる遺伝子であることが示唆された。一方、表現型として大型の葉を示す*macrophylla*変異株は、解剖学的解析の結果、葉身の細胞分裂の過程に欠損がなく、細胞伸長が促進されていることが確認された。この結果から*MAC*遺伝子は、葉の展開に際して細胞伸長の抑制、ないし終止に関わる遺伝子であることが示唆された。二重変異株の作製から、これらの二つの遺伝子は独立に機能することが明らかになった。葉の展開過程における細胞の分裂と細胞伸長との相互作用について、また、葉の形態形成を司る遺伝子ネットワークについて、これまでに単離した変異株との二重変異株を作製した結果と併せて考察する。

2pH06

アラビドプシスの子葉における形態異常変異体の単離と解析

庄田恵子、金炅泰、塚谷裕一、内宮博文（東大・分子細胞生物学研究所）

我々は双子葉植物の葉形態形成のメカニズムを解明するために、アラビドプシス（*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.）をモデル植物とした発生遺伝学的解析を進めてきた。本研究ではアラビドプシスの子葉に注目し、その解析を行なっている。子葉は本葉に比べ形状が単純・小型であり、細胞数が少なく解析しやすい。また、胚発生の過程でほぼ細胞分裂が終了しているため、その展開はもっぱら細胞伸長に依存する（Tsukaya *et al.*, 1994）。したがって子葉では、葉の発生過程を複雑にしている同時的、同所的な細胞分裂と細胞伸長を分けて考えることが可能になる。子葉はこのように、葉の形成を理解する上で優れた材料である。そこで、変異原処理したM2世代から子葉の形態に異常を示す個体をスクリーニングし、変異体を多数単離したので、その変異スペクトルについて概要を報告する。

一方、子葉と本葉のアイデンティティーについては古くより意見が分かれている。この点に関して、子葉に本葉的な性質を示す*leafy cotyledon 1*（*lec1*）変異体（Meinke *et al.*, 1992）を用いた解析も行なっているので、併せて報告する。*lec1*変異体と、本葉に特異的に変異形質の現れる変異体との間に、二重変異体を得た。その結果二重変異体では、本葉でしか現れなかった形質が子葉にも現れるようになった。これは、*lec1* 変異体の子葉が本葉に置換している可能性を示唆する。*LEC 1*遺伝子の制御下にある葉形態形成機構について考察する。

2pH07

アラビドプシスを用いた葉身の伸長制御機構に関する発生遺伝学的解析　－細胞質表層微小管を介した制御系－

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）

葉は、植物の地上部の形態形成を解明する際に鍵となる器官である。双子葉植物の葉の発生は、細胞の分裂と伸長とが、同時的かつ同所的に起こる非常に複雑な過程である。演者らは、アラビドプシス(*Arabidopsis thaliana*)を双子葉植物のモデルとして用い、この複雑な過程から葉形態形成に関わる遺伝学的素過程を抽出して、解析をすすめている。

変異体を用いたこれまでの解析により、葉身の展開過程において、細胞の伸長を介した葉形態の制御系が複数機能していることが判明した。その中には、細胞の極性伸長を介した制御系と無極性伸長を介した制御系とが存在する。前者の制御系においては、葉身横方向を制御する*ANGUSTIFOLIA*(*AN*)遺伝子と、葉身縦方向を制御する*RORUNDIFOLIA3*(*ROT3*)遺伝子とが、互いに独立に、葉器官に特異的に機能していることを明らかにした（柘植ら　日本植物学会1995年度大会）。そこで、細胞の極性伸長との関連が知られている、細胞骨格系について、その配向の観察を行なった結果、*AN*遺伝子は、葉細胞の細胞質表層微小管の配向を変えることにより、葉形態を制御している可能性が強く示唆された。さらに、*an rot3*二重変異体についても解析を進めているので、あわせて報告する。

また、これらの制御の相互関係を明らかにする目的で、それぞれの制御系に関わる変異体間の多重変異体の解析についても報告する。

2pH08

アラビドプシスねじれ変異株の解析

橋本隆、渡邊夕子、内田純也、立元秀樹、土原和子、鹿内利治、山田康之（奈良先端大・バイオ）

植物体の中心軸（花茎、胚軸、主根など）が細胞分裂を伴わずに真っ直ぐに伸長するためには組織を構成する全ての細胞層が伸長方向に同調して伸長しなければならない。この同調的細胞伸長が崩れた場合、例えば中心軸の片側が反対側より速く伸長すれば屈性現象が見られる。もし、表皮細胞層が中心柱よりも速く伸長する場合には表皮細胞層がねじれ、中心軸が太くなると想像される。こうした中心軸のねじれは幼植物を堅い寒天上で育てた場合にねじれの方向に対応して根が重力方向からずれた一定方向に伸長することから簡便に判別できる。我々は高速中性子で照射したアラビドプシス M2 幼植物から根が寒天上で通常の伸長方向に対し常に左にずれる劣性突然変異株を５株単離した。このうち、解析の比較的進んでいる３株については同一の遺伝子座の変異であり、これらの変異株を *spiral*（*spl*）と命名した。

2pH09

シロイヌナズナｔｉｎｙ突然変異体を用いた下胚軸伸長成長の分子遺伝学的解析

倉田　哲也、山本　興太朗（北海道大・地球環境・環境分子生物）

植物の形態形成は、特定の細胞が特定の時期に細胞分裂ならびに細胞伸長を行うことで成り立つと考えられる。細胞伸長を解析するために、芽生えを構成する下胚軸伸長成長の生理学的、分子生物学的研究が行われている。本研究ではこの下胚軸伸長成長の分子遺伝学的研究を行うために、シロイヌナズナを用いて下胚軸伸長欠損変異体ｔｉｎｙの単離、解析を行った。これまでにｔｉｎｙ１、ｔｉｎｙ２、ｔｉｎｙ3の３つの突然変異体を同定した。これらの変異体は暗所において短い下胚軸をもつが、典型的な構成的光形態形成変異体と異なり、表現型は下胚軸特異的であることがわかった。ｔｉｎｙ１変異体は下胚軸が短いほかに、青色光、近赤外光下においてアントシアニンの蓄積が野生株より増加している。また青色光受容体欠損変異体であるｃｒｙ１（別名ｈｙ４－２．２３Ｎ）との２重変異体は、ともに短い下胚軸をもつことから、ＴＩＮＹ１遺伝子はＣＲＹ１の下流に位置していると考えられる。ＴＩＮＹ遺伝子の分子レベルでの機能解析を行うためにＴ－ＤＮＡ系統（Ｆｅｌｄｍａｎｎ，1991）より単離したｔｉｎｙ3を用いて解析を行ったところ、変異と耐性マーカーとの間に強い連鎖がみられ、１コピーのＴ－ＤＮＡ挿入を持つことがわかった。現在、ＩＰＣＲにより近傍配列を単離し、ＴＩＮＹ３遺伝子のクローニングを行っている。

2pH10

トライコム細胞特異的な発現に関与するシロイヌナズナ*cdc2*プロモーター領域の解析

今宿芳郎,青山卓史,後藤弘爾,岡穆宏（京大・化研）

シロイヌナズナからクローニングされた*CDC2a*遺伝子は酵母の*cdc2*欠損を相補し、分裂組織で高頻度で発現していることからシロイヌナズナの細胞周期制御に関与していると考えられている。今回、*CDC2a*遺伝子のプロモーター領域の短いDNA断片をGUS遺伝子と融合しシロイヌナズナに導入した形質転換植物はトライコム特異的にGUS酵素活性が認められた。トライコムは葉などの表皮細胞から分化した巨大な単一細胞からなり、細胞分裂を伴わないDNAの複製により32CのDNA量をもつ。トライコムの形成過程とプロモーター活性の相関関係を明らかにするために、上記の形質転換植物をトライコム形成過程の様々な変異株（*gl1,gl2,gl3,ttg*）と掛け合わせ、各変異株中でのGUS酵素活性を調べた。

2pH11

イネ zebra （横縞葉）突然変異株における形質発現の温度および光依存性

小森久代、楠見健介、水谷明子、岡山繁樹、佐藤光[1]、射場厚

（九大・理・生物、[1]九大・農・遺伝子資源センター）

イネ zebra 突然変異株（TCM248）は、屋外での生育において葉脈に対して垂直方向に緑の部分と薄緑の部分が交互に表われる表現型を示す単劣性の突然変異株である。TCM248を人工気象器を用いてさまざまな温度、光条件下で生育させたところ、30℃ Light 12h/ 20℃ Dark 12h の周期的な条件下で最も顕著な zebra 表現型を示した。この条件を基本生育条件とし、温度条件と光条件を独立に変化させたところ、いずれの場合も zebra 表現型が観察されたが、温度、光条件とも一定にした場合には観察されなかった。葉の緑の部分と薄緑の部分とを比較したところ、薄緑の部分ではクロロフィルおよびカロチノイドの蓄積が阻害されており、葉細胞中の葉緑体数が減少していた。葉緑体の微細構造を調べたところ、薄緑の部分の葉細胞中ではチラコイド膜などの膜構造が破壊された葉緑体が多数観察された。さらに生育途中のTCM248について、温度・光一定の条件から基本生育条件へ移す、あるいはその逆の環境シフト実験を行った結果、葉の発生の初期過程においてzebra 表現型が特異的に決定されることが明らかになった。

2pH12

rpo, rps 遺伝子の葉の発生段階特異的な発現パターンに対するイネ virescent 突然変異の影響

楠見健介、小森久代、稲田 仁、水谷明子、西村光雄、 射場厚 （九州大・理・生物）

高等植物におけるプロプラスチドから葉緑体への分化のプロセスは、葉緑体と核との相互作用によって制御されていると考えられ、葉緑体と核の両ゲノムにコードされた多数の葉緑体タンパクの発現を伴い進行する。ノーザン法により、イネの葉の各成長過程において葉緑体形成に関与する遺伝子の発現を比較したところ、葉緑体ゲノム遺伝子の発現に重要な役割を果たすと考えられる葉緑体RNAポリメラーゼ遺伝子*rpo*B、および葉緑体リボゾーム遺伝子*rps*7、*rps*15が、他の遺伝子（*rbc*S, *rbc*L, *cab*, *psb*A）に先立ち幼葉の段階で特異的に発現していることがわかった。さらに、*in situ* ハイブリダイゼーションの結果から、*rpo*B遺伝子は葉が抽出を開始する直前の発生ステージ（P4～P5）にトランジェントな発現をすることがわかった。イネの温度感受性突然変異 virescent (v_1) は、植物を20℃で生育させるとプロプラスチドから葉緑体への分化を不可逆的に阻害する。このような温度で生育させた v_1 株において、葉の成長過程における各遺伝子の発現パターンを比較したところ、幼葉段階での*rpo*B, *rps*7, *rps*15 の発現は完全に抑えられ、かわって成熟葉の発生ステージ（P5～P6）において大量の転写産物の蓄積が観察された。また、核コードの葉緑体タンパク遺伝子の発現パターンはほとんど影響されなかったが、プラスチドにおける上記以外の葉緑体ゲノム遺伝子の発現は全般的に著しく阻害された。これらの結果から、プラスチドにおける転写・翻訳系の確立が、葉緑体分化の最初のプロセスの１つであることが示され、葉の成長にともなう葉緑体分化のメカニズムを理解する上で重要な意味を持っていると思われる。

3aH01

ニンジン不定胚分化過程におけるホメオボックス遺伝子*CHB*sの組織特異的発現

日渡祐二[1]、川原良一[2]、福田裕穂[1,3]（[1]東北大院・理・生物、[2]理化学研究所GB、[3]東大・理・植物園）

私たちの研究室では、ニンジン不定胚分化系をモデル系として用い、植物の胚発生について分子生物学的に解析している。最近、植物の胚の発生プログラムを担う遺伝子の転写調節の解析を目的として、６種類のホメオボックス遺伝子（*CHB*s）を単離した。単離された*CHB*sは、そのすべてがホメオボックスに隣接するロイシンジッパーをもち、ノーザン解析により不定胚分化過程において異なるパターンで発現することが示された。そこで、これらの遺伝子の不定胚内での空間的な発現様式を調べるために、*in situ* hybridazationを用いた解析を行った。*CHB1*は、茎頂および根端の分裂組織分化に先立って発現すること、また*CHB3*は、皮層で強く発現することをこれまでに報告した。今回、*CHB4*、*5*、*6*について*in situ* hybridizationを行ったのでその結果を報告する。*CHB4*、*5*は、カルス、球状胚、心臓型胚においては発現していなかったが、魚雷型胚において*CHB4*は皮層および道管に、*CHB5*は皮層に発現していた。*CHB6*は、球状胚では発現していなかったが、カルスでは全体に、心臓型胚では将来中心柱になる領域に、魚雷型胚では中心柱の最も外側の領域に発現していた。このように、*CHB*がそれぞれ組織形成に関連して発現していることが示唆された。以上の結果をもとに不定胚分化過程での*CHB*の発現様式と組織分化について考察したい。

3aH02

イネホメオボックス遺伝子*OSH1*の胚発生時における発現パターン

佐藤　豊、洪　淳寛[1]、長戸康郎[1]、松岡　信（名大・分子応答研究セ、[1]東大・農）

ホメオボックス遺伝子は多くの生物種に共通して存在するホメオドメインと呼ばれる領域を持つタンパク質をコードする遺伝子群で、動物において胚発生時のパターン形成に重要な役割を持つことが明らかにされている。同様に、植物の胚発生時においても、ホメオボックス遺伝子が重要な役割を担っていることは想像されているが、このことを積極的に支持する実験結果はまだほとんど得られていない。今回私たちはイネ由来のホメオボックス遺伝子*OSH1*の胚発生時における発現パターンを、野生型イネの胚および、器官分化を起こさない突然変異を持つイネの胚を用い　*in situ*　ハイブリダイゼーション法により調べた。その結果、*OSH1*は器官分化が起こる以前の胚発生初期から、将来茎頂が形成されるべき部位に局所的な発現を示した。また、このとき野生型及び、変異株の両方において同様の発現パターンが観察された。これらの結果は、*OSH1*が器官分化以前の胚発生初期に胚の領域分化に関わっていることを示唆しており、イネホメオボックス遺伝子*OSH1*が動物のホメオボックス遺伝子のように、胚発生時において重要な役割を担っていることが考えられる。

3aH03

タバコホメオボックス遺伝子*NTH23*の発現が抑制された形質転換体は葉の形態異常を示す

玉置雅紀、松岡信（名大・生物分子応答）

近年、植物の形態形成に関する分子生物学的アプローチが盛んになっている。我々の研究室では植物の形態形成にホメオボックス遺伝子がどの様に関係しているかを明らかにすることを目的としている。前年度の大会で、我々はタバコホメオボックス遺伝子*NTH15*が葉の形態形成に重要な役割を持つことを示した。今回新たにタバコより単離されたホメオボックス遺伝子*NTH23*について報告する。

タバコの茎頂cDNAライブラリーを*NTH15*のホメオドメインをコードしている領域をプローブとしてスクリーニングしたところ、新しいクローン*NTH23*が単離された。植物のホメオボックス遺伝子はホメオドメインのアミノ酸配列によりいくつかのグループに分けられるが、*NTH23*はKn1 typeのclass2に属し、その内イネホメオボックス遺伝子*OSH45*と96%の最も高い相同性を持つことが明らかになった。ノーザン解析によりこの遺伝子は調べた各器官全てにおいて発現が見られたが、特に幼葉において高い発現を示した。35Sプロモーターの支配下で*NTH23*のcDNAをセンス及びアンチセンスに発現するコンストラクトを作製し、これらの導入によるタバコの形態変化を調べた。その結果、センスの導入による形態への影響は見られなかったがアンチセンスを導入することにより葉の形態に異常が観察された。発現様式、トランスジェニックの表現型について*NTH15*との比較により考察する。

3aH04

ジンクフィンガー転写調節因子EPFファミリー遺伝子へのトランスポゾン挿入変異体の選抜

小林晃[1]，坂本綾子[1]，Ronald Koes[2]，Erik Souer[2]，高辻博志[1]（[1]農水省・生物研，[2]Vrije Univ.）

ペチュニアのCys2/His2型ジンクフィンガープロテインであるEPFファミリーは花の各器官における遺伝子発現や形質転換植物に生じた表現型等から、花の器官形成に関わる転写因子である可能性がこれまでに示唆されている。

ペチュニアの変異体W138には内在性トランスポゾン*dTph1*が多コピー存在し、高頻度で転移するので、これを利用して*dTph1*挿入によって目的の遺伝子が破壊された変異体を得ることができる。そこで今回EPFファミリーの機能解明をさらに進めるため、それぞれのEPF遺伝子への*dTph1*挿入変異体を選抜した。変異体の選抜は、4280個体からなる変異体のゲノムDNAライブラリーを、それぞれEPF遺伝子および*dTph1*に特異的なプライマーによるPCRによって3次元的にスクリーニングすることにより行った。その結果EPF1、EPF2-5、EPF2-7のコーディング領域およびその周辺の異なる位置に*dTph1*の挿入が認められた個体が、これまでにそれぞれ2～3個体得られた。これらの変異体の自殖後代の表現型について解析を行う予定である。

3aH05

ヒャクニチソウ葉肉細胞から管状要素への分化転換過程で発現する*myb*相同遺伝子の解析

坂本和俊・杉山宗隆・福田裕穂[1]（東北大院・理・生物、[1]東大・理・植物園）

*myb*遺伝子はニワトリ骨髄芽球症のウィルスのガン遺伝子v-*myb*として初めて見出され、その細胞性相同遺伝子c-*myb*の産物は造血性細胞の分化・増殖に関与する転写因子であることが明らかにされている。植物でも*myb*相同遺伝子の解析が進んでおり、アントシアニンの生合成、トリコーム形成、細胞増殖、環境応答などにおいて重要な役割を果たすことが示唆されている。ヒャクニチソウ（*Zinnia elegans* L.）管状要素分化誘導系では単離葉肉細胞がオーキシンとサイトカイニンを含む培地での培養により高頻度かつ同調的に管状要素へと分化転換するが、このとき分化に関連して多数の遺伝子が発現することが知られている。これらの遺伝子の発現に関与する可能性を考え、ヒャクニチソウ培養葉肉細胞からの*myb*相同遺伝子の単離を試みた。培養細胞から調製したcDNAを鋳型とし*myb*相同遺伝子の保存配列に基づいて作成した特異的プライマーを用いてPCRを行い、増幅DNAをクローン化したところ8種類の*myb*相同遺伝子の断片が得られた。次に、分化誘導培地および対照培地で培養した細胞からRNAを抽出、RT-PCR後、各クローンをプローブに用いてサザン解析を行った。その結果、2つのクローンについて管状要素分化との関連が予想される発現が認められた。

3aH06

ヒャクニチソウ細胞の管状要素分化におけるシステインプロテアーゼ遺伝子の特異的かつ一過的発現

南　淳、出村　拓[1]、福田裕穂[2]（鶴岡工業高専・物質工学、[1]東北大・理・生物、[2]東京大・理・植物園）

管状要素分化に伴う細胞の自己分解は高等植物におけるプログラム細胞死の典型である。私達は管状要素に分化しているヒャクニチソウ細胞からシステインプロテアーゼをコードする遺伝子を単離し、その性質を調べた。degenerateプライマーによるPCRを用いてcDNAをクローニングし、配列を調べた。互いによく似ており、システインプロテアーゼ遺伝子にホモロジーを持つ2つのクローンを単離し、ZCP 1、ZCP 2と名付けた。次に、これをプローブとしてλgt11cDNAライブラリーをスクリーニングして、全長のcDNAのZCP 4を単離した。ZCP 4の配列は相当する部分においてZCP 2とほぼ同一であり、植物システインプロテアーゼと高い相同性を示す。ノーザンブロット解析により、システインプロテアーゼmRNAが分化誘導培地（D培地）中で培養した細胞中には豊富に存在するが、対照培地中で培養した細胞には検出されないことが示された。D培地で培養した細胞中のシステインプロテアーゼmRNA量は培養48時間目から60時間目に急激に増加したが、これは管状要素数が増加する時期である。さらに、in situハイブリダイゼーションにより、ヒャクニチソウの芽生えにおいてシステインプロテアーゼ遺伝子は管状要素に分化している細胞のみで発現することが示された。

3aH07

シロイヌナズナの道管形成に関する突然変異体の単離

小泉好司[1]，杉山宗隆[1]，福田裕穂[1,2]（[1]東北大院・理・生物，[2]東大・理・植物園）

道管は個体の発生過程において時間的，空間的に厳密に制御されて形成される。私達は，このような制御の背景にある分子機構を遺伝学的に明らかにすることを目指して研究を行っている。今回は，その第一歩としてシロイヌナズナから道管の形成が変化した突然変異体を単離したので，これについて報告する。

スクリーニングは，野生型（Landsberg *erecta* 株）種子をＥＭＳで処理して突然変異を誘発し，Ｍ３世代の種子をＭ２植物体別に収穫して作出したＭ３系統群を用い，播種後7日目の芽生えの道管を検鏡することにより行った。その結果，現在までに子葉における道管形成に異常の見られる突然変異体が16系統単離された。これら突然変異体は，(1) 子葉の側脈の道管がとぎれとぎれになっているもの，(2) 子葉の側脈の道管が見られないもの，(3) 子葉の中央部に管状要素が散らばっているもの，(4) 子葉の主脈，側脈および胚軸部の維管束が太くなっているものの4種に類別できた。

3aH08

ヒャクニチソウ芽生えの発達過程におけるTED2遺伝子の維管束組織特異的な発現

出村　拓[1]，福田　裕穂[1,2]（[1]東北大院・理・生物，[2]東大・理・植物園）

TED2遺伝子はヒャクニチソウ葉肉細胞から管状要素への分化過程で二次壁肥厚などの形態形成に先立って強く発現する遺伝子である。私たちはこれまでに、TED2のmRNAとタンパク質が、植物体内では未成熟な管状要素だけではなく原形成層や師部など他の維管束組織にも発現することを明らかにしてきた。このことから、TED2遺伝子の発現と機能を解明することは維管束組織の発生機構を考える上でも大変重要であると思われる。しかしながら、これまでの発現様式の解析は植物体の一部に限られており全体像の把握には至っていない。

そこで今回私たちは、ヒャクニチソウ芽生えの発達過程におけるTED2のmRNAとタンパク質の局在を更に詳細に解析することによりTED2遺伝子の発現様式の全容の解明を試み、TED2遺伝子が植物体全体の維管束組織の発生に関連して発現していることを明らかにした。まず、ヒャクニチソウ芽生えの茎頂におけるTED2 mRNAの局在を調べたところ、最も小さい葉原基の中心付近の原形成層に強く発現することが分かった。また、茎頂の未成熟な維管束ではほぼ全体にmRNAが発現するものの、発達が進むと発現領域が師部組織の一部などに限られていくことが分かった。このことは茎頂由来の維管束組織の発生にもTED2遺伝子の発現が深く関連していることを示唆している。更に、芽生えの子葉におけるTED2のmRNAとタンパク質の発現を調べたところ、発芽直後の維管束の師部領域に既にタンパク質が蓄積されているのに対して、その領域にはmRNAの発現がみられないことが分かった。この結果は、胚発生過程でTED2タンパク質が維管束組織中に蓄積し、種子中でも分解されずに残り、発芽後すぐの維管束組織発生過程で機能していることを示唆している。このことを確かめるために種子中におけるタンパク質の蓄積を現在調べているところである。

3aH09

ヒャクニチソウ葉肉細胞の分化転換初期に発現する遺伝子の傷害誘導性と管状要素分化への関与

永田美世[1]，出村拓[1]，福田裕穂[1,2]（[1]東北大院・理・生物，[2]東大・理・植物園）

ヒャクニチソウ (*Zinnia elegans* L.) 管状要素分化誘導系では、芽生え第一葉から機械的に単離した葉肉単細胞が、オーキシンとサイトカイニンを含む培地での培養により高頻度かつ同調的に管状要素へと分化する。私達は分化初期過程を解析する第一歩として differential screening を行い、芽生え第一葉に比べ、培養初期にあたる培養12時間目の細胞でより強く発現する遺伝子に対するcDNAクローンを12種類単離した。ノーザン解析により培養初期におけるこれらの遺伝子の転写産物の発現パターンを調べたところ、どの遺伝子についても、培養後早い段階での発現には植物ホルモンは必要ではないこと、培養初期以降の段階でも発現が維持されていることが示唆された。

そこで今回は、まずこれら12種類の遺伝子の発現誘導への物理的な傷害の関与についてノーザン解析により調べた。その結果、葉を切断して培地に浮かべることによりほとんどの遺伝子の発現が誘導されたことから、これらの遺伝子の発現誘導には、実際に物理的な傷害が関与することが示唆された。次に、管状要素分化過程を通しての発現量の変動について調べたところ、これらの遺伝子は培養後24時間目以降になると、植物ホルモンに依存した発現調節が行われることが分かった。また、いくつかの遺伝子の発現は特に分化誘導条件で抑制されたことから、培養後早い段階で発現が誘導される遺伝子の中には、その後の分化に関連して発現が抑制されるものが含まれると考えられた。

3aH10

ヒャクニチソウ毛状根への木部分化特異的ペルオキシダーゼ遺伝子のアンチセンス　ＤＮＡの導入

○崔　賢美[1]、佐藤　康[2]、福田　裕穂[1,3]（[1]東北大・理・生物、[2]愛媛大・理・生物、[3]東大・理・植物園）

私たちはこれまでにヒャクニチソウ管状要素分化系を用いて、細胞壁に存在するペルオキシダーゼ　アイソザイム、Ｐ５が木部分化特異的に発現し、リグニン化に関与することを明らかにしてきた。　更に最近、これに相当すると考えられるｃＤＮＡ　クローン　ＺＰＯ－Ｃを単離した。

今回は、このペルオキシダーゼ　アイソザイム、Ｐ５の*ｉｎ　ｖｉｖｏ*での役割を、遺伝子導入により解析したので報告する。

形質転換植物個体は生存に必須な遺伝子に影響を与えると致死になる可能性があるので、私たちは形質転換根を利用した遺伝子導入系を開発してきている。そこで、ＺＰＯ－Ｃのアンチセンス　ＤＮＡをアグロバクテリアを用いてヒャクニチソウの細胞に導入し、毛状根を誘導し、毛状根中での二次細胞壁形成とのリグニン沈着に対するＺＰＯ－Ｃのアンチセンス　ＤＮＡの影響を解析した。

形質転換根選抜はカナマイシン耐性とホルモンフリーの培地中での毛状根の形成により行った。得られた毛状根中の細胞壁ペルオキシダーゼは活性染色とＺＰＯ－Ｃのｉｎ　ｖｉｔｒｏ翻訳産物に対する抗体を用いたｗｅｓｔｅｒｎ　ｂｌｏｔにより調べた。その結果、アンチセンスＤＮＡが導入された複数のクローンでは根のＰ５と考えられる抗体反応を示すバンドがほぼ完全に消失していた。こうしたクローンはフロログリシノール塩酸により染色され、リグニン化そのものは抑制されてないことが明らかになった。しかしコントロールより早く褐変反応を起こすなど、アンチセンス　クローンに特徴的な性質を示した。現在、リグニン、フェノールの定量化と組織観察を行い、アンチセンス　ＤＮＡの影響を詳細に解析している。

3aH11

シロイヌナズナの茎が重力屈性異常を示す新しい変異株について

山内喜朗、深城英弘、田坂昌生、藤澤久雄　（京大、理、生物）

植物の茎は負の重力屈性を示す。この反応がどのようなしくみでおこるのかを明らかにするために、我々はシロイヌナズナから茎の重力屈性異常変異株をこれまでに多数単離し、解析を行っている。すでにその一部（*sgr1, sgr2,sgr3*）については一昨年の本学会等で報告した(Fukaki,et al. Plant Physiol. in press)。今回は残りの変異株について遺伝学的解析が終了したので報告する。我々が単離した変異株は*sgr1* - *sgr6*の６つの遺伝子座の変異に分けられ、全て劣性変異である。このうち新たに同定した*sgr4(zigzag)*は*sgr1,sgr2*同様に花茎,胚軸とも重力屈性を示さない。一方*sgr5,sgr6*の花茎は*sgr3*と同様ほとんど反応しないが胚軸は正常な屈性を示す。これら*sgr*変異株は全て根の重力屈性や光屈性は正常である。また*sgr1, sgr2,sgr3*と同様に斜め上方向から光を当てて育てると、花茎は光の方向に向かって直線的に伸長する。これより、*SGR4,SGR5,SGR6*は*SGR1,SGR2,SGR3*とともに茎の重力屈性反応に関わる遺伝子群であると考えられる。*sgr5,sgr6*の形態は側枝が水平に伸びる以外は野生株と差はみられない。一方*sgr4*の花茎は節の部分で側枝や花芽が出てくるのと反対の方向に屈折し、節間では弓なりにカーブを描くように伸長する。またロゼット葉は小さく、しわがよっている。花茎と葉の表皮細胞、およびトライコームの形態にも異常がみられる。このことから*sgr4*の種々の形態異常は主に表皮細胞の伸長異常によると考えられる。

3aH12

二次木部における成長応力の発生機構ー木本植物の負の重力屈性挙動を力学的に制御する力

山本浩之、奥山剛、吉田正人（名大・農・応用生物）

樹木は、肥大成長の過程で二次木部に内部応力（成長応力）を発生する。鉛直に成長している樹幹では、その大きさは一定の引張り応力となっているが、樹幹の傾斜部位や枝では、傾斜の上側と下側とで、成長応力の値は大きく異なる。このことは、傾斜樹幹や枝に上向きの曲げモーメントを発生することによって、伸長成長の方向を鉛直上方へと向き直らせることに役立っている。本研究では、木本植物の負の重力屈性挙動を力学的に制御している”成長応力”について、その発生メカニズムを、二次木部の成熟との関連で実験的かつ理論的に考察した。その結果、以下の結論が導かれた。

(1) 細胞壁二次壁の木化（リグニン化）の過程で、セルロースミクロフィブリルは軸方向に収縮する傾向を示し、一方、マトリックスは、リグニンの不可逆的堆積によって等方的に膨張しようとする。両者の相乗作用によって、二次木部の細胞壁に内部応力（成長応力）が発生・残留する。

(2) 二次壁のセルロースミクロフィブリルの配向方向と細胞長軸とのなす角度（ミクロフィブリル傾角、ＭＦＡ）は、成長応力の大きさや符号（引張・圧縮）を制御する因子として極めて重要な役割を担っている。ＭＦＡが大きい細胞では、細胞長軸方向に大きな圧縮の成長応力が発生し、一方、ＭＦＡが小さい細胞では、細胞長軸方向の成長応力は引張りとなる。

I 会 場：細胞形態・加齢

キーワード：細胞壁，加齢·老化，細胞死，細胞周期，細胞分裂，細胞骨格

第一日目 午前	
開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aI01
9:45	1aI02
10:00	1aI03
10:15	1aI04
10:30	休 憩
10:45	1aI05
11:00	1aI06
11:15	1aI07
11:30	1aI08

第二日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	2aI01
8:45	2aI02
9:00	2aI03
9:15	2aI04
9:30	2aI05
9:45	2aI06
10:00	2aI07
10:15	2aI08
10:30	休 憩
10:45	2aI09
11:00	2aI10
11:15	2aI11
11:30	2aI12
11:45	2aI13

第三日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	3aI01
8:45	3aI02
9:00	3aI03
9:15	3aI04
9:30	休 憩
9:45	3aI05
10:00	3aI06
10:15	3aI07
10:30	3aI08

第一日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	1pI01
13:15	1pI02
13:30	1pI03
13:45	1pI04
14:00	1pI05
14:15	1pI06
14:30	1pI07
14:45	1pI08
15:00	休 憩
15:15	1pI09
15:30	1pI10
15:45	1pI11
16:00	1pI12
16:15	1pI13
16:30	1pI14
16:45	1pI15
17:00	1pI16
17:15	1pI17

第二日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	2pI01
13:15	2pI02
13:30	2pI03
13:45	2pI04
14:00	2pI05
14:15	2pI06
14:30	2pI07
14:45	2pI08
15:00	休 憩
15:15	2pI09
15:30	2pI10
15:45	2pI11
16:00	2pI12

1aI01

アズキ上胚軸細胞壁のキシログルカン分解酵素の性質

田渕彰、神阪盛一郎、森仁志[1]、保尊隆享（大阪市大・理・生物,[1]名大・農）

オーキシンによって双子葉植物の茎切片の伸長が促進される際、キシログルカンの分解よって引き起こされる細胞壁のゆるみが必要であることが報告されている。演者らは、キシログルカンの分解に関与すると思われる新規のキシログルカン分解酵素を、アズキ上胚軸細胞壁から1MのNaClによって抽出されるタンパク質画分より精製した（1995年度 日本植物生理学会）。精製酵素を用いてその作用機作を調べたところ、本酵素は高分子のキシログルカンのみを基質として用いたとき、基質を分子量約50 kDa単位に分解する活性を示した。しかし、ゲル過カラム上でのキシログルカンのピークの半値幅を指標として調べても、エンド型キシログルカン転移酵素（EXT）活性は見られなかった。これに対して、ピリジルアミノ標識したキシログルカンオリゴ糖が存在するときは、約50kDaの分解産物をそのオリゴ糖に転移する活性を示すことがわかった。以上の結果から、本酵素はEXTとは異なる加水分解酵素であると考えられるが、キシログルカンオリゴ糖が存在するときには分解産物をそのオリゴ糖に転移する活性を示すことがわかった。また、本酵素の一部のアミノ酸配列は、EXT とホモロジーを示した。

1aI02

気中培養並びに水中培養イネ幼葉鞘細胞壁中の(1→3),(1→4)-ß-D-グルカン分解酵素

陳磊、神阪盛一郎、保尊隆享(大阪市大・理・生物)

(1→3),(1→4)-ß-D-グルカンは、イネ科植物に独特の細胞壁多糖であり、その分解はオーキシンによる細胞壁のゆるみの原因となっていると考えられている。本研究では、幼葉鞘成長におけるグルカン分解の役割を明らかにするため、イネ幼葉鞘の様々な環境での成長に伴う細胞壁グルカナーゼ活性とグルカン量の変動を測定した。グルカン分解活性は細胞壁標品より1MのNaClで抽出されるタンパク質画分に検出された。その活性のレベルは幼葉鞘の成長の初期から成長に伴って増加し、成長停止期に減少した。ガスクロマトグラフィーを用いて測定されたグルカンの量は、グルカナーゼと同様のパターンで変化した。しかし、グルカンの量のピークはグルカナーゼの活性のピークより1日先に見られ、グルカン量の変化はグルカナーゼの作用によってもたらされていることが示された。気中培養幼葉鞘のグルカナーゼ活性は水中培養のそれより高く、また水中から気中に移されて成長が停止しつつある幼葉鞘の細胞壁から最も高い酵素活性が検出された。したがって、幼葉鞘細胞壁のグルカン分解産物の一部は、細胞多糖の合成基質、あるいはエネルギー源として、幼葉鞘の成長停止後に見られる、例えば葉のような他の器官の急速な成長に役立っていると思われる。

1aI03

伸長生長に関与するβ-D-グルカナーゼの精製及び同定

小竹敬久、中川直樹、櫻井直樹　（広島大、総）

イネ科植物のオーキシン誘導の伸長成長では、1,3-1,4-β-グルカンの分解が必要と考えられている。しかし、その伸長成長に関与するβ-D-グルカナーゼは、未だアミノ酸レベルでの同定が行われていない。本研究では、オオムギ幼葉鞘由来のβ-D-グルカナーゼを精製し、そのN末端アミノ酸配列を決定した。暗所で3日間育てたオオムギ幼葉鞘を破砕し、その細胞壁を50mM NaClと冷アセトンで洗浄後、3M LiClによって細胞壁結合タンパク質を抽出した。透析後、上清をSP-TOYO PEARLカラムにかけたところ、2つ以上のグルカナーゼ活性のピークを検出した。このうち0.25M NaCl付近で溶出するピークを、Mono-Sカラム（1回目）、Sephacryl S-200カラム、Mono-Sカラム（2回目）に順にかけ、4段階の精製を行った。活性は同じ幼葉鞘より抽出したβ-グルカンを用いて還元法により測定した。精製したグルカナーゼはSDS-PAGEでは約67kDと測定されたが、これはInouhe & Nevins (1991)がトウモロコシ幼葉鞘より精製したエキソ型グルカナーゼの分子量に近い。精製したグルカナーゼはβ-D-グルコシダーゼ（EC. 3.2.1.21）と思われる基質特異性実験を示した。N末端アミノ酸配列は、*Pseudomonas*の1,4-β-グルコシダーゼ、イネゲノムのcDNA（機能不明）と高いホモロジーを持っていた。

1aI04

発芽期のイネに存在する塩基性のエンド型1,3-β-グルカナーゼの精製とその性質

秋山　高、松葉修一、賀久華江[1]、渋谷直人[1]
（農水省北海道農試、[1]農水省生資研）

発芽期のイネで6日目までに単位蛋白質量当たりの1,3-β-グルカナーゼ活性が約7倍に増加した。発芽種子中の主要な酵素の等電点を測定すると、既に報告した酸性の酵素(農化学会'95要旨)とは異なり、塩基性の等電点を示した。そこで我々はイネ種子からこの塩基性の1,3-β-グルカナーゼを精製しその性質を調べた。精製した酵素は、SDS-PAGEで約32 kDaの分子量を示し、塩基性の等電点(pI 10.0以上)を示した。また、本酵素は水溶性のβ-グルカンの中ではLaminaria digitata由来ラミナリンおよびAlcaligenes faecalisカードランをよく分解し、主に2糖類～7糖類のオリゴ糖を生成したがEisenia bicyclis由来ラミナリン、オオムギのβ-グルカン、CM-セルロースに対しては殆ど活性を示さなかった。1,3-β-グルカナーゼのその他の性質についても併せて報告する。

1aI05

アズキのエンド型キシログルカン転移酵素遺伝子(*EXGT-V1*)及びその類縁遺伝子(*EXGT-V2*)の発現

冨田英津子[1]、岡本繁久、上舞哲也、西谷和彦（[1]鹿児島大・連合大学院、鹿児島大・教養）

エンド型キシログルカン転移酵素(EXGT)は細胞壁中のキシログルカン分子を繋ぎ換える酵素としてアズキより単離したものである。本酵素遺伝子(*EXGT-V1*)をクローニングし、そのmRNAの発現を解析したところ、伸長中の茎で強く発現していることや、オーキシン及びジベレリンによりその発現量が増加することが明らかとなった。これらのことからEXGTは細胞壁中でのキシログルカンの転移反応を通して茎の伸長成長に深く関与していると考えられる。

最近になって、EXGTの類縁タンパク質が複数種存在することがシロイヌナズナやトマトで明らかとなってきた。私達はアズキにおいても*EXGT-V1*の類縁遺伝子のクローニングを進めたところ、非常に高い相同性を持つクローン(*EXGT-V2*)を得ることが出来た。この*EXGT-V2*のアズキ植物体内での発現を調べたところ、*EXGT-V1*とは異なった発現器官特異性示すことが明らかとなった。現在は植物ホルモンなどに対する反応性の違いについても解析中である。

1aI06

タバコ細胞膜ゴースト表層微小管とβ-グルカン生合成

平井則子、園部誠司[1]、林　隆久
（京大・木研、[1]姫工大・理）

セルロースミクロフィブリルの配向は、表層微小管によって制御されていると考えられている。表層微小管は細胞膜に結合し、またセルロースおよびカロース合成酵素はそれぞれ細胞膜タンパク質として巨大複合体を形成している。

本研究は、表層微小管とβ-グルカン合成酵素との関係を調べた初めての試みである。
タバコ培養細胞BY-2のプロトプラストをポリリジンコートしたガラス板上でバーストさせて細胞膜ゴーストを作成し、UDP-グルコースからβ-グルカンの合成を試みた。β-グルカンの染色には、Sirofluor, Calcofluor およびキシログルカン誘導体を用いた。微小管の繊維に対して、合成されたβ-グルカンは点状に散在した。

1aI07

成長する綿繊維細胞における壁酵素遺伝子の発現制御

清水　良訓、川田　俊成、作野　友康、酒井　富久美[1]、林　隆久[1]（鳥取大・農、[1]京都大・木質研）

綿繊維細胞は、種子の表皮細胞が伸長し（一次壁）、伸長の停止とともにセルロースを蓄積する（二次壁）ことによって形成される。実際、伸長は開花後20日目まで起こり、伸長が停止するとセルロースの蓄積速度は100倍以上になって30日目には綿繊維細胞乾重の93～97%がセルロースとなる。これら綿細胞の成長は同調的であるため、2つのステージにおける壁酵素遺伝子の発現制御について調べた。

まず、開花後の各時期のmRNAを鋳型にRT-PCR法によって壁酵素のmRNAレベルを検討した。その結果、β-1,3-グルカナーゼは成長が進むにつれてmRNA量が増加した。エクスパンシンとセルラーゼは成長初期段階においては顕著にmRNA量が高く、成長と共に減少した。エンド型キシログルカン転移酵素については開花後各時期を通じて一定のレベルが認められた。これらmRNA量と酵素活性の関係については現在検討中である。

1aI08

植物に存在する酢酸菌セルロース合成酵素ホモログの機能解析

中川直樹、桜井直樹（広島大、総科、自然）

現在高等植物のセルロース合成に関与する遺伝子をクローニングしたという報告は全くない。この状況を打開するには、他生物のセルロース合成遺伝子に関する知見を利用することが考えられる。最近、いわゆるゲノム計画の一環として農水省イネゲノム解析チームにより、10,000 以上のイネ cDNA の部分配列が決定されデータベース化された。また海外ではアラビドプシスで同様な解析が行われている。これらのデータベースを利用すれば、酢酸菌のセルロース合成酵素と相同性のある植物の新規遺伝子をコンピューター検索により発見できる可能性がある。実際に、私はこの方法によりイネ、アラビドプシスから新規 cDNA (RC1, 2) を見い出した。その配列には、すでに報告されている他生物の多糖合成酵素間で保存されたモチーフが見られることから、実際にセルロースなどの多糖合成に関与する可能性が高い。これらの cDNA にコードされているタンパク質の機能を解明するために、抗体を作成中である。

1pI01

アズキ上はい軸の細胞壁領域に存在する酸化還元物質と酸化還元酵素について

高浜有明夫（九州歯科大）

植物細胞の細胞壁領域にはアスコルビン酸（AA）が存在し、このAAは細胞壁で進行している酸化還元反応を抑制できる。その反応には、細胞壁ペルオキシダーゼによるNADHおよびコニフェリルアルコールの酸化反応が知られている。この抑制反応に伴ってAAは酸化される。NADHの生成には細胞壁のリンゴ酸脱水素酵素が関与していると考えられている。このように細胞壁では種々の酸化還元反応が進行しているが、酸化還元物質の酸化還元状態や酸化還元酵素活性の存在状態等についての情報は多くない。ここでは、アズキ上はい軸の上部と下部でのAAとNADの酸化還元状態とこれらの物質の酸化還元反応に関与するいくつかの酵素について報告する。

細胞壁でのAAとNADの酸化還元状態は下部より上部がより還元的であった。これらの物質の酸化還元反応に関与する酵素としてAA酸化酵素、AAフリーラジカル還元酵素それにリンゴ酸脱水素酵素が細胞壁に存在していることが確かめられた。AAフリーラジカル還元酵素とリンゴ酸脱水素酵素活性は上部の方が下部より高かく、その50%以下が細胞壁にイオン的に結合していた。NADH酸化酵素とAA酸化酵素活性は上部、下部共にほぼ均等に存在し、その70-80%は細胞壁にイオン的に結合していた。以上の結果に基づいて、細胞壁で進行可能な酸化還元反応について考察する予定である。

1pI02

ホウレンソウ胚軸におけるスーパーオキシドの生成とリグニン合成

小川健一、金松澄雄[1]、浅田浩二[2]（京都大・理・分子植物科学、[1]南九州大・食品工、[2]京都大・食研）

リグニン合成にとって不可欠なH_2O_2はスーパーオキシドの不均化反応で生成する。我々は既にホウレンソウのアポプラストにスーパーオキシドの不均化反応を触媒する細胞質型CuZn-スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）が存在し、とくに維管束の木化途上の細胞に多いことを示してきた。 CuZn-SODの組織分布とスーパーオキシドの生成部位との関係を検討するため、ニトロブルーテトラゾリウム(NBT)を用いホウレンソウ胚軸における免疫組織化学を行った。その結果、NBTの還元で生ずるformazaneの沈着はCuZn-SODと同様に維管束に強く見られ、この沈着がCuZn-SODの阻害剤で促進され、低酸素条件では抑えられたことから、スーパーオキシドにより生じたと考えられる。NBTの還元部位はフロログルシン-塩酸反応で検出したリグニンの蓄積部位に近接しており、木部分化の時間的・空間的進行も検討した結果から考えて、O_2の生成部位は木化途上の組織であると考えられた。NBTにより検出したO_2の生成部位が木化の進行する部位およびCuZn-SODの分布部位と非常によく一致することから、木化途上の組織ではスーパーオキシドが生成しCuZn-SODがその不均化反応を促進することでH_2O_2が供給されリグニン合成が進行すると考えられる。

1pI03

植物－病原菌相互作用における細胞壁の役割
～活性酸素の生成～

木場章範、三宅千寿、豊田和弘、一瀬勇規、山田哲治、白石友紀 （岡山大・農）

病原菌に対する植物の初期応答の１つに活性酸素の生成が挙げられる。本報告ではエンドウの病原菌(*M. pinodes*)シグナルと植物の接触の場におけるO_2^-生成について NBT の還元を指標に調べた。本菌のエリシター (E) で無傷のエンドウ、ササゲ葉を処理するとホルマザン (F) の生成が顕著に増加し、この増加は SOD 共存下で抑制された。一方、サプレッサー (S) は E 処理でエンドウに誘導される F 生成を抑制したが、ササゲでは抑制せず、逆に S 単独処理でも F 生成を誘導した。すなわち、無傷のエンドウ、ササゲにおいてもO_2^-が生成され、O_2^-の生成に対して S は種特異的に作用することが判った。以上の結果は無傷葉においても E、S が認識されることを示しており、O_2^-生成における細胞壁の重要性が伺えた。そこでエンドウ、ササゲの分離細胞壁における F の生成を調べたところ、SOD 感受性、NADH 依存性の F 生成が認められ、本活性は E によって上昇し、S で種特異的に制御された。すなわち、細胞壁にO_2^-生成系が存在し、これが菌シグナルで制御されるという結果は、初期防御応答や宿主特異性決定に細胞壁が重要な役割を果たしていることを示唆する。

1pI04

ガラクトースリッチ塩基性糖蛋白質 (GBGP) とエクステンシンの性質とタバコ植物体における分布

武市哲郎、中村拓、川崎信二 （農水省・農業生物資源研）

我々はタバコ培養細胞細胞壁より主要な塩基性糖蛋白質として Gal-rich basic glycoprotein (GBGP) とエクステンシンの２種類を精製し解析を行っている。この両者は共にヒドロキシプロリンリッチ糖蛋白質のグループに属するが、抗体間に交差反応は認められず、アミノ酸組成や糖組成もかなり異なる。GBGP は Gal 含量が非常に高いなどの従来知られていなかったユニークな性質を示し、そのアミノ酸組成やN末配列などから近年遺伝子レベルでのみ存在が報告されている 'half-Pro-rich proteins' の初の精製例であると考えられた。

ニトロセルロース膜を用いる免疫組織ブロット法により GBGP とエクステンシンがそれぞれ柔組織および表皮特異的な特徴的な分布をしていることが示されることは昨年までの本大会で報告済みである。しかしこの手法では易動性の成分のみが検出されるため、抗原蛋白が細胞壁に結合している場合、実際の分布とは異なる可能性があるので、組織切片上で直接抗原を検出することを試みた。マイクロスライサーまたはフリーハンドによるタバコ茎の切片に対し、固定を 2.5% パラホルムアルデヒド 30min という最小限度に留めて直接抗体反応を行うことにより、抗原性が失われずにすみ検出が可能であることが分かった。このようにして検出された GBGP とエクステンシンの分布は基本的には組織ブロット法によるものと同様であったが、以下のようにさらに詳細な点が明らかになった。GBGP は柔組織に多く特に３個の細胞が接して間隙を作っている部分に強く検出され、さらに導管部にも存在が認められた。エクステンシンは表皮のみならず表皮直下の皮層部位にも多く存在しており、さらに形成層（ and/or 師部）にも検出された。

1pI05

光によるトウモロコシ幼葉鞘の成長抑制における細胞壁結合性フェノール化合物とPALの役割

Mohammad Masud PARVEZ, 若林和幸, 保尊隆享, 神阪盛一郎 (大阪市大・理・生物)

私達は、白色光がトウモロコシ幼葉鞘の成長、特に、基部の成長を強く抑えることを報告してきた。成長が抑制される時、細胞壁の伸展性が低下しており、白色光は細胞壁を硬くし成長を抑えているものと考えられた。そこで、本研究では、光による細胞壁の硬化と細胞壁成分、特に、細胞壁結合性フェノール化合物量との関連について検討を行った。

白色光は、細胞壁結合性フェノール化合物（フェルラ酸、ジフェルラ酸、p-クマル酸）量を大幅に増加させた。これら化合物量と細胞壁伸展性との間で非常に高い相関が見られた。次に、フェニルアラニンアンモニアリアーゼ(PAL)活性を調べたところ、PAL活性は白色光下で有意に増加しており、PAL活性と細胞壁結合性フェノール化合物量との間で高い相関が見られた。以上の結果から、白色光は、PAL活性の増加を通して細胞壁結合性フェノール化合物量を増加させ、これにより細胞壁の硬化がおこり成長が抑制されることが示唆された。

1pI06

光によるエンドウ茎成長抑制と細胞壁多糖類の構造変化

三谷祐子、宮本健助[1]、上田純一[1]、若林和幸、保尊隆享 神阪盛一郎、増田芳雄[2] （大阪市大・理・生、[1]大阪府大・総科・自然環境、[2]帝塚山短大・食品）

演者らは、黄化エンドウの茎(上胚軸)において、光(白色光蛍光灯、５W/ｍ^2)は、内部組織細胞壁を硬くし、茎成長の原動力である組織張力を低下させ、成長を抑制することを示してきた。この細胞壁力学的性質の変化の原因を明らかにする目的で、細胞壁構成成分に対する光の影響を検討した。

５日齢黄化エンドウ芽生えに４時間光照射し、茎伸長部域を切り出して表皮と内部組織とに分け、常法に従いペクチン、ヘミセルロース(ＨＣ)-Ｉ、ＨＣ-ＩＩとセルロースに分画した。いずれの組織においても、光照射と暗所対照との間で、これらの分画の比に差はなかった。各画分の分子量分布と中性糖組成を調べた結果、ペクチンおよびＨＣ-Ｉでは光の影響はほとんど認められなかった。一方、内部組織のＨＣ-ＩＩの分子量は、光により顕著に増加し、その増加はキシログルカン(ＸＧ)の分子量増加に基づいていた。これらの事実は、光が内部組織のＸＧ分子量に影響し、細胞壁力学的性質を変化させることを示唆する。

1pI07

オクラ下胚軸切片の浸透的収縮と伸長のコンピューター・シミュレーション

山本良一、増田芳雄（帝塚山短期大学）

オクラ下胚軸切片を高張のソルビトール溶液に浮かべると、切片は収縮する。この収縮の際の水の移動はDarcyの法則の法則あるいはHagen-Poiseuilleの法則によって説明できることはすでに報告した。このことから水の移動そのものにも圧力が必要である。移動する水は細胞膜、細胞壁、クチクラを通る。このときの抵抗を考えに入れると、成長の原動力である浸透圧の力はこの水の移動の抵抗の力と細胞壁圧とに分配される。細胞壁の伸長を応力緩和の係数を使って計算するコンピューター・プログラムを開発したことはすでに報告した。このプログラムを水の移動に力が必要であるという考えを含めたものに修正し細胞壁の伸長を計算した。その結果、計算によって得られる結果は実際に観測したオクラ下胚軸の収縮や伸長とよい一致を示した。このことから、植物の吸水成長を制限する要因は細胞壁の力学的性質に加えて水の移動への抵抗であることが分かった。

1pI08

エンドウの根の細胞壁伸展性のクリープ解析

谷本英一（名古屋市立大・教養・生物）
山本良一（帝塚山短大・食品）

エンドウの根の成長はジベレリン合成阻害剤アンシミドール(Anc)の存在下で，ジベレリン(GA)によって制御できる．Ancは24h以内に根の伸長速度を低下させ，GAは伸長速度を上昇させる．このときGAは細胞壁の伸展性を増加させることが判明した(Tanimoto1994:PCP:1019-28)．さらに，この伸展性の増加は，応力緩和法で解析されてきたオーキシンによる伸展性の増加とは異なる性質を持っていることが指摘された．そこで，一定の荷重下での変形を解析するクリープ法により根の細胞壁の力学的性質を解析し，GAの効果を測定した．アラスカエンドウの根をAnc+-GAで24h処理しメタノール固定した細胞壁を蒸留水に戻し，Rheoner(Yamaden,Tokyo)を用いて，根端から2.5～5.5mmの伸長帯の細胞壁の伸展性を測定した．0-10, 10-20, 20-30ｇの３段階の荷重に対する伸展性を比べると，GAの効果は最後の20-30gの荷重に対する伸展性に最も大きく現れることが分かった．この材料では，30gの荷重は根を断裂させる力に近い．従って，GAは大きい荷重によって初めて伸展する要素の伸展性を増加させていることが示唆された．クリープ法は自然の細胞壁の伸長過程に近い条件での解析法であるので，この方法で得られたGAの効果は実際に根が伸長しているときの細胞壁の伸展性の上昇を反映している可能性が高い．

1pI09

トウモロコシ幼葉鞘細胞壁に存在する酸性蛋白質の性質と機能について

井上雅裕，ネビンス・ドナルド（愛媛大・理・生物，
カリフォルニア大学デイビス校ベジタブルクロプス）

単子葉植物の細胞壁にはβ-グルカンを分解するグルカナーゼが存在し細胞壁の伸展性と細胞の伸長成長に重要な役割を演じている。これまでグルカナーゼ活性がトウモロコシ幼葉鞘の発育に伴い早い時期に上昇することなどを報告してきたが、その活性を調節する因子については不明であった。今回、トウモロコシ幼葉鞘細胞壁から分離精製した特定の酸性蛋白質（ＡＷ）がグルカナーゼ活性調節に関与する可能性が示唆されたので報告する。ＡＷは分子量43Kd、pI 4.6 を持ち、顕著な糖鎖修飾を受けておらず、N末端はブロックされていた。ＡＷは精製したグルカナーゼ活性を２、３倍に高めた。しかしその効果は純度の低い Oat Bran glucanまたは細胞壁標品を基質にした場合はっきりしなかった。抗ＡＷ抗体はオーキシンによる細胞伸長とグルカナーゼ活性を阻害した。また同抗体を用いてＡＷが幼葉鞘の発育とともに合成され、オーキシン処理により幼葉鞘切片で減少することがわかった。以上の結果から、ＡＷは細胞壁から遊離した状態でグルカナーゼと基質グルカンの相互作用に影響を及ぼし細胞壁代謝を調節するというスキームを描くことができるが詳細についてはまだ不明である。

1pI10

酵母 *Saccharomyces exiguus* の細胞壁代謝と細胞壁自己分解能

須合悦子，井上雅裕，遠山鴻，城尾昌範（愛媛大・理・生物）

細胞壁は細胞の形態を維持するだけでなく、細胞の成長を制御する場として重要な役割を果たしている。これまで酵母では、主にパン酵母 *S. cerevisiae* を用いて細胞壁の構造、代謝及び機能に関して詳細な研究がなされてきているが、その他の酵母に関する情報は少ない。酵母 *S. exiguus* は重金属ストレス下で多量の重金属を細胞壁にトラップし、かつ高い増殖率を維持するというユニークな性質を持つ。本研究では、その *S. exiguus* の細胞壁代謝の特性を解明することを目的に、成長に伴う細胞壁糖組成と細胞壁自己分解（オートリシス）活性について研究を行った。

その結果、まず酸加水分解で得られる細胞壁画分の主要な糖組成はグルコース（45－55%）とマンノース（55－45%）で、ガラクトース、アラビノース、キシロース成分はほとんど検出されなかった。両者の比（Glc/Man）は増殖期に増加し定常期に減少する傾向があった。次に、ブラウンホモジェナイザーで抽出して得られた細胞壁画分の自己分解能を測定した結果、増殖期においてより高いβ-(1→3) グルカン分解に由来すると思われる糖の遊離活性が検出された。従って細胞増殖期の細胞壁はグルカンの代謝回転が活発に行われていると思われる。さらに、オートリシス成分について詳しく分析したところ、糖以外にも、最適pH7.0 において顕著なタンパク質成分の遊離がみられることが分かった。またそれは、細胞の成長時期を通してほぼ一定であった。このような性質が *S. exiguus* に特有なものかどうか、現在さらに検討を行っている。

1pI11

ギンドロ培養細胞における成長にともなう細胞壁分解酵素の活性変動

掛川弘一，枝重有祐，石井忠（農林水産省・森林総合研究所）

高等植物の細胞は成長や形態形成過程においてその細胞壁を分解、合成および再構築していると考えられている。伸長成長に関連したキシログルカンの分解、再構築についてはこれまでに多くの知見が得られている。しかし、その他の細胞壁構成成分の代謝については不明な点が多い。我々はこれまでにギンドロ培養細胞系を用いて分裂成長期、肥大成長期における細胞壁多糖類の変化について研究し、肥大成長が活発な時期にペクチンおよびヘミセルロース画分の多糖類が低分子化していることを明らかにした。本研究ではこれらの多糖類の低分子化を引き起こし、肥大成長を誘導する要因と考えられる多糖類分解酵素の活性変動を調べ低分子化や肥大成長との関連を考察することを目的として行った。

多糖類分解酵素のうちペクチンの分解を調節していると考えられるpectin methylesteraseとヘミセルロース成分であるキシログルカンを分解する酵素、endo-1,4-β-glucanaseの活性を経時的に測定した。どちらの酵素も肥大成長が活発な時期に活性のピークを持つことが明らかになり、これらの酵素の働きによって細胞壁多糖類が分解、低分子化することが示唆された。さらにこれらの多糖類の低分子化によって細胞壁に緩みが生じ肥大成長が可能になると推測される。年会ではこの二つの酵素に加えてペクチンを分解する酵素であるendo-polygalacturonaseについても報告する予定である。

1pI12

シュクロース合成酵素の大腸菌での発現

中井朋則、外内尚人[1]、土田隆康[1]、森　仁志[2]、酒井富久美、林　隆久（京都大・木質研、[1]（株）バイオポリマー・リサーチ、[2]名古屋大・農）

シュクロース合成酵素（SuSy：EC 2.4.1.13）は UDP-glucose + fructose ⇌ UDP + sucrose の反応を触媒する酵素で、細胞壁糖鎖前駆体 UDP-glucose の生合成に関与している。細胞内における生合成レベルはむしろ UDP-glucose pyrophosphorylase（EC 2.7.7.9）から生じるものよりも高いことが最近示唆されている。本研究では、マング豆胚軸由来の SuSy cDNA の翻訳領域を PCR により増幅し、発現ベクター pET-21b に導入して、大腸菌内での発現を試みた。大腸菌を超音波で破壊し、酵素を抽出して、濾紙電気泳動法により酵素活性を分析した。開始コドンを含む完全長構造遺伝子より五番目までのアミノ酸残基を欠失させて構築したプラスミド pEB-06 による形質転換体は、活性が認められた。酵素活性は基質として UDP-[^{14}C]glucose と fructose から、[^{14}C]sucrose が合成されること、[^{14}C]sucrose と UDP から UDP-[^{14}C]glucose が合成されることにより同定した。

1pI13

ホウ酸-ラムノガラクツロナン-II複合体はすべての高等植物細胞壁に存在する

河口清香，高崎美紀，小林優，間藤徹，關谷次郎
（京都大・農・農化）

ダイコン細胞壁からペクチナーゼによって可溶化された細胞壁ホウ素の80%以上はラムノガラクツロナンII (RG-II) と複合体を形成していた。この複合体が高等植物に普遍的に存在するか検討した。供試した24種のすべての細胞壁からホウ素はドリセラーゼによって可溶化され，そのほとんどが多糖と会合した形で回収された。ドリセラーゼ可溶化-高分子画分において，ホウ素と，RG-IIに特異的な構成糖のひとつである2-ケト-3-デオキシ糖の含有率には高い相関(R2=0.771)があり，回帰式は原点を通った。これはこの画分の全てのホウ素がRG-IIと会合していること，ホウ素が結合していないRG-IIは存在しないこと，を示唆している。細胞壁ホウ素のほとんどがRG-IIと結合していたアブラナ科，アカザ科などに対し，ウリ科やアオウキクサではRG-II以外のホウ素結合多糖が存在する可能性も示された。B-RG-II複合体はユリ花粉管にも存在することが抗体によって示された。

1pI14

タバコBY-2培養細胞のホウ酸-ラムノガラクツロナンII複合体

小林　優，大野香織，間藤　徹，關谷次郎
（京都大・農・農化）

タバコBY-2培養細胞細胞壁に存在するホウ素の80%以上を占めるホウ素多糖複合体は，ダイコンの場合と同じくホウ酸-ジオールエステルによって架橋されたラムノガラクツロナンII（RG-II）二量体であった．この複合体は希塩酸によってホウ酸とRG-II単量体に分解したが単量体をホウ酸と混合すると経時的に分子量が倍加し二量体が再構成された．この結果はホウ酸-RG-II複合体が自発的に形成されることを示唆する．

培地細胞外多糖のドリセラーゼ消化断片をDEAE-セファロースカラムにかけRG-IIに特異的な2-ケト-3-デオキシ糖を追跡したところ二つのピークが検出され，一方は細胞壁由来BPCと同じ塩濃度で，他方はより低い塩濃度で溶出された．後者の分子量はRG-II単量体のそれと一致するがホウ素を含まず，ホウ酸と混合しても分子量変化は観察されなかった．この多糖断片の組成は現在検討中であるが，RG-IIとの構造の違いがホウ素との結合能力に関係すると考えられ，RG-IIへのホウ酸の配位は糖鎖部分の修飾によって調節されている可能性が示唆される．

1pI15

シュガービートパルプから単離したホウ素－ラムノガラクツロナンーII複合体

石井　忠、松永俊朗[1]（森林総研、[1]農環研）

ホウ素は植物の微量必須元素として知られているが、その機能は不明である。最近、ホウ素は細胞壁中のペクチンに局在していることが報告されている。シュガービートパルプを酵素加水分解してホウ素－多糖複合体を単離・精製した。^{11}BNMRスペクトルよりホウ素は多糖とジエステル結合していることが明かになった。構成糖分析、メチル化分析及び部分分解物の解析より、複合体の糖鎖はラムノガラクツロナン-II（RG－II）であると同定した。ホウ素－RG-II複合体はpH4.8で分子量の低下を併うことなく、ホウ素を徐々に遊離したが、サイズ排除HPLCで測定した分子量の低下は小さかった。

1pI16

タケノコから単離したホウ素-ラムノガラクツロナン-II複合体

金子　哲[1,2]、石井　忠[2]、松永　俊朗[3]（[1]筑波大応生、[2]森林総研、[3]農環研）

ホウ素は植物の微量必須元素として知られており、最近、ホウ素は細胞壁のペクチンに局在していることが報告されているが、その詳細な機能は不明である。タケノコ細胞壁の酵素分解物からDEAE Sepharose FF、Bio-Gel P-10クロマトグラフィーによりホウ素-多糖複合体を単離した。単離した複合体は0.09%(w/w)のホウ素を含んでいた。構成糖分析、メチル化分析及び部分酸分解物の解析より、複合体の糖鎖はラムノガラクツロナン-IIであると同定した。^{11}B-NMRスペクトルよりホウ素は多糖とジエステル結合していると判断された。

1pI17

根の細胞壁多糖類とアルミニウムの結合

レ・バン・ホア、桜井直樹（広島大学・総合科学部）

カボチャの根端５ミリの細胞壁から、水可溶性画分(WS)、ペクチン、可溶性ヘミセルロース多糖類(HB)を抽出し、アルミニウム(Al)との結合をin vitroで調べた。Alはペクチンや HBと混ぜると、ゲル濾過カラムで一緒に溶出された。WSにAlを混ぜると、pH6.5では沈殿ができたが、pH5.5ではできなかった。ペクチンではpH5.5と6.5で沈殿ができたが、pH4.5ではできなかった。HBは２５％がpH6.5で沈殿したのみであった。１mMのAlで処理した根から、細胞壁画分を抽出し、そこに含まれるAlを定量した。処理後１時間で、有意にWSにAlが取り込まれていた。ペクチンには３時間以降で取り込みが見られた。以上の結果から、Alは、pH5.5と6.5ではWSやペクチン多糖類と結合するが、pH4.5では細胞壁多糖類との結合力は小さく、そのため根の細胞内に入り、成長阻害が現れると思われる。

2aI01

コムギ葉より単離した葉緑体の破砕液に見出されるRubisco 分解の特性

石田 宏幸、牧野 周、前 忠彦（東北大・農・応生化）

Rubisco は、C_3植物の成熟葉において可溶性タンパク質の約50%を占める特異なタンパク質である。 Rubiscoは葉の老化に伴い徐々に分解されるが、その分解のメカニズムは現在まで全く不明のままである。本研究は、老化初期のコムギ第一葉から単離した葉緑体の破砕液をインキュベートした場合にみられる Rubisco 分解の特性について調べたものである。

単離した葉緑体を破砕後、 pH 5.7、氷上でインキュベートし、SDS-PAGE/イムノブロット法で分析した。 その結果、Rubisco LSU のN 末端側を含む 37 kD の断片とC 末端側を含む 16 kD の断片が検出された。そこで、これら LSU 断片の出現に対する各種プロテアーゼ阻害剤の効果を調べたところ、EDTA と 1,10－phenanthroline にのみに阻害効果がみられた。次に活性酸素のスカベンジャーの効果を調べたところ、Catalase と n－propylgallate に阻害効果が認められ、更に 10 mM 過酸化水素の添加により LSU 断片の出現が促進されることがわかった。以上のことから、これら LSU 断片の出現には、過酸化水素と金属イオンによって生じる酸素ラジカルが関与していることが示唆された。

2aI02

細胞死による通気組織形成の解析

川合真紀, P. K. サマラジーワ, 山口雅利, 内宮博文（東大・分生研）

イネは水環境に適応した植物であり、内部に発達した通気組織を有する。イネの根における通気組織は、皮層の細胞が死ぬことによって形成される。我々は、通気組織の形成過程を時間を追って観察し、特定の細胞から崩壊が始まることを見出した。また、細胞の生死を区別する為、エバンスブルーによる染色を試みた結果、崩壊に先立って特定の位置の細胞がエバンスブルー染色性（死細胞）になることを見い出した。また、通気組織の形成が嫌気処理によって促進されること、逆に塩処理によって阻害されることを明かにした。これらの結果は、通気組織形成にともなう細胞死が厳密な機構のもとで制御されていることを示唆している。現在、通気組織の発達段階が異なる根における遺伝子の発現パターンをノーザン法により解析しており、その結果も併せて報告する。

2aI03

セントポーリア葉の低温障害によって引き起こされる細胞死とその初期過程

安田ゐう子、藤田哲也、加藤哲也[1]、尹在吉[2]、林孝洋[2]、矢沢進[2]（京都バストゥール研、[1]京大・理・植物、[2]京大・農・花卉園芸）

セントポーリアの葉を冷水に数秒接触させると、柵状組織細胞の光合成は瞬時に停止し，クロロフィル由来の蛍光は急激に減衰する。この変化は不可逆で，一度低温処理を受けた細胞は光合成活性も蛍光も回復せず、死にいたる。低温処理の直後に起こる出来事は大量の酸素吸収で、青酸塩で呼吸を阻害した葉でもおなじような酸素吸収が起こることから、ここではミトコンドリアの呼吸系とは別の酵素が活性化されたと考えられる。この酸素吸収に伴って細胞には520nmに吸収をもつ褐色の物質が蓄積し、これと平行して細胞内小器官のすべてで構造の収縮などの形態的変化が見られた。葉緑体ではストロマラメラの配列の乱れとともに、ルーメンに分布していた電子密度の高い物質の消失、あるいはストロマへの移行がみられた。核ではクロマチンの凝集が見られ，また、低温処理した細胞の核ではDNAの断片化が起こっており、これが細胞死の直接の原因となっていると思われる。

2aI04

コムギの一回結実性老化を制御する内生因子

木下浩司、喜久田嘉郎、幸田泰則（北海道大・農・作物生理）

一回結実性の老化は開花・結実によってに引き起こされることから、成熟中のコムギの子実から何らかの老化を促進する物質が生成されている可能性がある。そこでコムギ第一葉を用いたクロロフィル保持試験により、穂に含まれる老化促進活性について検討した。穂から得たヘキサン可溶性分画に強い老化促進活性が見られ、またその活性は乳熟期に極大値に達した。そこで乳熟期のコムギの穂を材料に用いて、活性分画の精製を試みた結果、この物質は同様な老化促進活性を持つジャスモン酸メチルやアブシジン酸とは異なる挙動を示した。またその比活性は、これら二者よりもかなり高いことが示唆された。これらの結果より、この物質は未知の老化促進物質であることが示唆された。

2aI05

シロイヌナズナにおけるホウ素の動態と高濃度ホウ素要求性変異株

藤原　徹，野口享太郎，安森美帆，松永俊郎[1]，渡辺久男[1]，今井貴敬[2]，内藤　哲[2]，茅野充男（東大・農・応生化，[1]農環研，[2]北大・農・応生）

ホウ素は高等植物にのみ必須な元素である。ホウ素欠乏，過剰による植物に起こる症状は古くから記述され，また，ホウ素は大部分細胞壁に存在し，特定の多糖と結合していることなどが知られているが，生理作用には未解明の点が多い。演者らは，シロイヌナズナ高濃度ホウ素要求性変異株を得た。変異株は，野生株が正常に成長する３μM程度のホウ素を含む水耕液では著しいロゼット葉の成長阻害を示し，３０μM程度のホウ素を与えると，ロゼット葉の成長は回復するが，結実が起こらない。これらの症状は１００μM程度のホウ素を与えることによって回復する。ホウ素の生理作用を分子レベルで明らかにする目的で，遺伝解析，成長解析と共に，ホウ素安定同位体をICP-MSによって測定する方法によるトレーサー実験を行っており，結果を報告する。

2aI06

遊離メチオニンを過剰蓄積する突然変異株の解析

太田垣　聡，南原　英司，内藤　哲（北海道大・農・応用生命科学）

メチオニンのアナログであるエチオニンは、植物に対し毒性を示す。植物体内に過剰の遊離メチオニンを蓄積するためにエチオニンに抵抗性を示すシロイヌナズナの突然変異株(*mto 1-1*)が単離された。*mto 1-1*突然株は発芽後ロゼット葉に野生型株の10-40倍の遊離メチオニンを蓄積するが、播種後25-30日でロゼット葉の遊離メチオニン濃度は野生型株と同レベルにまで低下し、開花後は茎頂部・果実に遊離メチオニンを過剰に蓄積する。このロゼット葉での遊離メチオニン濃度の低下は抽苔に伴うものと考えられた。そこで抽苔の時期を遅らすため、花芽形成が遅れ、その間ロゼット葉を展開し続ける突然変異(*gi 2*)を*mto 1-1*突然株に導入し、二重突然変異株を作成した。二重突然変異株では抽苔は播種後50-60日で起こるが、ロゼット葉での遊離メチオニン濃度の低下は*mto 1-1*突然株と同時期の播種後20-30日に起こった。本会では、短日処理を施した*mto 1-1*突然株での遊離メチオニンの経時変化とともに報告する。

2aI07

アラビドプシスの緑葉の老化に関わるプロテアーゼ遺伝子の発現

中林一美、伊藤正樹、渡邊　昭、篠崎一雄[1]（東京大・院・理系・生物科学、[1]理研・植物分子）

高等植物の葉の老化は細胞内タンパク質の分解や窒素などの再分配が高度に制御されながら進行していく過程である。しかし、この秩序あるタンパク質の分解に関与する分解酵素やその制御機構については不明である。 そこでアラビドプシスの緑葉を用いて、特異性の高い分解系である、葉緑体に局在する Clp プロテアーゼと、細胞質に存在するユビキチン系のプロテアソームの遺伝子について、老化における発現を解析した。その結果、暗処理により誘導した老化、また自然老化のどちらにおいても、乾燥によって発現することが知られている Clp プロテアーゼサブユニットの遺伝子 ERD1 では明らかな発現誘導が確認された。しかしプロテアソームのゼータサブユニット遺伝子の発現に変化は見られなかった。これらの結果より Clp プロテアーゼをコードする遺伝子の発現が緑葉の老化による葉緑体内のタンパク分解に関与している可能性が示唆された。

2aI08

リン酸欠乏ストレスのトウモロコシに及ぼす影響について、
IV.可溶性タンパク質の２次元的パターンの変化ー老化との関連において

臼田秀明、下河原浩介　（帝京大学、医、化学）

リン酸欠乏は植物の生育を律速する要因の一つであるので、その欠乏の影響をトウモロコシを0.5 mMと0.001mMのPi下で生育させ調べてきた。その結果、リン酸欠乏は生長の抑制、クロロフィル含量の低下、光合成の阻害、光合成炭素代謝関連の酵素活性の低下（Sucrose phosphate synthaseは酵素量は減少するが、活性化が促進されるため、活性の低下は抑制される）、下位葉におけるタンパク質の分解とそれに伴う窒素の上位葉への転流の促進、更に、下位葉の老化の促進をもたらすことを明らかにしてきた（PCP 32:497-, 1313-. 34:767-.36:1041. Plant Physiol.99:1680-）。

老化がどのような機構で引き起こされるのかを調べるために、まずリン酸欠乏で誘起される老化の過程で特異的なタンパク質が出現するかどうかを２次元電気泳動により検討した。その結果、可溶性タンパク質は４５０以上のスポットに分離した。そのほとんどはリン酸欠乏とコントロールに共通なものであった。しかし、１１のポリペプチドがその相対的含量を減少させ、１８のポリペプチドがその相対的含量を増加させた。これらについて、老化との関連で考察する。

2aI09

ゼニゴケプロトプラストにおける細胞壁構築と再生細胞の安定性
Ⅰ.阻害剤の効果

菅原康剛，福川英司[1]（埼玉大・理・生体制御，[1]北海道原環セ）

ゼニゴケプロトプラストを活性炭を含む培地で培養すると，24時間以内に細胞壁を再生し，明所では48時間頃から分裂を開始する。しかし，培地に活性炭が含まないと，プロトプラストの生存率は急速に低下する。ところが，培地中に低濃度のセルラーゼを添加して培養すると，再生した細胞壁は直ちに分解され，同時にプロトプラストは安定化する。このことから，活性炭を含まない培地で形成された細胞壁には，再生細胞を不安定化する何らかの構造的な欠陥があることが示唆される。一方，活性炭が含まない培地でも，ＣＭＣ（カルボキシメチルセルロース）を添加すると細胞壁が再生されるが，同時に再生細胞は安定化する。さらに，生合成された細胞壁成分の細胞内輸送の阻害剤をＣＭＣと共に培地に添加し，その効果について調べた。その結果，モネンシンがＣＭＣによる安定化の効果を消失させることが明らかになった。ＣＭＣは再生されたセルロースの構造に影響することがよく知られているが，今回の結果から，セルロース以外の成分がゼニゴケプロトプラストから再生した細胞の安定化に関与していることが示唆された。

2aI10

細胞壁形成過程の三次元観察(Ⅰ)
ーリグニンの沈着にともなう二次壁の形態変化ー

中島　仁、高部圭司、藤田　稔　（京大、農、林産）

木化は維管束植物の二次壁に特徴的な現象で、セルロース、ヘミセルロース堆積後にリグニンが沈着することである。ヒャクニチソウ単離葉肉細胞の管状要素への分化過程では、二次肥厚と肥厚部の木化が短時間に観察できる。培養各段階での二次壁を急速凍結・ディープエッチング法により観察した。木化開始直前の一時壁と二次壁ではセルロースミクロフィブリルの直径と配向がかなり異なっていた。一次壁でのセルロースミクロフィブリルがランダムな網目状を呈していたのに対し、二次壁のセルロースミクロフィブリルはほぼ同一な方向に配列しており、ミクロフィブリル間には繊維状あるいは球状の架橋が数多く観察された。木化が開始すると、直径20-80nmの球状物質がミクロフィブリルの回りや間に生じてミクロフィブリルは見えにくくなった。木化の進行とともにこの球状物質の大きさと数が増大し、木化の完了までには二次壁のフィブリル様構造を完全に覆い尽くしてしまった。球状物質はモノリグノールの脱水素重合物であると考えられ、これらの形態はモノリグノールとペルオキシダーゼを混合して得られる"bulk polymer"タイプの脱水素重合物の構造に似ていた。二次肥厚部横断面にはセルロースミクロフィブリルの断面が観察され、木化開始時よりも木化完了時の方が同一面積内でのセルロースミクロフィブリル数が増加していた。二次壁の木化完了後、一次壁の網状構造もドロップレット状物質によって覆われた。このことは一次壁も木化することを示唆している。

2aI11

傾斜刺激による樹幹木部でのあて材形成と木部分化帯での遺伝子発現の変化

馬場啓一、原 由里子、日尾野 隆[1]、竹田　匠、伊東隆夫、伊藤一弥[1]
（京大・木研、[1]新王子製紙・林木育種研）

すでに伸長成長を停止している樹幹は傾斜されると本来の位置に戻ろうとして「あて材」という特殊な木部(材)を分化させる。広葉樹(双子葉類)では一般に傾斜上側に引張あて材が形成される。その部分では、リグニンを含まない二次壁の層が厚く堆積し、セルロースミクロフィブリルが細胞長軸とほぼ平行に配列するようになるなど、細胞壁（二次壁）の変化が顕著に現れる。あて材の形成には植物ホルモンの関与が示唆されているが、その形成機構については知られていない。我々は傾斜刺激によって木部分化帯で発現する遺伝子のcDNAを単離するために、傾斜させた樹幹と通常に生育中の樹幹からpoly(A)+ RNAをそれぞれ単離し、サブトラクションを行なった。こうして得られた^{32}Pラベルのサブトラクテドc DNAをプローブに用いて、傾斜固定したユーカリ樹幹の木部分化帯から得られたm RNAを鋳型とするcDNAライブラリからスクリーニングを行なった。得られた14個のcDNAクローンについてノーザンブロッティングによって発現解析を行なった結果、傾斜時にのみ発現しているもの、通常に成育中と比較して発現が促進されるものとがあった。

2aI12

ホヤ類におけるセルロース合成

木村　聡、伊東隆夫（京都大・木質研）

一般に、セルロースは陸上植物や一部の藻類の細胞壁の骨格構造をなす成分として広く知られている。植物細胞ではセルロースは原形質膜上に存在するセルロース合成酵素複合体（TCs）の働きで合成、結晶化することが明らかになっている。ところが動物細胞でもセルロースが生産されることはあまり知られていない。ホヤ類はセルロースを合成する唯一の動物で、そのミクロフィブリルは太く高結晶性である。ところがその生合成機構に関しては、合成部位が表皮細胞であるらしいという以外ほとんどわかっていない。植物細胞での研究から原形質膜上のTCsにはロゼット型と直線型の２種類があることが知られている。ホヤ類には植物細胞と同様のTCsが存在するのか、存在するならば２種類のいずれなのかあるいは全く新しい形状を示すのかということが疑問としてでてくる。そこで我々はフリーズフラクチャー法を用いて表皮細胞、特にその原形質膜の詳細な観察を行いホヤ類のセルロース合成の機構の解明を試みた。ホヤ類は系統上３つの目に分類されるが、材料としてウエダイトヒキボヤ、マボヤ、アラレボヤ、ネンエキボヤ、ミナミシモフリボヤ、マメボヤの３つの目にまたがる６種類を選択した。観察したすべての種類のホヤの表皮細胞において皮のうに面した原形質膜上にセルロース合成酵素複合体を発見した。この結果、生物によるセルロースミクロフィブリル合成は、動植物を問わず原形質膜上のTCsが関与することが明白になった。

2aI13

植物根端組織細胞の生理・形態学的研究（ＩＩＩ）．空隙（Ｃａｖｉｔｙ）を充塡する細胞の形態的特徴．

仁木輝緒，梶隆[1]（拓殖大・工，[1]政経）

エンドウを２５℃で発芽・生育させると根の中心柱に空隙ができることを昨年度日本植物学会大会，および前回の本大会（松江）で報告した。１５ｃｍに伸長した根では、先端から９ｃｍ近辺で，この空隙は周辺細胞の分裂・増殖によって埋められていく。

今回はこの空隙を埋めていく細胞（ＳＰｓ；Specialized parenchyma cells）の起源，及び形態学的特徴を報告したい。

中央部に大きな空隙が形成されたときは，ＳＰｓは周辺細胞の分裂により形成され，泡をふくような形をとりながら巨大な細胞になり，空隙をうめていく。これらＳＰｓは巨大な細胞に成長する過程で液胞膜の崩壊，細胞質の自己消化を起こす。細胞壁の厚さは薄いが、細胞壁の自己消化は起こらない。一方，空隙が Metaxylem 近くに形成された時は、ＳＰｓはその周辺細胞から形成されるが、泡をふくような形態はとらない。これらの細胞壁は肥厚し、二次細胞壁となり、Metaxylem cells と同様な形態を示した。

2pI01

PLANT CELL-DIVISION ASSOCIATED 21D7 GENE ENCODES A COMPONENT OF THE 26 S PROTEASOME

Maria W.SMITH, Masaki ITO,[1] Shigeru SATO,[2] Yoko YOSHIKAWA, Shinko WADA, Miyuki MIYAWAKI,[3] Hiroki NAKAGAWA,[3] Atsushi KOMAMINE; Dept. Chem. Biol. Sci., Japan Women's Univ., Tokyo 112, [1] Dept. Plant Sci., Grad. School Sci., Univ. Tokyo, Tokyo 113, [2] Mitsui Plant Biotech. Res. Inst., Tsukuba, Ibaraki 305, [3] Dept. Agricult. Chem., Fac. Horticult., Chiba Univ., Matsudo, Chiba 271

The gene for carrot cell-division associated 21D7 antigen of 45 kD has been isolated. The data about a yeast 21D7 homolog, *SUN2*, has suggested that it is a subunit of 26 S proteasome (Toh-e et al., personal communication). The functional expression of the plant 21D7 cDNA rescued the yeast *sun2* mutant. We have isolated proteasome fractions from carrot cultured cells by glycerol density gradient centrifugation of crude extracts, and by three-step large-scale purification by chromatography. The 21D7 antigen was always present in the same protein fractions where regulatory subunits of the 26 S proteasome were found. Electrophoresis under non-denaturing conditions demonstrated that the 21D7 antigen of 45 kD was found at the same location as more than 700 kD 26 S proteasomes, and that the dissociation of proteasomes led to correspondingly altered locations of the 21D7 antigen. So the 21D7 antigen seems to be a subunit of the 26 S proteasome and might play a role in cell-division related nuclear functions of this enzymatic complex.

2pI02

タバコ培養細胞BY-2のキネシン様タンパク質遺伝子の細胞周期における発現パターン

松井啓祐、David COLLINGS、浅田哲弘、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

キネシン様タンパク質(KLPs)は真核細胞に幅広く存在する微小管モータータンパク質であるが、植物細胞で同定されているKLPsの種類は限られている。また、植物微小管の機能にどのように寄与するかについて限られた知見しか得られていない。

私達は、KLPsのモータードメインに存在する保存領域を利用してRT-PCR法を行い、BY-2細胞で発現しているTBK(Tobacco BY-2 kinesin-like protein)1~11を同定した。次に、TBKsの細胞周期における発現を調べるために、ノーザン法により発現パターンを解析したところ、(I) 細胞周期を通じて定常的に発現が見られるタイプ(TBK5)、(II) mitotic indexのピークに先だって発現量のピークに達し間期には発現量が減少するタイプ(TBK4,10,11)、(III) 発現のピークがmitotic indexのピークと一致し間期には発現量が減少するタイプ(TBK3,7)の3つのタイプの発現様式が見られた。TBKsの中で間期の表層微小管と相互作用の考えられるものはTBK5のみである。また、タイプ(II)・(III)は前期前微小管束、紡錘体微小管、隔膜形成体微小管との相互作用が推測される。現在、詳しい解析に向けて、それぞれのタイプのTBKsのクローニング、抗体の作製を行っている。

2pI03

タバコキネシン様タンパク質 NAKs による NPK1 キナーゼ (MAPKKK) の活性化機構

西浜竜一、石川雅樹、山崎良子、坂野弘美、入江賢児[1]、松本邦弘[1]、町田泰則（名大・理・生物、[1]分子生物）

当研究室でタバコから単離された*NPK1* cDNA は、酵母細胞の中で MAP キナーゼキナーゼキナーゼ (MAPKKK) として機能するタンパク質をコードする。MAPKKK は酵母や動物において、様々なシグナル伝達に重要な働きをしていることがわかっている。*NPK1* の機能は、その転写パターンから、細胞増殖と何らかの関係があると思われるが、NPK1 がどのようなシグナル伝達系で機能しているのかはわかっていない。そのことを解明するために、我々は酵母の系を用いて、NPK1 の活性化因子をコードする cDNA をスクリーニングした。その結果、N 末端側にキネシンのモータードメインと高い相同性を示す 2 種類のキネシン様タンパク質 NAK1、NAK2 (NAKs: NPK1-activating kinesin-like proteins) が、NPK1 を活性化することがわかった。酵母を用いた遺伝学的解析から、NAKs の C 末端側領域が NPK1 の活性化に働いていること、また NPK1 の C 末端側領域（キナーゼ非関係領域）が活性化に必要であることがわかった。さらに酵母を用いた生化学的解析から、NAKs と NPK1 は複合体を形成していること、さらに NAK1 を過剰発現させると NPK1 のキナーゼ活性が上昇することがわかった。これらのことから、NPK1 は NAKs との結合で構造変化が起こることにより活性化されると推測される。

2pI04

NPK1 と NAKs の植物細胞分裂における役割

西浜竜一、中島麻里奈、山崎良子、浅田哲弘[1]、松井啓祐[1]、平野敬子、坂野弘美、町田泰則（名古屋大・理・生物、[1]大阪大・理・生物）

タバコのプロテインキナーゼ NPK1 と、その活性化因子キネシン様タンパク質 NAKs の機能を、それらの発現パターンから推測することを試みた。ノーザン解析から*NPK1*、*NAKs* 共に、対数増殖期のタバコ培養細胞、根、茎で mRNA が検出され、成熟葉では検出されなかった。*NPK1* 遺伝子のプロモーター領域と GUS コード領域との融合遺伝子をもつトランスジェニック植物を用いた解析から、根端、側根の原基、茎頂分裂組織を含む茎頂付近の細胞、維管束周辺の細胞、若い葉、成長期の全花器官で *NPK1* が転写されていることがわかった。根端おいては、5-bromo-2'-deoxyuridine の取り込みにより同定した分裂中の細胞を含む領域と、GUS 活性が検出される領域が一致した。また成熟葉切片をカルス誘導培地上で培養すると、*NPK1* の転写は 3 時間後までに誘導された。このことは、*NPK1* は分裂中の細胞で転写され、分裂中に何らかの制御をしていることを示唆している。そこで同調培養したタバコ培養細胞 BY-2 を用いて、発現の細胞周期依存性を調べたところ、NPK1 タンパク質は周期を通して一定量存在した。しかし、*NAK1* mRNA は M 期で検出された。これらのことから、NPK1 は M 期において NAKs により活性化され、微小管上で何らかの機能をしていると思われる。

2pI05

タバコ BY-2 細胞における細胞周期各期の微小管形成部位

馳澤盛一郎，熊谷史，長田敏行（東京大・大学院・理学）

細胞周期の各期における微小管形成中心（MTOC）部位を特定すべく，同調化したタバコ BY-2 細胞を用いて微小管を壊し，その再形成過程の観察を試みた。BY-2 細胞を 3 時間 0 ℃に保つと同時に 100 μM のプロピザミドを添加することで，微小管は完全に壊された。これらの細胞を MS 培地で洗浄した後，30 ℃で培養することにより，各期における微小管の再形成を詳細に観察することができた。各期の MTOC 部位は，S～G_2期では細胞表層と核、M 期では分裂装置，M/G_1移行期では核（あるいは核と細胞表層），G_1期では細胞表層であった。また、これらの MTOC 部位には EF-1 α様の 49-kDa タンパク質の局在が見られた。さらにこの微小管再形成系にサイトカラシンを用いた観察から，微小管により再形成にアクチン繊維の存在が必要なものとそうでないものがあることが判った。以上の知見を基に細胞周期各期における微小管再形成の機構について考察する。

2pI06

タバコ培養細胞 BY-2 の増殖の制限要因としてのリン酸の役割

倉屋　芳樹，網野　真一，高橋　陽介，長田　敏行（東京大・理学系大学院）

タバコ懸濁培養細胞 BY-2 はその増殖因子としてオーキシンが知られており，オーキシンで発現が誘導される遺伝子も単離され，機能解析も行われている。この他にもリン酸が増殖の律速要因となっていることが以前から指摘されており，他の培養細胞系でも同様の現象が報告されている。実際に培地中よりリン酸を除くと細胞分裂は停止するが，再度添加することで DNA 合成を経て半同調的な細胞分裂が誘導される。そこでこの DNA 合成に先立って発現誘導される遺伝子をディファレンシャルスクリーニングにより単離することを試みた。その結果，遺伝子を同定できたので，その発現制御の解析と機能の推定を行った。リン酸は信号伝達系のシグナル物質と密接に関わっているので，この遺伝子が細胞分裂に関わる意義を考察する。

2pI07

タバコのサイクリンD cDNAの単離と発現解析

関根政実, 城野健一, [1]河内宏, 新名惇彦 ([1]農水省・生物研, 奈良先端大・バイオサイエンス)

【目的】 全ての真核生物の細胞周期制御には、基本的には共通の機構が存在することが明らかとなりつつある。細胞周期制御において中心的な役割を果たすサイクリン依存性キナーゼ(CDK) はサイクリンと複合体を形成し、セリン/スレオニンキナーゼ活性を持つ。CDKとサイクリンは遺伝子ファミリーを形成し、組み合わせの違いによりキナーゼ活性の基質特異性と活性のピークが細胞周期で異なり、各時期の制御を行っている。すなわち、哺乳動物ではM期サイクリンはCDC2と複合体を形成し、G2/M期移行を制御し、G1サイクリンは主にCDK2やCDK4と複合体を形成し、G1/S期移行を制御する。本研究では細胞分裂の重要な制御ポイントであるG1期制御の分子機構を解明することを目的として、タバコ (*Nicotiana tabacum*) からサイクリンDのcDNAを単離し、遺伝子発現の解析を行った。

【方法・結果】 シロイヌナズナの3種のサイクリンDの間で保存されている領域内でPCRプライマーを合成し、タバコ培養細胞BY-2の全RNAを用いてRT-PCRを行い、増幅されたDNA断片をプローブにしてcDNAライブラリーをスクリーニングした結果、数個のクローンが取得された。これらのcDNAの塩基配列を決定した結果、2種類のサイクリンDが存在することが判明した。また、哺乳動物に見られる癌抑制遺伝子産物のRb 蛋白質との結合に関与するモチーフがタバコサイクリンDにも保存されており、G1期制御に重要なRb蛋白質と同様な機能を有する因子が植物にも存在する可能性が示唆された。現在、タバコ培養細胞BY-2を用いて発現様式を解析している。

2pI08

DNA複製関連遺伝子の細胞周期依存的発現

伊藤正樹、横井雅幸[1]、花岡文雄[1]、渡邊 昭 (東京大・院・理系・生物科学、[1]大阪大・細生工センター)

近年の細胞周期に関する研究により、植物を含めた真核生物の細胞周期のメカニズムは基本的に保存されていることが示されており、進化的に同系統の因子が制御に関わっていることが強調されている。しかしその一方で、細胞周期に依存した遺伝子発現制御機構は、進化的に保存されていないことが明らかになってきており、それぞれの生物種における細胞周期制御の個性を反映していると考えられる。酵母では、一群のDNA複製関連遺伝子が、共通のメカニズムによって制御され、G1/S期に特異的に発現することが知られているが、動物細胞においては異なったシステムが周期依存的発現制御に関与していると考えられている。同様に高等植物にも特有の機構が存在している可能性が考えられる。そこで、演者らは、高等植物におけるDNA複製関連遺伝子の発現制御機構の解明を目指して、DNAポリメラーゼα、二機能性のジヒドロ葉酸還元酵素-チミジル酸合成酵素(bifunctional DHFR-TS)、PCNA、レポヌクレオチドレダクターゼ、dUTPaseなどの遺伝子が細胞周期依存的に発現するかどうかについて、タバコ培養細胞BY-2の同調培養系を用い解析を行った。ノーザン解析の結果、DNAポリメラーゼαの他、幾つかのDNA複製関連遺伝子が細胞周期のS期に特異的に発現することが明らかになった。これにより、高等植物のDNA複製関連遺伝群の転写制御機構の解明への端緒が築かれた。

2pI09

ヘパリンカラムによるリボゾーム凝集活性物質の抽出ならびにこれをコードする遺伝子の解析

伊東膚子、Ｅｒｉｃ Ｄａｖｉｅｓ[1]，阿部俊之助 （愛媛大・農・生物資源、[1]ノース・キャロライナ州立大・植物）

アラスカエンドウ（Pisum sativum L var. Alaska）の黄化芽生え先端部より抽出した細胞骨格画分には、種々のタンパク質や、細胞質リボゾームの７０％にものぼる多くのリボゾームが含まれている。この画分を、デタージェントを含む高塩濃度の緩衝液に懸濁して細胞骨格を解離し、超遠心によりリボゾームを取り除いた後、透析により細胞骨格タンパク質を含むコロイド状物質（ＡＴ）を構成させた。このＡＴ、およびＡＴより抽出した４２．５ｋＤａのタンパク質（ＲＳＰ）は、０－１５０ｍＭ K^+ を含む緩衝液中で、リボゾームと結合する性質を持つ一方、細胞骨格自体あるいは細胞骨格とリボゾームの結合を破壊することが報告されているヘパリン存在下ではこの結合が阻害されることがわかった。そこで、ヘパリンのアフィニティーカラムを用いてエンドウの細胞骨格画分の分析を行ったところ、１Ｍの K^+ を含む極めて高塩濃度の溶出画分にリボゾーム沈降活性とともにＲＳＰが濃縮されることがわかった。 このようなリボゾーム凝集活性を持つタンパク質は、トウモロコシ等にも存在していた。そこでＲＳＰの構造と機能を明らかにするため、エンドウのｃＤＮＡライブラリーよりＲＳＰをコードするＤＮＡを検索し、その配列を解析した。

2pI10

ヘパリンアフィニティーカラムを用いた、植物細胞よりの細胞骨格画分タンパク質の分離。

阿部俊之助、Eric Davies[1]、愛媛大・農・生物資源、[1]North Carolina州大・植物

黄化アラスカエンドウ芽生より細胞骨格を分離し、界面活性剤の有無や、高塩濃度により抽出したところ、一部の膜タンパク質やその他のタンパク質がいくつか溶離したのみであった。一方、細胞骨格ペレットを細胞骨格破壊バッファー,CDB(450 mM KOAc, 200mM Tris-HCl (pH 8.5), 25mM $MgOAc_2$, 0.5mM ATP, 2%PTE)に溶解後、超遠心しリボゾームを除いた上清を希釈後、ヘパリンアフィニティーカラムにかけた。結合したタンパク質を0.15-1 M KOAcの濃度勾配により溶出したところ、１０種類以上の細胞骨格画分タンパク質を分離することができた。これらの中には２から８個の等電点スポットを持つものもあった。もし、溶解した細胞骨格よりリボゾームを除去しなかった場合は、リボゾームが、いくつかのフラクションで特有のタンパク質を伴い溶出した。このことはリボゾームがヘパリンカラムにより細分画できるとともにこれらタンパク質のうちいくつかは、リボゾーム－細胞骨格複合体の構成要素であることを示すと思われる。

2pI11

植物の細胞骨格画分タンパク質の分離･精製と49kDaタンパク質の構造解析

柴田幸一,岡本知明,阿部俊之助,Eric Davies[1]（愛媛大･農･生物資源,[1]North Carolina州大･植物）

植物の細胞骨格画分には、actinやtubulin以外に、低分子から高分子にわたって様々な特有のタンパク質が含まれており、遺伝子の発現の制御やその他の生理活性に重要な役割を果たしていると考えられる。しかし、これらの構造や機能についてはほとんど知られておらず、これらを解明することは非常に重要である。

本研究では,アラスカエンドウ5日目黄化芽生え先端部より抽出した細胞骨格画分から、PTE を含む高塩濃度の緩衝液で細胞骨格を解離、超遠心でribosomeを除いたあと、heparin affinity columnにかけ、0.15～1M の塩濃度勾配で溶出した結果、高塩濃度でも細胞骨格から脱離しにくい、いくつかのタンパク質を分離できた。このうち、約49kDaのB3は、pI5～7に8個以上のisoproteinがあり、その発現は成長や植物ホルモンにより変化することがわかった。B3をV8proteaseで消化して得たfragmentの部分アミノ酸配列からprimerを合成してPCR を行ない、遺伝子並びにpeptide の構造を明らかにした。このタンパク質はRNAの輸送に関連していると思われる。

2pI12

植物の細胞骨格タンパク質の分離・精製と54.7kDa タンパク質の構造解析

岡本知明、柴田幸一、阿部俊之助、Eric Davies[1]（愛媛大・農・生物資源、[1]North Carolina 州大・植物）

発芽５日目のアラスカエンドウ黄化芽生え先端より調製した細胞骨格画分を、Heparin Affinity Column にかけ、塩濃度150mMKOAcで溶出した54.7kDaのタンパク質(B1)の構造解析を試みた。このタンパク質を２次元電気泳動ではpI5.67のSingle Spotであった。またB1をV8 proteaseによって消化し、 SDS-PAGEによって分離し６つのフラグメントを得た。これらの部分アミノ酸配列を国立遺伝学研究所のDatabaseに対して検索しこれらのうち２つのフラグメントについてH^+-transporting ATPsynthase と高い相同性を得た。これらをもとにPrimerを合成しPCR Cloning及びcDNAlibrary検索を行い遺伝子の部分配列を得た。この配列と、さきに得られた H^+-transporting ATPsynthaseとの相同性は低かったが、この遺伝子のコードするアミノ酸配列では、再びさきの H^+-transporting ATPsynthase と高い相同性を示した。これらのことからB1は H^+-transporting ATPsynthase様の新規のタンパク質であると考えられた。現在、全長に当たるクローンを得ており、構造解析を行っている。

3aI01

タバコ懸濁培養細胞 BY-2 を材料とした *in vitro* 微小管重合系

熊谷　史、馳沢　盛一郎、長田　敏行（東京大・理学系研究科）

高等植物細胞においては微小管形成中心（MTOC）は一定の構造をとっておらず、細胞周期を通じてその所在は明らかになっていない。そのため、ある因子がMTOC と関わっているか否かを細胞内におけるその因子の局在の解析によって判断することは難しい。我々はこの問題を解決するためにタバコ懸濁培養細胞 BY-2 を材料とした *in vitro* における微小管重合系の確立を目指してきた。脱液胞化した BY-2 細胞のプロトプラストをホモジェナイズし、その懸濁液に精製チューブリンを加えて加温すると小さな星状体様の構造“aster”が暗視野顕微鏡観察下で認められた。“aster”形成に関与する因子は塩で抽出することが可能で、陽イオン交換体を用いて部分精製することが出来た。この“aster”形成系に関してその形成条件や形成の進行をもとに植物細胞におけるMTOCについて議論する。

3aI02

細胞質表層微小管の配向変化サイクルにおよぼすサイトカラシンＤの効果

武居　郁、柴岡弘郎（大阪大・理・生物）

アズキ上胚軸表皮細胞の outer tangential wall は、セルロース微繊維の配向が縦方向の層と横方向の層とが繰り返し積み重なった構造（交差多層構造）を持っている。この構造の形成過程から、その内側の細胞質表層微小管は縦方向と横方向とを交互に繰り返すサイクリックな配向変化をしていると考えられる。細胞質表層微小管にはアクチン微繊維が付随していることが知られており、アクチンが微小管配列に何らかの影響をおよぼすことが予想されるが、アクチンの働きについての具体的な知見は少ない。

表層微小管の配向変化サイクルをオーキシンの欠乏によって一時的に停止させて同調化し、アクチン破壊剤であるサイトカラシンD(CD) が表層微小管の配向変化サイクルに与える効果を調べた。その結果、CD が微小管の横方向から縦方向への変化を促進することが明らかとなった。GA3 は、微小管が横方向にとどまる時間を長引かせる効果を持つが、GA3 と同時に与えた CD はこの効果を取り除いた。アクチンは微小管を横方向に維持するのに関与していると考えられる。

3aI03

高等植物の核膜表面に存在するMTOC様複合体を構成するタンパク質について

中山貴照、水野孝一（大阪大・理・生物）

高等植物細胞には、動物細胞とは違って中心体が存在しないため微小管形成中心（MTOC)についてはほとんど知見が得られていない。タバコ培養細胞BY-2では、間期のある時期には、核の表面から微小管が形成されていることが蛍光抗体観察法によって調べられており、又、単離した核にMTOCとなりうる顆粒が存在することが報告されている。

今回我々は、percoll に代えてショ糖密度勾配遠心により核を単離した。すると、percoll を用いて単離した核とは異なり束化しない多数の長い微小管が核の表面に形成されることを見いだした。遠心により核 sap を分離した後、核膜断片を界面活性剤で洗うことによりMTOC様複合体を豊富に含む分画が得られたが、形成される微小管の長さは短くなった。この微小管-MTOC様複合体を遠心により回収し、この分画をSDS-PAGEにかけることにより、複合体に含まれているタンパク質を調べると５６，６９，８２KDa のタンパク質が主成分として存在することがわかった。これらのうち、５６，８２KDa のタンパク質は顆粒から、又６９ＫＤａタンパク質は核sap 由来であると考えられた。洗いにより除去された因子も含め、これらのタンパクは微小管の nucleation 及び elongation に重要な役割を果たすものと推測される。現在、抗体を作成中である。

3aI04

多糖合成酵素複合体構成タンパクの性質と機能

鈴木俊洋　水野孝一　　（大阪大学・理学部・生物）

アズキ上胚軸切片の細胞膜をCHAPSで可溶化した遠心上清には多糖合成活性を有する顆粒の存在が確認された。この顆粒は主構成タンパクとしてチューブリン を含んでいることがわかったのでチューブリン 抗体カラムにより精製した。この顆粒は直径が約 10 nm であり、1 mM UDP-グルコースと1 mM Mg^{2+} の存在下で27℃でインキュベートすると、多糖繊維を形成する。この顆粒の主な構成タンパクとして、α-、β-チューブリン、65、35、33、15 kDの６つあり、それぞれに対する抗体を作った。これらの抗体を用い in vitro での多糖繊維合成への影響を調べた。65、15 kDタンパクに対する抗体は多糖繊維の長さを著しく促進した。一方、33 kDタンパクに対する抗体は繊維合成を著しく阻害した。以上のことから、65 kDおよび15 kDのタンパクは共に多糖繊維の伸長を制御する機能をもつと考えられる。また、33 kD のタンパクは、UDP-グルコース、Mg^{2+} の結合部位あるいは多糖合成酵素本体である可能性が考えられる。現在、それぞれの構成タンパクのアミノ酸配列の決定を行っているところである。

3aI05

ニンジンβチューブリン・アイソタイプ

岡村昭治、曽根原和彦、内藤敬子、大川裕美、倉盛志生子（富山医薬大・薬）

高等植物の微小管は高等動物と比較してcortical microtubule や preprophase band, phragmoplast など、特有な機能や分布を示す外、その構成チューブリンの電気泳動移動度や薬剤感受性も異なる等多くの特徴を持っている。我々は、抗体によるスクリーニングにより、βチューブリン cDNA をクローン化しその性質について以前に報告した。今回はそのcDNA をもとに、ニンジンゲノム DNA について解析を進めた結果について報告する。

ゲノム DNA のサザンブロッティングにより、ニンジン細胞中には、９種前後のβチューブリン遺伝子が存在すると推定されるが、その内４種がクローン化された。これまでに塩基配列を決定した２種（β1,β2）について予想されるアミノ酸配列を比較した結果、β1 はβ2 に比べてそのC末端部においてアミノ酸２残基分長く、酸性アミノ酸残基数も多かった。β1,β2ともに高等植物に共通するシステインの位置のずれが認められ、その周辺の疎水性が増すような変化がみられた。またコルヒチンおよびポドフィロトキシンとの親和性と関係あると指摘されているN末端より316番目のアミノ酸は何れも高等植物タイプのメチオニンであったが、β1 では ^{320}グリシンのグルタミン酸へ、^{360}アルギニンのスレオニンへの荷電の変化を伴った置換が見られた。

3aI06

A PLASMA MEMBRANE-ASSOCIATED ACTIN CYTOSKELETON IN TOBACCO BY-2 CELLS: EVIDENCE FOR INTERACTION WITH MICROTUBULES.

David COLLINGS, Hiroh SHIBAOKA. Dept. Biology, Fac. Science, Osaka Univ., Machikaneyama 1-1, Osaka 560.

We have determined that membrane ghosts formed from tobacco BY-2 cells can retain an actin cytoskeleton in addition to cortical microtubules. In the most common of the three distinct actin patterns that occur, the actin is random and exhibits only limited co-alignment with the microtubules. Actin and microtubules have different sensitivities to the pH and $[K^+]$ of the lysis buffer, but they are similarly sensitive to raised $[Ca^{2+}]$. Ghosts prepared from taxol-treated cells have calcium-stable microtubules arranged in parallel arrays; such ghosts have an increased amount of actin co-aligned with the microtubules, and this actin has an increased stability to free calcium. These experiments imply some type of interaction between the actin and microtubules at or near the plasma membrane.

The remaining two actin patterns are rare and occur on microtubule-free ghosts that are often large and irregular in shape. Such ghosts have either large regions of parallel actin, or a dense network of random actin. This actin shows an increase in stability to raised $[Ca^{2+}]$, compared to the actin in the more common pattern. Preliminary results suggest that cells undergoing mitosis generate these different actin-containing microtubule-free ghosts.

3aI07

アクチン細胞骨格の構築に及ぼすRGD，RYDペプチドの影響

柳政和、高木慎吾、水野孝一、永井玲子（大阪大・理・生物）

淡水産の単子葉植物、オオセキショウモの葉肉細胞の細胞質は、葉の表面に垂直な細胞壁（側壁と末端壁）に沿って周回型の原形質流動をする。マイクロフィラメント（MF）束は流動の原動力発生に寄与するとともに軌道としてはたらいている。先に我々はMF束の細胞内構築が末端壁の部分で細胞壁関与のもとに安定化を受けていることを報告した（1991、1995）。この結果に基き、安定化機構に細胞外マトリックスとその受容体が関与していることを想定して実験を行い以下の結果をえた。1）細胞外から与えた合成ペプチド、GRGDSPあるいはARYDEIは、5−15mMの濃度範囲、24時間処理で側壁および末端壁に 沿う原形質流動のパターン、ならびにMF束の配列を著しく乱した。2）コントロールペプチド、GRGESPとARYEEIはともに効果をもたなかった。3）ARYDEIをヘモシアニンに架橋し、これを抗原として作製した抗体を用いた間接蛍光抗体法により細胞壁は染色された。RGDモチーフは、動物細胞外マトリックスを構成するタンパク質、フィブロネクチン中に保存され、受容体インテグリンと結合することによりアクチン繊維の配列の安定化に寄与するとされている。RYDモチーフはLeishmaniaの表層糖タンパク質に保存されており、RGDモチーフと同等の機能、免疫性を有するとされている。従ってオオセキショウモの細胞壁にRYDもしくはRGDモチーフをその分子内にもつタンパク質が存在し、MF束の配列安定化に寄与している可能性が示唆される。

3aI08

ジャガイモ植物の感染応答におけるアクチンとその関連タンパク質の関与について

竹本大吾、古瀬勝美[1]、道家紀志、川北一人（名古屋大・農・植物病理、[1]クミアイ化学）

ジャガイモ塊茎組織では、疫病菌の侵入や菌体壁成分（HWC）の処理により速やかに一つの原形質凝集反応が認められ、抵抗反応の一つと考えられる。ジャガイモプロトプラストや懸濁培養細胞においてもHWC処理により原形質凝集反応が認められ、アクチンに重合阻害剤、プロテインキナーゼ阻害剤などにより抑制された。この結果より原形質凝集には細胞骨格系とタンパク質リン酸化反応が関与するという可能性がが示された。次に細胞骨格系因子のアクチンとその関連タンパク質に着目し、それらの精製を試みた。ジャガイモ懸濁培養細胞磨砕液を用いてアクチンとの特異的結合能を有するDNaseIアフィニティークロマトグラフィーを行い、アクチンの他に32kDaと22kDaのタンパク質を得た。N末端アミノ酸配列解析とウエスタン解析の結果より、32kDと22kDタンパク質はそれぞれ塩基性キチナーゼとオスモチン様タンパク質であることが明らかとなった。両タンパク質はアクチンと結合能を有し、特にF-アクチンと結合した。以上の結果より、塩基性キチナーゼとオスモチン様タンパク質は原形質凝集反応に伴い菌侵入部位に移行し防御反応に関与する可能性が示唆された。

J 会 場：成長制御

キーワード：植物ホルモン，成長制御，成長促進物質，成長抑制物質，開花·生殖制御物質

第一日目 午前	
開始時間	講演番号
—	—
—	—
—	—
—	—
9:30	1aJ01
9:45	1aJ02
10:00	1aJ03
10:15	1aJ04
10:30	休 憩
10:45	1aJ05
11:00	1aJ06
11:15	1aJ07
11:30	1aJ08

第二日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	2aJ01
8:45	2aJ02
9:00	2aJ03
9:15	2aJ04
9:30	2aJ05
9:45	2aJ06
10:00	2aJ07
10:15	2aJ08
10:30	休 憩
10:45	2aJ09
11:00	2aJ10
11:15	2aJ11
11:30	2aJ12

第三日目 午前	
開始時間	講演番号
8:30	3aJ01
8:45	3aJ02
9:00	3aJ03
9:15	3aJ04
9:30	休 憩
9:45	3aJ05
10:00	3aJ06
10:15	3aJ07
10:30	3aJ08
10:45	3aJ09

第一日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	1pJ01
13:15	1pJ02
13:30	1pJ03
13:45	1pJ04
14:00	1pJ05
14:15	1pJ06
14:30	1pJ07
14:45	1pJ08
15:00	休 憩
15:15	1pJ09
15:30	1pJ10
15:45	1pJ11
16:00	1pJ12
16:15	1pJ13
16:30	1pJ14
16:45	1pJ15
17:00	1pJ16

第二日目 午後	
開始時間	講演番号
13:00	2pJ01
13:15	2pJ02
13:30	2pJ03
13:45	2pJ04
14:00	2pJ05
14:15	2pJ06
14:30	2pJ07
14:45	2pJ08
15:00	休 憩
15:15	2pJ09
15:30	2pJ10
15:45	2pJ11
16:00	2pJ12

1aJ01

サイトカイニンにより抑制されるキュウリの"noncoding RNA"とアラビドプシスの類似ＲＮＡとの比較

寺本陽彦，遠山知子[1]，竹葉剛，辻英夫[2]（京都府大・応用生物，[1]京大・理・植物，[2]神戸女子大・生物）

*ＣＲ２０*は、キュウリ子葉において、サイトカイニンにより強く発現の抑制される遺伝子であり、また、葉の成長や緑化に伴って発現が大きく変化する (Planta 196:387, 1995)。

*ＣＲ２０*についてのノザンブロット解析において、0.8 kbから2.3 kbにわたって複数のバンドが検出された。６個のｃＤＮＡと２個のゲノミッククローンを単離、解析したところ、*ＣＲ２０*遺伝子は、３つのエクソンからなり、第２イントロンのスプライシングの違いにより、少なくとも３種類の転写産物が生じていることがわかった。このｃＤＮＡのシークエンスには、全体にわたって、終止コドンが頻出し、長いＯＲＦがとれなかった。アラビドプシスのｃＤＮＡライブラリーから*ＣＲ２０*と相同のｃＤＮＡを単離したが、やはり、長いＯＲＦはとれなかった。キュウリとアラビドプシスのｃＤＮＡのシークエンスを比較することにより、*ＣＲ２０*ＲＮＡが、タンパク質をコードせずに働く新しい機能ＲＮＡである可能性について検討した。

1aJ02

サイトカイニン処理後短時間で発現が抑制される転写活性化因子の構造

遠山知子、寺本陽彦[1]、岡田清孝、竹葉剛[1]（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ている。現在までに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)により抑制される遺伝子のcDNAをディファレンシャルスクリーニングにより多数単離して、その解析を進めてきた。それらの中にはBA処理後2-4時間で対応する遺伝子の発現が抑制されるCR9やCR20、また同様にBA処理後短時間で発現が抑制されるCRR1-86などがある。CRR1-86にはカタラーゼ、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルコエンザイムAレダクターゼ、レクチンなどが含まれており、それらを含めて10クローンについての解析を進めているが、その中でCRR12はヘリックスーループーヘリックス型のDNA結合領域を持ち、*myc*様タンパク質の一つであるトウモロコシの*R* gene family とホモロジーがあることから、*R* gene 同様に転写活性化因子をコードしている可能性が考えられる。今回は、CRR12がコードしているタンパク質の構造と、他のクローンの光や各種の植物ホルモンなどに対する応答性の結果をあわせて報告する。

1aJ03

シロイヌナズナのサイトカイニン高感受性変異体の遺伝学的解析

久保　稔、柿本辰男　（大阪大・理・生物）

植物ホルモンの１種であるサイトカイニンには組織培養系において、カルスの緑化と増殖、シュート再生などの作用が観察されるが、その分子機構についてはほとんど知られていない。そこで私達はこれらの作用機構を調べるために、EMSにより変異処理をしたM2世代80,000個体から7系統のサイトカイニン高感受性変異体を単離した。これらの変異体は低濃度のサイトカイニンを含むカルス誘導条件で、野生型では高濃度のサイトカイニンを加えたカルス誘導条件で見られるような緑色で大きいカルスを形成する。このうち、強い表現型を示す2系統の変異体 CK19 と L-51A について、野生型株Ler, Colと変異体間で掛け合わせを行い、その F1, F2 世代の表現型を調べた結果、これらはある同一遺伝子座に変異を生じた劣性の変異体であることが示唆された。また、上記の変異体 CK19(L-51A) の変異遺伝子の染色体上の位置決定を、PCR 法を利用したCAPS, SSLP marker を用いて試みたところ、第1染色体の上部にこれらの変異遺伝子が位置することが示唆された。現在、残りの５つの変異体についても変異体 CK19 と掛け合わせを行い、変異が異なる遺伝子座にあることが解れば、同様に染色体上の位置決定を行いたいと考えている。

1aJ04

過剰発現によりシロイヌナズナのカルスにサイトカイニン非依存性を与える遺伝子*CKI1*

柿本辰男　（大阪大学・理・生物）

シロイヌナズナのカルスにサイトカイニンを作用させるとカルスの増殖、緑化、シュート形成がおこる。野生型シロイヌナズナの胚軸50,000本由来のカルスをアグロバクテリアを用いpPCVICEn4HPT (Richard Walden に頂いた)で形質転換した。pPCVICEn4HPTにはCaMV35SRNA遺伝子のエンハンサーが４つタンデムに入っており、形質転換にともなって植物ＤＮＡに挿入され、周辺の植物ＤＮＡの転写を活性化すると考えられている。サイトカイニンに関連した遺伝子の近傍に挿入されればサイトカイニン非依存的にサイトカイニンの作用が現われることが期待される。

形質転換カルスよりサイトカイニン非依存的にカルスの増殖、緑化、シュート形成を行なう変異体を５個体得た。これらの形質転換体は不稔であった。変異体の一つより、T-DNAに近接するゲノムクローンと対応するcDNAを単離した。エンハンサーに連結したゲノムクローンと、35Sプロモーターに連結したcDNAを、野生型シロイヌナズナに導入したところどちらの場合もサイトカイニン非依存的なカルスの増殖、緑化、シュート形成が起こった。この遺伝子は、two-component system のヒスチジンキナーゼのコンセンサスモチーフをすべてもっていた。

また、このスクリーニングによって上記とは表現型の異なる*msh(many shoot)*変異体を得た。この変異体はカルスからサイトカイニン非依存的に多くのシュートが形成され、またホルモンフリーのMS培地に播種して育てると、子葉や葉柄から不定芽が誘導されることがある。

1aJ05

サイトカイニンにより発現誘導される遺伝子群の単離と同定

柳　瑞帆・高橋陽介・長田敏行
（東京大・大学院理学系研究科生物科学）

タバコ葉肉プロトプラストを単離後、培養して細胞分裂を誘導する過程は、脱分化研究の好適な実験系と考えられるが、サイトカイニンはオーキシンと並んでこの過程に必須である。我々はこれまで、オーキシンにより発現誘導される *par* 遺伝子群を単離しているが、サイトカイニンについてはこれまでそのような探索は行ってこなかった。そこで本研究ではサイトカイニンにより発現が調節される遺伝子をディファレンシャルディスプレイ法により探索し、複数の cDNA を得た。これら遺伝子の種々のサイトカイニンに対する応答性・他の植物ホルモンによる誘導性の有無・単離後の培養における発現量の経時的変化をノザンハイブリダイゼーションにより調べ、更に遺伝子産物の構造から機能の推定を行ったので、この結果を脱分化との関わり合いにおいて考察する。

1aJ06

イネカルスのアブシジン酸（ABA）誘導タンパク質（24.5kD）の解析

田中香里, 藤野介延, 浅野哲基, 古谷ちひろ, 徐 正君[1], 喜久田嘉郎（北海道大・農・作物生理, [1]秋田農短大・生物工学研究所）

イネ(*Olyza sativa* L.)カルスを長期間培養すると再分化能力が弱まる。しかし、長期培養カルスにアブシジン酸(ABA)を与えることにより、再分化率が上昇した。ABAはカルスの成長を抑制したが、乾物重、及び乾物重当たりの可溶性タンパク質を増加させた。この際ABAは、複数の新生タンパク質(14, 18.5, 24.5, 45kD)を誘導した。我々は、このうち24.5kDのタンパク質の精製を行い、これに対する抗体を作製した。また、N末端アミノ酸解析の結果より作製したプローブを用い、cDNAのクローニングを行った。このcDNAは、オオムギおよび*Bromus secalinas* で報告された胚に特異的なタンパク質と高い相同性を持つことが確認された。

1aJ07

アブシジン酸応答性遺伝子発現制御に関わる突然変異体の分離

山本（豊田）章子、谷直之、浅田美穂子、小嶋純江、服部束穂（三重大・遺伝子）

アブシジン酸（ABA）は種子の成熟期や、植物体が、乾燥、高塩濃度、低温などのストレスに晒されたときに種々の遺伝子の発現を誘導する。このようなABAによる遺伝子発現制御機構を明らかにするため、ABA応答性遺伝子発現に異常のみられる突然変異体の分離を試みた。ABA応答性遺伝子発現の指標として、低温、乾燥及びABAにより誘導を受ける*COR15a*遺伝子のプロモーターとルシフェラーゼ遺伝子との融合遺伝子を作製し、アラビドプシスに導入した。この形質転換体では、ABA処理により栄養成長期の植物体全体でルシフェラーゼの発現がみられた。EMS処理した形質転換体のM2幼植物体を用いて、ABA存在下でレポーター遺伝子の発現に異常がみられる変異体を選抜した。

1aJ08

アズキ上胚軸切片においてジベレリンにより発現量の変化する遺伝子の解析

金田剛史，柿本辰男，柴岡弘郎（阪大・理・生物）

明所で育てたアズキの芽生えの上胚軸より調製した切片はオーキシン（ＩＡＡ）によって伸長し、この伸長はジベレリン酸（ＧＡ３）によって促進される。このアズキの上胚軸切片を用いて、ＩＡＡ処理時およびＩＡＡとＧＡ３同時処理時に発現される遺伝子の比較をディファレンシャルスクリーニング法により行い、ＧＡ３処理によりｍＲＮＡの蓄積量が減少する遺伝子を単離した。ノーザンブロットによる解析で、ＩＡＡ処理によりこの遺伝子のｍＲＮＡの蓄積量が増加し、ＩＡＡによる増加がＧＡ３により抑えられることがわかり、これらの変化がＩＡＡまたはＧＡ３処理開始後２時間の時点ですでに顕著であることも明らかとなった。ＧＡ３による伸長促進は処理開始後１時間では現れていないが２時間の時点では見られることから、この遺伝子は伸長促進に関与している可能性がある。

1pJ01

オーキシン誘導性遺伝子*ARG1*と*ARG2*のプロモーター領域の単離と解析

高見雄二、鷲尾健司、山本興太朗　（北海道大学地球環境　環境分子生物）

黄化ヤエナリの下胚軸をIAA処理すると*ARG1*と*ARG2*のmRNA量が増加することが知られている(Yamamoto et al., 1992)。本研究では*ARG1*と*ARG2*の遺伝子発現の分子機構を調べる目的で、*ARG1*と*ARG2*のゲノムの5'上流領域の単離を試みた。

*ARG1*の5'上流領域はカセットを用いたLigation mediated single-side PCR法 (Mueller and Wold, 1989) で単離した。すなわち、*ARG1*のcDNAに相補的なプライマーとカセットに相補的なプライマーを用いてPCR法で約0.8 kbpのDNA断片を増幅した。このDNA断片をBluescript II SK$^+$でクローニングした後、全長の塩基配列を決定した。その結果、一部がcDNAの塩基配列と完全に一致し、それより5'上流領域が574 bp存在した。その5'上流領域には、他のオーキシン誘導性遺伝子で報告されているAuxRE (Ulmasov et al., 1995)、TGA box (Katagiri et al., 1989)、TATA boxと類似性がある塩基配列が存在した。*ARG2*の5'上流領域も*ARG1*と同様の方法で約1.8 kbpのDNA断片を単離した。このDNA断片の末端の塩基配列を決定した結果、一部がcDNAの塩基配列と完全に一致し、それより5'上流領域にTATA boxと類似性がある塩基配列が存在することが明らかになった。*ARG1*と*ARG2*の5'上流領域にそれぞれTATA boxと類似性がある塩基配列が存在していることから、これらの5'上流領域はプロモーター領域であると考えられる。

1pJ02

ヤエナリ下胚軸切片におけるオーキシン誘導性遺伝子のｃＤＮＡクローニング

橋本博支、山本興太朗（北海道大・地球環境・環境分子生物）

オーキシンによる胚軸切片の伸長成長には遺伝子発現が関与していることが知られており、本実験系でオーキシンにより誘導される遺伝子として１０種類近くが既に報告されている。本研究ではディファレンシャル・スクリーニングを行ってさらにオーキシン誘導性遺伝子の探索を試みた。

オーキシン処理した切片から調製したポリ(Ａ)$^+$ＲＮＡを用いて作ったｃＤＮＡライブラリーをプラスミッド上に構築し、そのコロニー１９万個をスクリーニングした。その結果、６個の新しいオーキシン誘導性クローンを得た。その内３個は、オーキシン誘導性遺伝子ファミリーＡｕｘ２２の新しいメンバー、Ａｕｘ２２ｃ、ｄ、ｅであった。残り３クローンの内の２個について部分塩基配列を調べたところ、これらは既知の遺伝子との類似性はなく、今までに報告のない遺伝子のクローンだと考えられる。これらクローンを用いてノーザン・ブロット解析を行ったところ、両方ともオーキシンとフシコッキン（ＦＣ）に反応することが分かった。ＦＣ処理によってmRNA量が増加する遺伝子としてＡＲＧ２が報告されている（Yamamoto, 1994）。ＡＲＧ２はＦＣ以外に熱処理によっても誘導されるのに対し、これらクローンはオーキシンとＦＣにのみ反応したので、これらは今までに報告のない新しいクラスのオーキシン誘導性クローンであると考えられる。以上のオーキシン誘導性クローンの他に、やはり今までに報告のされていない、オーキシン処理によってｍＲＮＡ量が減少するクローンを１個単離できた。

1pJ03

シロイヌナズナにおけるＮＰＡ高感受性突然変異体*pis1*の解析

藤田浩徳，庄野邦彦（東京大・教養・生命）

ＮＰＡに代表されるオーキシン極性輸送阻害剤の投与により植物に様々な効果が引き起こされることが知られている。例えば根の伸長阻害，重力屈性及び光屈性の喪失，花芽の形態異常の誘導などはよく知られている。我々はＮＰＡの作用及びオーキシン極性輸送の機構の解明を目的にシロイヌナズナよりＮＰＡに対して高感受性突然変異体*pis1*を単離した。すでに*pis1*は劣性変異体であること，根の伸長阻害においてＩＡＡ，ＡＣＣの感受性は変化せずオーキシン極性輸送阻害剤に特異的に高感受性であることを示しており，今回そのさらなる解析を行った。*pis1*は根及び胚軸の双方において伸長，重力屈性，光屈性のＮＰＡの阻害に対して高感受性を示したが，根においてその効果は顕著であった。また重力屈性と光屈性が共に高感受性に変化したということは，双方に関与する因子が遺伝子レベルで存在していることを示唆している。また*pis1*は植物体の成長阻害及び花芽の形態異常の誘導に関してもＮＰＡ高感受性を示した。以上の結果より*pis1*はＮＰＡのあらゆる作用に対し高感受性を示し，オーキシン極性輸送系自身の変異体である可能性が高いと思われる。

1pJ04

タバコプロトプラストにオーキシン非依存性を与える遺伝子*axi1*の新規クローニングと機能解析

藤巻秀，真野弘範，馳澤盛一郎[1]，Richard Walden[2]，林浩昭，茅野充男（東京大学大学院農学生命科学研究科，[1]東京大学大学院理学系研究科，[2]Max Planck Institut für Züchtungsforschung, Köln, 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、或いは過剰に含む培地上でも細胞分裂及びカルス形成をひきおこす遺伝子である。この遺伝子は、activation T-DNA tagging法によりタバコから単離されたものであり、その機能を解明することにより植物が細胞分裂を制御する機構について新たな知見が得られると期待できる。本実験では、*axi1*は植物の基本的な遺伝子の一つであると考え、ダイズ・イネからの単離を試みた。RACE（rapid amplification of cDNA end）法を用いて、植物体から抽出したmRNAより、ダイズから一種類の*axi1*完全長cDNAを増幅・クローニングした。またタバコBY2細胞を用いて、細胞周期における*axi1*の発現時期、および細胞内での発現部位について研究した。現在、発現ベクターにクローニングしたダイズ*axi1* cDNAのタバコプロトプラストへのPEG法による導入、及びオーキシン非依存性を誘導する活性の測定を試行中である。

1pJ05

イネ科植物の発芽におけるジベレリン生合成機能の発現解析（2）オオムギの内生ジベレリン

小林正智、五味雅裕[1]、上松淳一[1]、崔用華、桜井成
（理研、[1]キリンビール）

イネ科植物の発芽における内生ジベレリンの生合成機能の発現とその役割について解析している。オオムギでは発芽初期にアミラーゼに代表される酵素群がジベレリンにより誘導されると考えられている。しかし、内生ジベレリンが発芽初期に生合成されている証拠は明確には示されていなかった。そこでオオムギ種子の発芽における内生ジベレリンレベルを経時的に調べたところ、吸水開始より2日後にGA_1のレベルがピークに達することが明かとなった。3位に水酸基を持つ活性型ジベレリンとしてはGA_1のほかGA_3も検出されたが、そのレベルはGA_1よりも低くかつ吸水開始より4日後に最大値を示した。GA_4は検出されなかった。以上の結果はオオムギでは（1）発芽初期に内生ジベレリンの生合成機能が発現し、（2）その結果生合成されたGA_1がアミラーゼなどの誘導に関与していることを示している。既に報告したように、イネではジベレリンレベル、アミラーゼ活性はともに吸水開始3日目以降、第一葉の展開が始まってから増加する。同じイネ科でありながらイネとオオムギで対照的な結果が得られたことは興味深い。

1pJ06

カボチャ（*Cucurbita maxima* L.）のカウレン合成酵素Bのcdnaクローニング

山口信次郎[1,2]、斎藤臣雄[2,3]、安部弘[3]、室伏旭[1]、山根久和[4]、神谷勇治[2]（[1]東大・応用生命化学、[2]理研・フロンティア、[3]理研、[4]東大・生物生産工学研究センター）

ジベレリン生合成の最初の重要なステップは、ゲラニルゲラニルピロリン酸がコパリルピロリン酸（CPP）を経てカウレンへ環化される過程である。CPPからカウレンへの変換は、カウレン合成酵素B（KSB）により触媒される。精製したKSBより得られたアミノ酸配列を基にしてオリゴヌクレオチドプライマーを合成し、カボチャ未熟種子より調製したRNAを鋳型として、RT-PCR法によりcDNA断片を増幅した。これをプローブとしてcDNAライブラリーをスクリーニングし、RACE法と組み合わせて全長のcDNAクローン（2.7 kb）を得た。大腸菌で融合タンパク質として発現させたところ、[^{3}H]CPPを[^{3}H]カウレンに変換する活性を示した。KSBのmRNAは、幼植物体において調べた全ての器官で検出された。発現量は、若く成長している組織で多かった。KSBの予想されるアミノ酸配列は、植物由来の他のテルペン環化酵素と相同性を示した。N末端には、プラスチドへの移行シグナル様の配列（transit peptide）が認められた。

1pJ07

ent-KAURENE SYNTHASE A AND SEED DEVELOPMENT

Tahar Ait-Ali, Stephen M. Swain and Yuji Kamiya ; Plant Hormone Function, Frontier Research Program, RIKEN, Wako-shi, Saitama 351-01 Japan

Gibberellins (GAs) are known to be involved in several aspects of plant development, including shoot elongation and seed germination. Recently, GA deficient mutants have been used to suggest that GAs are also required for seed development in pea (*Pisum sativum* L.) in the first few days after fertilization. For one of these mutants, *ls-1*, biochemical analysis suggests that GA biosynthesis is reduced in a developmental- and organ-specific manner by reduced conversion of geranylgeranyl pyrophosphate to copalyl pyrophosphate. This step is catalyzed by the GA biosynthetic enzyme kaurene synthase A (KSA) and this enzyme has been cloned from Arabidopsis. A putative KSA has also been cloned from maize. To understand the regulation of KSA expression in wildtype and *ls-1* plants, we have used RT-PCR on mRNA from developing embryos to clone fragments of KSA genes from pea . A full-length cDNA that encodes a putative KSA has been isolated, and has high AA sequence similarity to KSA of Arabidopsis and maize. RT-PCR analysis of WT and *ls-1* embryos suggest that the LS locus encodes KSA, and the phenotype of *ls-1* mutation (G to A substitution in the 3' intron 11- exon 12 junction) results from abnormal spliced KSA mRNA.

1pJ08

トマトカウレン合成酵素A遺伝子のcDNAクローニングと光による発現調節

今井亮三，梁泳烈，Tahar Ait-Ali，川出洋，神谷勇治（理研・国際フロンティア）

光による茎の伸長制御にはジベレリンが深く関与していることが知られているが，その機構はまだ不明な点が多い．最近の研究により，ジベレリン生合成の最初のステップを触媒するカウレン合成酵素A(KSA)は葉緑体中に局在し、その発現は光による調節を受けていることが示唆されている。本研究ではファイトクロム欠損株及び過剰生産株等を用い，その詳細な調節機構の解析を目的としている．今回はトマトからのKSA遺伝子のクローニングについて報告する．

*Arabidopsis*とmaizeのKSA間で保存される配列に対しディジェネレートプライマーを合成し、発芽後7日の芽生えから調整したmRNAに対してRT-PCRを行い、増幅断片を得た。断片の塩基配列を求めたところ、2種類の配列よりなり，それぞれ*Arabidopsis*のKSAと67％及び56％の同一性を示した．Southern解析により両断片は異なる遺伝子に由来することが示唆された．また，芽生えより作製したcDNAライブラリーを両断片をプローブとしてスクリーニングし，それぞれに対応するcDNAクローンが得られたことより，トマトの芽生えにおいては少なくとも2種類のKSA遺伝子が発現していることが示された．現在，２つの遺伝子について光条件による発現調節について解析を行っている．またジベレリン欠損*gib-1*変異株はKSAの欠損によると考えられているが，いずれの遺伝子によるものかについても解析中である．

1pJ09

イネのジベレリン２０位酸化酵素のｃＤＮＡクローニング

豊増知伸[1,3]，川出洋[1]，関本弘之[1]，Camila von Numers[1]，Andrew L. Phillips[2]，Peter Hedden[2]，神谷勇治[1]（[1]理研フロンティア，[2]Long Ashton Research Station，[3]山形大・農）

カボチャとアラビドプシス由来のジベレリン(GA)２０位酸化酵素（GA 20ox）の共通配列を基にして，イネ（短銀坊主）芽生えcDNAよりGA 20ox由来と思われるDNA断片をPCR法により増幅した。さらにそのDNA断片をプローブにして，その全長をコードすると思われるcDNAクローンを得た。

得られたクローンの推定アミノ酸配列は，既知のGA 20oxのものと高い相同性を示した。さらにそのコード領域部分を大腸菌内で発現させて得られたタンパク質は，GA12/53 -> GA15/44 -> GA24/19 -> GA9/20の３段階のGA 20位の酸化を触媒した。その変換効率はGA12よりGA53を基質とした場合の方が高く，イネ芽生えのGA生合成において初期１３位水酸化経路が主として機能していることをよく反映しており、ここで得られたcDNAクローンが単子葉植物で初めて単離されたGA 20oxをコードする遺伝子であることを強く示唆した。

この遺伝子の発現は、正常種（日本晴）に比べてGA欠損型矮性種（短銀坊主，矮稲Ｃ）において顕著に見られ、３品種とも生合成阻害剤（Uniconazole P）処理により増加し，活性型GA処理により検出限界以下に減少した。これらの結果は，イネのGA 20oxの発現が双子葉植物と同様に活性型GA量により制御されていることを示唆した。

1pJ10

エドヒガン系のサクラにおける、立性及びしだれ性枝の内生ジベレリンについて

小林正智，吉沢恭子，小林真由美[1]，桜井成，中村輝子[1]（理研・[1]日本女子大・理）

すでに、エドヒガン系のしだれ性変異、ヤエベニシダレにおいて、外生ジベレリンにより枝に負の重力屈性が発現し、しだれ性枝が上方伸長をするようになること、さらにジベレリン処理枝においては、枝巾が増すと同時に、重力刺激に反応した、枝の上側に偏った偏心成長及びあて材形成が誘導されることを報告してきた。　このような結果にもとずいて、今回は、「しだれ性変異が内生ジベレリンレベルの低下により引き起こされているのか否か」を検討するために、立性、エドヒガンとしだれ性、ヤエベニシダレの内生ジベレリンレベルの比較、およびジベレリン合成阻害剤、ウニコナゾールの立性枝の重力屈性への影響を調べた。内生ジベレリンレベルは、むしろしだれ性枝の方が高く、また、立性枝において、ウニコナゾールは伸長成長に対しては、顕著な抑制効果を示すものの、しだれ性への転換をもたらすことはなかった。今回の結果は、上記の仮説を支持するものではなく、しだれ性のジベレリン要求性にについては、さらに検討を要する。

1pJ11

エドヒガン系サクラのＧＡ３処理枝に発現する負の重力屈性と成長応力

吉田正人、奥山　剛、山本浩之、中村輝子[1]（名大・農、[1]日女大・理）

樹木枝の負の重力屈性挙動を力学的側面から理解するために、ヤエベニシダレ (*Prunus spachiana* Kitamura f. *spachiana* cv. *Plenarosea*, Yaebenishidare) の当年枝にＧＡ$_3$を４月下旬から１週間間隔で４回与え、１２月に成長応力の測定を行なった。負の重力屈性が発現した処理枝上側では、未処理枝のそれより大きな引張りの成長応力が生じていた。あて材部は両枝に認められたが、未処理枝では髄付近には認められなかった。発現した負の重力屈性は以下のような要因と機構が推察される。ＧＡ$_3$処理枝は、肥大成長の促進と分化した細胞の早期成熟により、自重によるたわみへの抵抗力を早期に獲得する。このことが、伸長成長等による自重の増加によるしだれ量を少なくさせる。さらに枝上側に生じた細胞自らが縮もうとする大きな引張りの成長応力は、未処理枝と比べて成長の初期段階から発生し、枝の自重を支えると共に、枝を上向きにさせる働きをする。

1pJ12

イネ葉鞘伸長を指標としたジベレリン応答の解析

伊藤伸一[1]，松岡信[1,2]　山口淳二[1,2]　([1]名大・農・生化学制御，[2]名大・生物分子応答研究センター)

吸水後数日経過したイネ実生にジベレリンを添加することにより、第２葉鞘の急激な伸長が起こる。この現象は、細胞伸長と細胞分裂の両方によって引き起こされることが知られているが、その詳細は明らかではない。我々は、この第２葉鞘および細胞伸長を指標とする系を用いて、ジベレリンによる作用および遺伝子の誘導の解析を行った。

GA欠損型矮性品種である短銀坊主種子を、ジベレリン合成阻害剤であるuniconazolで２４時間処理し、さらに矮化させた。その後、100ngのGA$_3$を鞘葉と第１葉の間に滴下することにより添加した。葉鞘のどの部位の細胞が伸長しているのかを、表皮細胞の長さを指標として調べ、葉鞘の下から5mm付近までの領域を細胞伸長部位として特定した。

この細胞伸長部位よりRNAを調製し、ノーザンブロッティングを行ったところ、cdc2Os-2やDAHP合成酵素などに対し、GA添加後6-12時間後に誘導がみられた。現在、他のcDNAプローブを用いたノーザン解析を行っており、それらの結果とあわせて報告する。

1pJ13

ジベレリンによる浮稲節間の伸長促進と浸透調節

東　哲司[1]，上野覚士[2]，内田直次[1,2]，安田武司[1,2]
（[1]神戸大・自然科学，[2]神戸大・農）

浮稲節間は，高湿度環境でのエチレンあるいはジベレリン（GA）処理により著しく伸長する．しかし，低湿度環境では，GAは節間の伸長を促進するが，エチレンは伸長を促進しない[1]．我々は，この現象がアブシジン酸含量の変動では説明することができないことをすでに報告した[2]．

低湿度条件で細胞が伸長するためには，水中や高湿度条件に比べて植物体からの水分の蒸散量が多くなるので，細胞の成長に必要な膨圧を得るにはより高い浸透圧を要すると考えられる．いくつかの植物で，GAが細胞伸長を促進する際に，浸透調節を行っていることが知られている．そこで本研究では，低湿度環境でも節間の伸長を促進させることのできるGAの能力と，GAの浸透調節作用との関係を調査した．

高湿度条件でのエチレンやGA処理または深水処理によって節間の伸長部位の浸透ポテンシャルは増加したが，乾燥条件でのGA処理では節間の伸長部位の浸透ポテンシャルは維持されていた．また乾燥条件でのGA処理により伸長している節間では，高湿度条件での伸長節間に比べ，約二倍のインベルターゼ活性と可溶性糖含量の増加が認められた．これらの結果は，GAが乾燥条件でも浮稲節間の伸長を促進することができるのは，GAが有する浸透調節機能と関係がある可能性を示唆する．

[1] Plant Cell Physiol 32: 307-309 (1991)
[2] J Plant Physiol 146: 323-328 (1995)

1pJ14

イネ幼苗の伸長におけるエチレンとジベレリンの関係

古川浩二[1,2]、今井亮三[2]、山口信次郎[2,3]、豊増知伸[4]、梁泳烈[2]、桜井　成[1,5]、高橋信孝[2]、神谷勇治[2]
（[1]埼玉大大学院•理工学研究科、理化学研究所•[2]国際フロンティア、[3]東大•応用生命化学、[4]山形大•農学部、[5]理化学研究所•植物生活環制御）

これまで演者らは、エチレン存在下での日本型イネ（*Oryza sativa* L.）幼苗の伸長、内生ジベレリン（GA）の定量およびGAに対する反応性の変化を調べてきた。その結果、エチレンによりイネ幼苗の第3葉の伸長が促進されるにもかかわらず、第3葉のGA_1およびその前駆体のGAの内生量が減少することが確認された。そこで演者らは、エチレンはGAの生合成および代謝を促進すると考え、[^{14}C]GA_1と[^{3}H]GA_{20}を用い、エチレン存在下におけるGAの変換を調べた。5ppmウニコナゾール溶液で浸漬処理をしたイネ幼苗に[^{14}C]GA_1および[^{3}H]GA_{20}を投与し、1ppmのエチレン存在下で24時間培養後、メタノール抽出およびODS-HPLCにより精製、分画し、その放射活性から代謝物の変換量を測定した。その結果、[^{14}C]GA_1から[^{14}C]GA_8への変換および[^{3}H]GA_{20}から[^{3}H]GA_1への変換が認められた。この変換はエチレンにより増加したことから、GA_1およびGA_{20}の変換がエチレンにより促進されることが示唆された。これらの結果から、GA 20位酸化酵素などGA生合成酵素の遺伝子発現に対するエチレンの影響を調べる予定である。

1pJ15

カーネーション花弁由来ACC酸化酵素のACBCによる阻害

小杉祐介，小山田奈穂子，吉岡俊人，佐藤　茂，小野寺英一[1]，山田有子[1]（東北大・農・環境適応，[1]宮城県園試）

本研究では，カーネーションの老化花弁からACC酸化酵素を部分精製して一般的性質を調べ，さらに基質であるACCのアナログの阻害作用を検討した．

調べたACCアナログのなかで，1-aminocyclobutane-1-carboxylate（ACBC)が，強力に酵素活性を阻害した．阻害様式は拮抗阻害であった．ACBCのKiとACCのKmの比較から，ACBCは基質のACCよりも酵素の活性部位に結合しやすいことが示された．一方，この酵素は基質ACCによって反応機構依存性の不活性化反応を起こしたが，ACBCでは不活性化反応は起こらなかった．

ACC酸化酵素の強力な阻害剤であることが明らかになったACBCは，エチレン合成の阻害を作用点とするカーネーション切花の鮮度保持剤の開発研究においてモデル化合物として期待される．

1pJ16

ヤエナリ胚軸から精製されたエチレン生成阻害タンパク質は膨圧応答タンパク質と高い相同性をもつ

陳暖、酒井慎吾（筑波大・生物科学）

エチレン生成阻害タンパク質は1973年に酒井と今関によって黄化ヤエナリ胚軸から精製されたタンパク質である。この阻害タンパク質は分子量が112,000で2個の同一サブユニットからなっている。ヤエナリ胚軸切片におけるＩＡＡ誘導エチレン生成及びＡＣＣからのエチレン生成を可逆的に阻害し、更にＩＡＡｓｐ複合体の生成をも可逆的に阻害する作用をもつ。私達はこの阻害タンパク質の作用機作及びその生化学的特性を明らかにする実験を再開した。まず、ヤエナリ胚軸から阻害タンパク質を精製し、報告されているその特性について再確認した。次に阻害タンパク質のアミノ酸配列を明らかにするために、阻害タンパク質をV_8プロテアーゼで分解し、得られたペプチドの中から、二つのペプチドについてその部分的アミノ酸配列を決定した。これらのアミノ酸配列をもとにオリゴヌクレオチドを合成し、RT-PCR法により、阻害タンパク質ＤＮＡ断片を得た。このｃＤＮＡ断片（486bp）の塩基配列及びそこから推定されるアミノ酸配列を決め、ホモロジー検索を行ったところ、1995年にStroeher 等によって、報告された膨圧応答遺伝子と非常に高い相同性が認められた。

2aJ01

ササゲ伸長胚軸切片のストレス応答におけるＩＡＡおよびH⁺ポンプの役割

北村さやか，[1]水野暁子，加藤潔
（名大・人間情報，[1]日本福祉大）

浸透ストレスによる伸長の阻害と、それに続く適応回復は、導管灌流したササゲ伸長下胚軸切片でも観察されている(Liu et al, 1992)。本研究でもササゲ胚軸切片を用いた導管灌流法によって、浸透ストレスに対する生長の適応回復過程の、オーキシンおよび木部側H⁺－ポンプ依存性について調べた。胚軸切片を 30、または 60 mOsm の基本灌流液で 3 - 4 h 前灌流した後、60 mOsmの浸透ストレスを負荷した。オーキシンの効果は、あらかじめ灌流液に 10 μM IAA を加えるか否かによって調べた。IAA(-)の系では、前灌流における木部側膜電位（Vpx）は浅く、生長速度は低かった。また浸透ストレス負荷後、生長の適応回復は起こらず、Vpx には殆ど変化がみられなかった。これに対し、IAA(+)においては、ストレス負荷後、生長の適応回復と、それに先立つ顕著な Vpx の過分極がみられた。特に 30 mOsm 前灌流では、負荷前の Vpx と生長速度との間に r 値 0.7 以上の線形な相関がみられ、ストレス後における過分極分の最大値（ △Vpx ）と、生長速度の最大回復度との間にも r 値 0.8 以上の相関がみられた。また、60 mOsm 前灌流条件でも相当程度の高い相関が得られた。以上の事実は、ササゲ下胚軸切片の浸透ストレスに対する生長の適応回復が、オーキシンにより促進される木部H⁺ポンプ活性に依存することを示しており、ストレス下での水の再吸収と木部H⁺ポンプの密接な相関を示唆している。

2aJ02

ササゲ伸長胚軸切片の浸透ストレス応答における生理的壁特性の変化

北村さやか，[1]水野暁子，加藤潔
（名大・人間情報，[1]日本福祉大）

植物の浸透ストレスに対する生長の適応回復を説明する要因のひとつとして、細胞壁降伏過程の調節が考えられる。導管灌流したササゲ伸長下胚軸切片の、プレッシャージャンプ法(Okamoto et al,1989)を用いた研究(Liu et al, 1992)により、浸透ストレス下での生長回復過程における、細胞内実効膨圧（Pi-Y）および細胞壁展性（φ）の変化がすでに観察されている。本研究では、導管灌流法を用い、ササゲ胚軸切片の浸透ストレスからの生長適応回復過程における、これら壁降伏のパラメータ（ φ および Pi-Y ）の変化にオーキシンが与える影響について調べた。胚軸切片を 30、または 60 mOsm の基本灌流液で 約 4 h 前灌流した後、60 mOsm の浸透ストレスを負荷し、負荷の前後それぞれ約一時間の間の、φ および Pi-Y の測定をプレッシャージャンプ法により行った。オーキシンの効果は、あらかじめ灌流液に 10 μM IAA を加えるか否かによって調べた。IAA(-)では、ストレス負荷後に生長回復はみられず、Pi-Y は減少したまま回復しなかった。これに対し IAA(+) では、負荷後の生長の回復時に、顕著な Pi-Y の増大がみられた。しかし、IAA の有無に関わらず、φには負荷前後において大きな変化がみられなかった。以上の結果より、浸透ストレスに対するササゲ胚軸切片の生長回復時の壁降伏は、実効膨圧により調節されている可能性が示された。

2aJ03

水ストレス条件下でのコムギ幼葉鞘の成長抑制

若林和幸，保尊隆享，神阪盛一郎 (大阪市大・理・生物)

コムギ芽生えにポリエチレングリコール（ＰＥＧ 4000，６０ｍＭ）を用いて水ストレス(吸水ストレス)を与えると、幼葉鞘の成長が著しく抑制された。この時の幼葉鞘細胞壁の力学的性質を調べた結果、水ストレス条件下では成長が抑えられているにもかかわらず、細胞壁は柔らかい緩んだ状態で維持されていた。次に、幼葉鞘の浸透ポテンシャルを測定したところ、浸透ポテンシャルは、水ストレス条件下で大きく低下し、その結果、外液との浸透ポテンシャル差は、対照とほぼ同じ値となっていた。これは、水ストレス条件下の幼葉鞘も、対照と同程度の吸水力を持つことを示している。一方、水ストレス条件下の幼葉鞘の表面をアブレイドし、水を直接的に幼葉鞘に与えると、幼葉鞘の成長が回復し対照とほぼ同じ長さに達した。以上の結果から、水ストレス条件下でのコムギ幼葉鞘の成長抑制は、細胞壁伸展性の低下や浸透ポテンシャルの上昇によるものではなく、幼葉鞘への水の供給が抑制されることによるものであると考えられた。

2aJ04

キウリ芽生えにおける脂質転移タンパク質の誘導

小曽根 睦、竹内裕一、榊 剛、増田 税[1]、山田晃弘
（北海道東海大・工・生物工学、[1]日本たばこ産業・生命研）

非特異性脂質転移タンパク質（nsLTP）は、in vitro 検定により、生体膜間において極性脂質を転移する活性のあるタンパク質として高等植物から単離された。しかし、nsLTP の所在および遺伝子発現が細胞膜または細胞質の高密度顆粒に限られているところから、nsLTP には細胞オルガネラ間での脂質輸送のキャリア以外の役割があると考えられている。

nsLTP の生理的役割解明のためのアプローチの一つは植物組織のどのような条件下で nsLTP が誘導されるかを究明することであろう。

今回の発表では、キウリ芽生えが乾燥状態におかれたときに nsLTP 量が増加し、その際にアブシジン酸の増加を伴うことを報告する。アブシジン酸以外の植物ホルモン（オーキシン、サイトカイニン、ジベレリン）はキウリ芽生えの nsLTP 量に影響を与えなかった。

2aJ05

トランスジェニックアラビドプシスにおけるオーキシンの極性移動と花形成

岡 真理子、上田 純一、宮本 健助、岡田 清孝[1]、
Bob Masterson[2]（大阪府大・総合科学、[1]京大・理、
[2]Max-Planck-Institut）

演者らは、花茎の先端に花を形成しないシロイヌナズナ*pin*突然変異体を用いて、花形成における植物ホルモンの作用機作について研究している。これまでの研究により、*pin*突然変異体の生理学的な特徴として、内生IAA量および花茎におけるIAA極性移動能が野生型と比較して低いことを明らかにしてきた。以上の事実は、高等植物における花形態形成には、内生IAA量とIAA極性移動能が深く関与していることを示唆している。

本研究では、*pin*突然変異体に*Agrobacterium tumefaciens*の保持するindoleacetamide hydrolase (*iaaH*)遺伝子を導入し、indole-3-acetamide (IAM) 存在下で*pin*突然変異体を生育させ、内生IAAレベルを上げた時のIAA極性移動能と花形態形成を調べた。その結果、*iaaH*形質転換*pin*突然変異体 (Rpin) は、IAM存在下において、内生IAA量の上昇によると推察される根の成長阻害が認められた。IAM存在下で生育させたRpin花茎におけるIAA極性移動能は、非形質転換体である*pin*突然変異体のそれと同様であり、野生型と同レベルへの回復は認められなかった。花の形態もまた*pin*突然変異体と同様であった。

2aJ06

ＩＡＡ処理で誘導されるトウモロコシ主根切片の *in vitro* タンパク質燐酸化

加藤良一、高綱抄智子、和田　剛、成原ゆみ
（山形大・教育・生物）

筆者らは、IAA がその生長を促進するトウモロコシの中胚軸切片を用いて、IAAは Calmodulin 及び Protein kinase C のタンパク質燐酸化の系を介し中胚軸の生長促進に働くことを報告した（昨年度の本大会）。今回は、逆に、IAA がその生長を阻害する主根を用いて、IAA 処理で誘導されるタンパク質燐酸化を報告する。そして、『IAA による生長の器官特異性』についても考察する。

トウモロコシ主根の生長帯切片(5 mm)を、各濃度の IAA 中で各時間 Incubate した。それを、破砕・遠心操作(85 K xg)し、得られた上清を Centricon-10 で濃縮・脱塩した。それに [^{32}P]-ATP を加えて 4 分 Incubate し、燐酸化反応を行わせた後、SDS-PAGE 及び Autoradiography にかけた。

主根切片を 10^{-7}M IAA で 20 分以上 Incubate すると、10 種のタンパク質の燐酸化が促進された。次に、同切片を 10^{-12}～10^{-4}M IAA 中でそれぞれ Incubate すると、10^{-8}～10^{-6}M IAA のみがタンパク質の燐酸化を促進した。ところが、10^{-5}M 及び 10^{-4}M の IAA でも主根切片の生長は強く阻害された。すなわち、各濃度の IAA におけるタンパク質燐酸化の程度と、その時の生長阻害率とに相関は見られなかった。よって、IAA は、中胚軸の場合と異なり、タンパク質燐酸化の系を介さずに主根の生長を阻害すると結論づけられる。

2aJ07

トウモロコシ根端切片の拡散性IAAの動向に及ぼすカルシウムイオンやpHの影響

鈴木　隆，高橋宏之（山形大・教育）

我々は，光依存性重力屈性における重力刺激の情報伝達系に，根冠のアポプラストにおけるH^+とCa^{2+}の交換反応が関わっている可能性 (Planta, 1994) や，拡散性IAAの求基的移動が，根端のCa^{2+}により制御されていることを報告した(本学会1995年度年会)。本研究は，拡散性IAAの求基的移動とCa^{2+}の関連を明らかにするため，トウモロコシ(Golden Cross Bantam 70)の根端切片(0-1, 1-2, 2-3 mm)を用い，各切片の拡散性IAAの動向に及ぼすCa^{2+}やpHの影響を調べた。各0-1mm切片40個を冷MES緩衝液(400 μl)に浸し，拡散してくるIAAを拡散性IAAとし，ジクロロメタンで分画後，インドロ-α-パイロン法と蛍光検出フローインジェクション分析法を組み合わせた系で定量した。0-1mm切片からの拡散性IAA量は，他の切片の約1/3であった。切片を5mM $CaCl_2$ を含む緩衝液で処理したところ，IAA量は0-1mm切片で約1.5倍に増加したが，2-3mm切片では変らなかった。このCa^{2+}の部域による効果の差などから，重力刺激による拡散性IAAの求基的移動とCa^{2+}の関わりを考察する。

2aJ08

光屈性天然分子の膜結合型オーキシン結合タンパク質に対する効果

相澤裕子、穴井豊昭、小瀬村誠治[1]、山村庄亮[1]、長谷川宏司（筑波大・応生化、[1]慶応大・理工）

我々は、高等植物の光屈性反応は成長抑制物質により制御されているという成長抑制物質説に基づいて、現在までに数種の成長抑制物質を単離・同定してきた。このうち、いくつかの化合物は典型的な抗オーキシン活性を示すことが明らかとなっている。また最近の研究において、6-methoxy-2-benzoxazolinone はトウモロコシ膜結合型オーキシン結合タンパク質（ABP1）に対するオーキシンの結合を阻害する事が明らかとなった。

本研究では、新たにトウモロコシから単離・同定されたベンゾキサゾリノン類および他の光屈性天然分子を用いて、ABP1タンパク質のオーキシン結合活性に対する効果を詳細に検討したので、この結果について報告する。

また、植物の種類によりこれら光屈性天然分子に対する感受性の差異が確認されていることから、これとABP1タンパク質に対する各々の光屈性天然分子の効果との因果関係を明らかにする目的で、数種類の植物からABP1タンパク質の単離を試みており、この結果についても併せて発表する。

2aJ09

低 pH により誘導されるレタス根毛形成における植物ホルモンの役割の解析

井上康則、渡部忠久(東理大・理工・応生)

レタス(品種 Grand rapids)を pH5-4 の酸性条件下で培養すると、主根の生長は pH の低下に比例して阻害され、これを補う形で根毛が誘導される。この現象における植物ホルモンの役割を調べた。

中性 pH 条件下では、IAA とカイネチンが低 pH と同程度に根毛形成を誘導できる。低 pH の効果は抗オーキシン剤の CPIB や TIBA で抑制され、CPIB の効果は IAA により回復する。一方、エチレンの前駆体である ACC は中性 pH 条件下で根毛形成を誘導し、低 pH あるいは IAA の効果は ACC 合成酵素の阻害剤である AVG により阻害される。AVG の効果は ACC により回復することから、低 pH→IAA→エチレン→根毛形成 の流れが推測される。

カイネチンの効果も AVG により阻害されることから、カイネチンもエチレンを介して根毛形成を誘導していると考えられる。現在、低 pH による根毛形成誘導においてサイトカイニンが入るべき位置を検討している。

2aJ10

頂芽切除後の腋芽で発現する遺伝子の解析

上口(田中)美弥子、円由香、森仁志(名大. 農・生化学制御)

頂芽優勢は、植物生理学では良く知られた現象であるが、その分子機構はほとんど明らかにされていない。我々は先に、頂芽切除後の腋芽で特異的に発現している遺伝子の存在を示した。今回は、ノザン法と *in situ* hybridization により、それらの発現様式を解析したので報告する。

頂芽切除8時間後のアラスカエンドウの腋芽から調製したcDNAライブラリーより得られた8個のクローンの内、1つは、heat shock transcription factor (HSF)であったが、他はhistone、ribosomal protein、proline rich cell wall protein など複製、翻訳や細胞壁に関係するものであった。これらのクローンについてノザン解析もしくは、RT-PCRを行った。その結果、HSF以外のクローンは、すべて頂芽切除4-8時間後以降に発現が増大しており、HSFの場合は、1時間後に発現が最大となった。また、1つの節に存在する大小4個の腋芽間での頂芽切除後の発現の違いも観察され、このことは、頂芽と腋芽の間のみならず、腋芽間にも頂芽優勢の関係が存在するためと考えられた。さらに、*in situ* hybridizationによりhistoneH4の発現様式を解析したところ、頂芽切除前の腋芽ではそのシグナルは極めて弱いが、頂芽切除10時間後の腋芽では、茎頂付近および葉原基にパッチ状の強いシグナルが観察された。現在、他のクローンについても *in situ* hybridization を行っており、合わせて報告する。

2aJ11

頂芽切除後に腋芽で発現が減少するcDNAの単離

円由香, 上口(田中)美弥子, 森仁志(名大・農・生化学制御)

腋芽の成長は頂芽によって抑制されている。この頂芽優勢という現象は、植物生理学上、古くから知られているものであるが、その機構に関する分子レベルでの解析は、ほとんどなされていない。我々は、differential display法を用い、頂芽切除後の腋芽で発現量の変化する遺伝子の検索を行っている。

播種後7日目のアラスカエンドウの頂芽を切除した後、経時的に腋芽から調製したRNAを鋳型にしてdifferential displayを行った。その結果、発現量に変化の見られる遺伝子が多数検出された。今回は、その中でも頂芽切除後、腋芽で発現量が減少、もしくは初期に最大に達し、その後減少するものに関して報告する。これらのクローンをノザン法により解析したところ、differential displayと同様の発現様式を示す結果が得られた。また、幾つかに関してはデータベースの検索により、遺伝子が同定された。

発現量の変化するクローンを更に検索し、*in situ* hybridizationによる発現の解析結果も報告する予定である。

2aJ12

頂芽切除後の腋芽の細胞周期に関する研究

志水佐江、上口(田中)美弥子、森仁志
(名大・農・生化学制御)

頂芽優勢とは頂芽が優先的に成長し、腋芽の成長が抑制される現象である。頂芽が切除されると腋芽は細胞分裂及び、細胞伸長を伴って成長を開始すると考えられているが、この分子機構はほとんど明らかにされていない。そこで、私たちは、細胞分裂及び、細胞伸長に関与している遺伝子群をクローニングし、この発現様式を解析することで頂芽優勢の分子機構を明らかにしたいと考えている。

既知の cdc2、PCNA、cyclin A, B, D それぞれの保存領域を基に、RT-PCR によりアラスカエンドウの茎頂及び根の分裂組織から cDNA 断片を得、これをプローブとして、全長の cDNA をクローン化した。頂芽切除後の腋芽におけるこれらの遺伝子の経時的な発現様式の解析から腋芽細胞は G_1 あるいは G_0 期で停止していると考えられた。また、*in situ* hybidization の結果も合わせて報告する。

2pJ01

モモ茎頂部より単離したオーキシン結合蛋白質(ABP19)の組織特異性および細胞内局在性

大宮あけみ （農水省果樹試）

モモ新梢茎頂部の可溶性画分より新規のオーキシン結合蛋白質（ＡＢＰ１９）を単離した(Plant & Cell Physiol. 34:177-183,1993)。

ＡＢＰ１９に対するポリクローナル抗体を作製し、ウェスタンブロット法および免疫電顕法により同蛋白質のモモ組織における存在様式を解析した。その結果ＡＢＰ１９は以下のような局在性を示した。（１）細胞壁に局在する。（２）葉や茎に特に多く存在する。（３）根や子葉では検出されない。（４）分裂組織や成長が停止した組織よりも肥大期の組織に多く存在する。（５）暗所で育てた黄化芽生えでは検出されない。

以上の結果からＡＢＰ１９はきわめて組織特異的な局在を示す細胞壁蛋白質で、組織内の存在量は成長段階や環境の影響を受けることが明らかになった。

2pJ02

免疫学的手法によるダイズ（*Glycine max*）オーキシン結合蛋白質の検出

[1]堀 智子、[2]石川文雄、[3]小林未邦子、[1]中山克己、[1]岡田光正
([1]東邦大・理・生物分子、[2]医・免疫、[3]理・生物)

オーキシンは、光屈性、細胞伸長、頂芽優勢、組織の分化など植物の生長制御に関して重要な機能をもつが、オーキシンの作用の分子機構については現在でも不明な点が多い。オーキシンによる生長制御のシグナル伝達経路の解明を目的としたオーキシン結合蛋白質の探索により、現在までに β-1,3-glucanase や β-glucosidase、 RuBisCO 等を含むいくつかのオーキシン結合蛋白質が検出されている。

今回我々は、免疫学的手法を用いて、内在性のオーキシン結合蛋白質の検出を試みた。抗オーキシンモノクローナル抗体は、IAA (indole-3-acetic acid) を BSA (bovine serum albumin) に架橋したものを抗原として作成した。得られた抗体は IAA に対する特異性が高く、類似物質との交差反応性は低かった。これを用いてダイズ (*Glycine max*) 中の内在性オーキシン結合蛋白質の同定を行っている。

2pJ03

膜結合型オーキシン結合タンパク質(ABP1)の構造と機能

穴井豊昭、宮田百、長谷川宏司（筑波大・応生化）

トウモロコシ・マイクロソーム膜から単離された膜結合型オーキシン結合タンパク質(ABP1)は、原形質膜表面に存在するオーキシンレセプターであると考えられている。しかしながら、ABP1タンパク質の機能の研究は主にトウモロコシにおいて行われ、その他の植物における本タンパク質の役割についての研究は殆どなされていなかった。

我々は、植物の光屈性反応を制御すると考えられる成長抑制物質の研究を行っており、トウモロコシ芽生えから、抗オーキシン活性を示す4種類のベンゾキサゾリノン類を単離した(昨年度本年会で報告)。その後の研究で、これらのベンゾキサゾリノン類はトウモロコシABP1タンパク質に対するオーキシンの結合を阻害することが明らかになった。さらに、生物検定の結果より、このうちの1種の化合物は植物種により異なる活性を示すことが明かとなった。このため、これらの感受性の違いがABP1タンパク質の構造に基づくものであるかを明らかにする目的で、数種類の植物から*abp1*遺伝子を単離し、その構造およびゲノム中でのコピー数等を比較すると共に、抗体を作成し、遺伝子産物の局在等についても検討を行った。

2pJ04

オーキシン応答遺伝子 *arcA* の産物と相互作用するタンパク質の探索

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・生物科学専攻)

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、オーキシンにより発現制御を受ける遺伝子群を単離し、その機能及び発現制御機構を解析している。タバコ培養細胞 BY-2 株では 2,4-D 飢餓・再添加に対する反応として細胞分裂の再開が観察される。この系よりオーキシン応答遺伝子 *arcA* を単離し、構造解析よりその産物は、G タンパク質 β サブユニットに代表される構造である WD-40 リピートを持つタンパク質群のファミリーに属する事を明らかにした。このモチーフはタンパク質間相互作用に関与していると推測されている。arcA 産物の機能を同定しオーキシン作用との関連を明らかにする事を目的に、arcA 産物と相互作用するタンパク質を酵母を用いた Two-hybrid 法により探索した。本大会では、単離されたクローンの構造及び推測される機能について報告する。

2pJ05

クロモサポニン I によるレタス根の成長促進作用と細胞壁伸展性の増大

鶴見誠二, 渡辺竜五[1], 神阪盛一郎[1]（神戸大・自然科学, [1]大阪市大・理・生物）

エンドウ芽生えから得られるクロモサポニン I（CSI）が、数種の植物の根の成長を促進する作用があること、また、この成長促進は細胞の伸長速度の増大によることを既に報告した。今回は、CSI 処理により、レタス根の細胞壁の伸展性が増大することを認めたので報告する。

レタス (*Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids) の根細胞は、3 mM CSI 処理により、対照 (50 mM K-MOPS, pH 6.7) に比べ、生重量の増加を伴いながら細長くなるが、細胞の浸透圧は変化しなかった。このことは、CSI が、根細胞への溶質の取り込みを促進していることを示唆している。CSI による成長の促進に伴い細胞壁の伸展性が増大したが、このとき細胞壁も薄くなった。CSI による細胞壁伸展性の増大は、細胞壁の断面積の変化を補正した後にも認められること、また、外液に 225 mM のマニトールを加えて成長を一時的に停止させても認められることから、CSI の細胞壁物性に対する作用は、成長促進の結果ではなく原因であると考えられる。

2pJ06

成長促進物質レピジモイドの生理作用

山田 小須弥[1], 穴井 豊昭[2], 富田-横谷 香織[2], 長谷川 宏司[2,3]
([1]神戸大・自然科学, [2]筑波大・応生, [3]植物情報物質研究センター)

レピジモイド（lepidimoide; sodium 2-*O*-rhamnopyranosyl-4-deoxy-α-L-threo-hex-4-enopyranosiduronate）は、クレス種子が発芽時に混植した他の植物の下胚軸の伸長を顕著に促進させるアレロパシーの原因物質の一つとして単離・同定された新規の二糖類である。これまでにレピジモイドの植物界における分布、アナログによる構造活性相関、更に分泌の様式について明らかにしてきた。また、レピジモイドが植物のシュートの成長を促進する活性を持つことも明らかにしてきたが、今回、レピジモイドが興味ある新たな生理活性を有することを明らかにしたので報告する。

表面滅菌したヒマワリ種子にレピジモイドを処理し、一週間、明条件（14時間日長、25±1℃）で培養したところ、レピジモイド処理区のクロロフィル量が顕著に増加した。また、レピジモイドのアナログ(2-*O*-rhamnopyranosyl-4-deoxy-α-L-threo-hex-4-enopyranosid-uronic acid; ヒモゲイトウ下胚軸伸長試験ではレピジモイドと同等の活性を示す)では同程度の合成促進活性を示したが、レピジモイドのウロン酸部分の二重結合を欠く別のアナログ（sodium 2-*O*-rhamno-pyranosyl-4-deoxy-α-L-threo-hex-pyranosiduronate; 生物検定ではレピジモイドよりも低い活性を示す）の場合、レピジモイドの約50%の促進活性であった。同時にサイトカイニンであるベンジルアデニン（6-benzylaminopurine）も処理したが、レピジモイドを上回る活性は得られなかった。更に、レピジモイドと同じ二糖類であるショ糖にはほとんど促進活性は認められなかった。以上の結果から、このクロロフィル合成促進作用はレピジモイドの持つ新たな生理活性であることが示唆された。また、光エネルギー量を約48%まで低下させた場合（11μmol m^{-2} s^{-1}）でも、レピジモイド処理区のクロロフィル量は通常の光条件下（23μmol m^{-2} s^{-1}）で培養した未処理区のそれとほぼ同程度であった。これらの結果と併せて、レピジモイドのクロロフィル合成促進作用のターゲットについて得られたいくつかの知見も報告する予定である。

2pJ07

シロイヌナズナ種皮が分泌するレピジモイド様物質の成長促進効果

後藤伸治, 山藤誠司, 長谷川宏司[1]（宮城教育大, 生物, [1]筑波大, 応用生物化学）

シロイヌナズナの種皮に含まれるレピジモイド（LM）様物質の効果について, 種皮の細胞に隆起構造を持たない突然変異体との比較によって検討した。

野生型系統（WS, Col, La er）は, 外部に突出する隆起構造を持ち, LM様物質を含む粘質物を分泌するが, 隆起構造を持たない突然変異体（F, ttg, tt9, gl2）は, 粘質物の分泌がきわめて少なく, また, LM様活性もほとんど認められなかった。供試系統のLM様物質に対する反応はまちまちで, 系統間差異が見られた。胚軸の成長では, 伸長促進が著しいもの（F）, 中程度のもの（WS, Col, ttg, gl2）, ほとんど反応しないもの（La er, tt9）などに分かれた。

成長中の植物にLM様物質を継続して与えると, 葉の展開と花成時期が早まるとともに, 形成される花数, 成熟時の生重量, 乾燥重量, 種子数などが増加した。これらの成長指標への効果は系統によって大きく異なり, 必ずしも隆起構造の有無と対応しなかった。また, LM様物質は, 個々の発達段階の過程を促進することによって, 植物体の生活環を早く終わらせる効果を持つと考えられた。

2pJ08

植物にも松果体ホルモンであるメラトニンは存在する

服部淳彦, 右高 宙[1], 伊藤正則[2], 飯郷雅之, 大谷-金子律子
原 正幸, 高橋秀仁, 鈴木卓朗（聖マリ医大・1解・[2]化学, [1]日大・農獣医・畜産）

脊椎動物の松果体に存在するメラトニンは, 植物ホルモンの一つであるインドール酢酸と構造が一部類似している。そこでメラトニンというホルモンが, 動物界だけでなく植物界にも存在するのではないかと考え, Radioimmunoassay, Radioreceptor Assay およびHPLC を用いて検討した。ヒトや動物が食する代表的な24種（被子植物）を選び検索したところ, メラトニンは種により濃度は異なるものの, 確かに存在した。調べた中では, 単子葉綱のイネ科の数種とショウガ科・ショウガおよび双子葉綱のアブラナ科・カイワレダイコンやセリ科・アシタバに高濃度に存在した。また, これら植物由来のメラトニン物質は, 脊椎動物の脳や腸に存在するメラトニンレセプターに結合することもわかった。現在, 光周期による反応性を調べるとともに, 広く植物界の他の種においても検索しているので, あわせて報告したい。

2pJ09

緑化ヒマワリ芽生えの光によって誘導される成長抑制物質

加藤潤[1], 相澤裕子[1], 小瀬村誠治[2], 山村庄亮[2], 穴井豊昭[1], 富田-横谷香織[1], 長谷川宏司[1,3]（[1]筑波大・応生, [2]慶応大・理工・化学, [3]植物情報物質研究センター）

これ迄、演者らは種々の植物から光によって誘導される成長抑制物質の探索を行い、ダイコンからラファヌサニン、トウモロコシからベンゾキサゾリノン類等を単離・同定してきた。ヒマワリからはキサントキシンやカプロラクタム等を単離・同定してきたが、これら以外にも数種類の成長抑制物質の存在も確認してきた。今回新たに２種類の成長抑制物質を単離し、NMR, MS, IR 等のスペクトルデータから、8 - epi - xanthatin - 1β, 5β - epoxide、8 - epixanthatinと同定した。8 - epi - xanthatin - 1β, 5β - epoxide、8 - epixanthatinの光照射に伴う消長も併せて報告する。

2pJ10

スイカの発芽種子から放出されるアレロパシー物質

九島みどり、小瀬村誠治[1]、山村庄亮[1]、長谷川宏司[2]（植物情報物質研究センター、[1]慶応大・理工・化学、[2]筑波大・応生化）

クレス、レタス、ノビエ、ヒモゲイトウ、アオビユ等の種子をスイカ種子と混植した場合、ヒモゲイトウとアオビユのシュートの成長がスイカ種子によって著しく促進されたが、クレスとレタスの成長は逆に阻害された。ノビエの成長はスイカ種子による影響を受けなかった。

大量のスイカ種子の分泌液から、レタス下胚軸の成長を阻害する活性物質を単離し、種々のスペクトルデータからバニリン酸と同定した。バニリン酸を上記の各植物に処理したところ、クレスとレタスは100ppm以上の濃度で成長を阻害したが、ヒモゲイトウとアオビユに対しては10～300ppmの濃度で成長促進活性を示した。ノビエはバニリン酸による影響を殆ど受けなかった。

これらの結果は、スイカ種子のアレロパシー活性がバニリン酸に依存する可能性が高いことを示唆する。

2pJ11

Altersolanol類の植物細胞生育阻害作用

原口博行, 横山和美, 山本洋一, 倉田理衣奈, 岡村伸幸[1], 八木　晟[1]　（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altersolanol A, B, Cとともに新規化合物としてD, E及びF(1), G, H等の関連新規anthraquinone類(2,3)を単離した。*A. solani* FY-03株によるtetrahydroanthraquinone類の生産については光誘導であることが明らかとなった(4)。また, 主成分であるaltersolanol Aの作用機構についてはbacteria細胞を用いて検討した(5)。本報告では植物細胞における*A. solani* FY-03株由来tetrahydroanthraquinone類の作用を検討した。

Altersolanolはタバコ*(Nicotiana rustica)*培養細胞の生育を阻害した。 Altersolanolは同細胞より調製したミトコンドリアにおけるNADH oxidase活性を促進し, rotenone, antimycin, KCNなどの電子伝達阻害部位をバイパスした。また, Altersolanolはdiaphoraseやcytochrome reductaseの電子受容体として働き, その作用はA>E>C>B>F>Dであった。同細胞より調製したプロトプラストなどにおいてsuperoxide anionの生成が認められ, 基質酸化促進作用がSODやcatalaseにより解除されることから, altersolanolはsuperoxide生成を伴う電子放流系を形成すると推察された。

(1)A. Yagi et al. (1993) Phytochemistry, 33, 87. (2) N. Okamura et al. (1993) Phytochemistry, 34, 1005. (3) N. Okamura et al. (1995) Phytochemistry, in press. (4) N. Okamura et al. (1993) J. Chromatog., 630, 418. (5) H. Haraguchi et al. (1992) Biosci. Biotech. Biochem., 56, 1221.

2pJ12

ニンジン不定胚形成において高細胞密度時に蓄積する低分子性阻害物質の性質について

小林　俊弘、東　克己、鎌田　博（筑波大・生物）

ニンジン不定胚誘導系では、2,4-D存在下で培養しているembryogenic cells (EC) を、2,4-Dを含まない培地に移植することにより、不定胚を誘導することができる。この時、ECを高細胞密度で培養すると不定胚形成の阻害が見られる。この不定胚形成の阻害は培地中に放出される阻害物質によるものであり、細胞増殖が阻害されていることをすでに明らかにした。そこで、この阻害物質の生理作用について、詳細に調べることとした。

この阻害物質が、不定胚形成の発達段階に依存して作用するか否かを調べた。高細胞密度培養後の培地 (HCM) を、培養初期に与えた場合に比べ、培養後期に与えた場合には、阻害の減少が見られた。このことから、発達した不定胚では阻害物質が作用しにくくなっていることが考えられる。現在、球状胚、心臓型胚、魚雷型胚のそれぞれに対する阻害物質の作用について調べている。

次に培養中の阻害物質の蓄積について調べた。ECを様々な細胞密度で培養し、3、5、10、14日目に培地のみを回収して不定胚形成に対する効果を調べた。高細胞密度培養培地から回収したものでは、3日目から阻害が見られ、阻害活性は徐々に強くなった。低細胞密度培養の場合には、培養後期に強い不定胚形成の促進が見られた。以上の結果から、高細胞密度培養時には阻害物質が培養期間中継続的に放出されていることが示唆された。また、低細胞密度培養時には、発達した不定胚から促進物質が放出されるため、阻害が見られないと考えられる。

今後は、この不定胚形成阻害物質の精製・単離を進め、さらに詳細に解析する予定である。

3aJ01

エンドウのブラシノステロイド生合成突然変異体 *lkb* の生長のブラシノステロイドによる正常化

横田孝雄, 野村崇人、斉藤昭彦、竹内安智[1], James B. Reid[2]（帝京大・理工・バイオサイエンス, [1]宇大・雑草科学センター, [2]タスマニア大）

エンドウの単一遺伝子突然変異体である矮性種の *lka* および *lkb* は正常の内生ジベレリンを有し、ジベレリンに反応しない. すでに報告したように、*lkb*ではブラシノライドをはじめとするすべての内生ブラシノステロイド含量が低く、*lka*においてはブラシノライドの前駆体であるカスタステロンの蓄積が認められている. 本研究では*lka*および*lkb*のブラシノステロイドに対する反応性を観察した.

その結果、*lkb* においては幼植物の第3葉をブラシノライドおよびカスタステロンともに1 ngで処理することにより、そのすぐ上部の茎は野性型(Torsdag)に匹敵する伸長を示した. また、第4葉上部の伸長は野性型より大きくなった. この結果より、*lkb*は生合成突然変異体であることが明かとなった.

一方、*lka*は1 μgのブラシノライドを投与しても野性型ほどの伸長が見られなかった. したがって、*lka*の矮性の原因は不明である.

3aJ02

ブラシノライドによる液胞膜ATPaseの活性化による伸長生長の促進

冨永るみ、櫻井直樹（広島大学・総合科学部）

ブラシノライド（$2x10^{-7}$M）は、黄化カボチャ下胚軸切片の内部組織の伸長を顕著に促進した。応力緩和法による細胞壁の力学的性質の測定の結果、ブラシノライドは、まず内部組織の細胞壁の弾性率を低下させ、その後表皮の細胞壁も変化させることが分かった。しかし、ブラシノライドは、細胞壁多糖の糖含量、糖組成、分子量分布、細胞壁合成に顕著な変化を引き起こさなかった。ブラシノライドによる伸長促進作用は、カリウムイオンやスクロースを加えることにより相乗的に促進された。また、ブラシノライドは、下胚軸から抽出した液胞膜結合型H^+-ATPaseを in vitro で活性化した。以上の結果は、ブラシノライドが、液胞膜結合型H^+-ATPaseを活性化し、カリウムイオンやスクロースを液胞に取り込み、浸透圧を上昇させて伸長生長させている可能性を示している。

3aJ03

ファレノプシス（ラン科）におけるノルエピネフィリンの局在性の検討

内山　寛、邱　日英[1]、池田和正、佐藤嘉兵、米田和夫[1]、小山鐵夫（日本大・農獣医・応生、[1]農）

我々は、ラン科のファレノプシス葉中のノルエピネフィリン代謝とその花成の関連性について検討を進めている。 ファレノプシス葉中には、ノルエピエンフィリンが存在し、ノルエピネフィリンの分解活性が花茎の形成に従い変化することから、花成にノルエピネフィリンが関与する事を示唆してきた。 本研究では、植物体内でのノルエピネフィリンの生理作用をさらに検討することを目的として、ファレノプシスの各組織におけるノルエピネフィリンの局在性の検討を試みたので報告する。

ファレノプシスは開花株と未開花株を用いた。 葉と根，花茎（開花株）の各組織切片を作製し、5％グルタルアルデヒドで固定後、ＳＡＢ法により免疫組織染色を行った。 発色は基質にＤＡＢを用いて行った。

葉においては葉肉細胞の細胞質が染色され、ノルエピネフィリンは葉肉細胞の細胞質中に存在していることが示された。同様に、根や花茎の柔細胞の細胞質にもノルエピネフィリンの存在が示された。 開花株と未開花株の間および同一株内の異なる葉の間において、ノルエピネフィリンの局在性に関しては殆ど差が見られなかった。 一方、ノルエピネフィリン分解活性は、花茎形成の発達段階で量的変動があることが確認されており、これらの結果はノルエピネフィリンが花成に生理的役割を果たしている可能性を示唆しているものと思われる。

3aJ04

ファレノプシス（ラン科）の花成に伴うノルエピネフィリンの代謝に関する検討

池田和正、邱　日英[1]、内山　寛、佐藤嘉兵、米田和夫[1]（日本大・農獣医・応生、[1]農）

ファレノプシスを用い、その花成に伴うＮＥの関連性を明らかにすることを目的として、ＮＥ投与による花成の促進効果および葉中に存在するＮＥ代謝系の検討を行った。ファレノプシス葉サンプルをPCA-metabisulfite 溶液でホモジナイズ後、HPLC-ECDにより葉中カテコールアミン濃度の測定を行った。ＮＥ分解活性は、290 nMのＮＥを含有する500 mMリン酸緩衝液pH６に生理食塩水により調製された葉抽出液10μlを添加し、インキュベーションを行い、ＮＥ減少量をHPLC-ECDにより測定した。ＮＥの花茎形成に及ぼす影響を検討するために温室栽培を行っているファレノプシスの葉に500 mg ＮＥ/100 ml溶液を７月下旬より６日間塗布した後、普通栽培し、観察した。ファレノプシス葉にはノルエピネフィリンが含有され、花茎の発育とともにＮＥの分解活性は減少した。またＮＥの葉への塗布により、花茎形成の時期が一部の株で１ヵ月早まることが確認された。これらの事実はＮＥが花成に関与することを示唆している。葉中で行われるＮＥに関連する代謝系の検討を行った結果、ＮＥ分解の最適pHは６付近に存在し、ＮＥの主代謝産物がエピネフィリンであることが示された。この分解活性は、温度依存的に増加したが、PCAやTCA添加により除蛋白後の葉抽出液中では活性が消失した。またゲル濾過により低分子成分を除いた分画にこの分解活性が若干存在したが、この反応を触媒する酵素として知られるフェニルエタノールアミンN-メチルトランスフェラーゼの補因子であるS-Ad-Metを添加する事により活性の増強が見られた。ことからＮＥ分解を行っている物質が、粗抽出液では耐熱性をもつ上記酵素である可能性を示唆した。

3aJ05

アサガオの貧栄養開花及びサイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼに対する安息香酸誘導体の影響

藤波周、篠崎真輝（京大・農・応植）

短日植物であるアサガオの*Violet*は連続光下に於いても、貧栄養、強光、低温等により花芽誘導が可能であり、これらの花成はフェニールプロパノイド含量と密接に関連している。花成に対するフェニールプロパノイドの役割は不明であるが、貧栄養及び強光花成時に増加するピノレジノールは、サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ（PDE）活性を阻害するとの報告がなされている。そこで昨年の本会では同阻害作用を持つパパベリンがアサガオの長日開花を促進することを報告した。

今回、我々はこうした長日開花についての解析をさらに進め、主に貧栄養開花に関して新たな知見を得た。

実験材料としてアサガオの*Violet*品種を用いた。種子を常法通りに処理し、発芽した芽生えを貧栄養培地に移植した後、10日目から5日間、種々の安息香酸誘導体及びPDE阻害剤を与え、花成への影響を調べた。一方、動物由来のPDEに対するこれらの物質の阻害作用も検定した。

その結果、安息香酸誘導体の幾つかで花成促進が認められ、さらにそのうちの幾つかにPDE阻害作用が認められた。また従来よりPDE阻害剤として知られるテオフィリンでもパパベリン同様の花成促進が見られた。

3aJ06

アサガオ子葉篩管液の花成制御活性

近藤正敏，重田千晶，谷本靜史（佐賀大・農・遺伝子工学）

茎頂培養を検定系として、短日処理したアサガオの子葉からの篩管液(短日篩管液)には花成誘導活性があること、長日処理した子葉からの篩管液(長日篩管液)には花成阻害活性があることをすでに報告してきた。

両篩管液の誘導活性と阻害活性をイオン交換樹脂によって分画すると、誘導活性は陰イオン交換樹脂に吸着し、阻害活性は陽イオン交換樹脂に吸着した。さらに、短日篩管液の陽イオン交換樹脂吸着画分には花成阻害活性が、長日篩管液の陰イオン交換樹脂吸着画分には花成誘導活性が存在することが明らかとなった。すなわち、篩管液中には花成誘導物質及び花成阻害物質の両者が存在しており、それらの量が変化することによって誘導活性あるいは阻害活性が現われるものと思われる。

3aJ07

Cloning of the cDNA encoding a novel PR-like protein induced by thiocarbamate during early flowering phase in *Asparagus* seedlings.

Dennis Yeo[1,2], Tomoko Abe[1], Hiroshi Abe[1], Akira Sakurai[1] and Shigeo Yoshida[1] ([1]RIKEN,[2]Graduate School of Sci. and Eng., Saitama University)

Early flowering in *Asparagus officinalis* can be induced, within 3 weeks, with exogenous application of carbamates and thiocarbamates. We analyzed crude extract of total proteins by 2 D-PAGE for possible involvement of specific polypeptide(s) during early stages of transition to floral meristem.
An acidic protein,17 kD,was detected and its partial amino acid sequences determined to be a PR-like protein. For reverse-PCR, poly(A)$^+$ RNA from thiocarbamate-treated seedlings were used. Analysis of amplified cDNA fragment confirmed a novel PR-like protein was induced. When seedlings were treated with active carbamate and thiocarbamate with flowering percentages of 83% and higher, concomitant high level of the novel PR-like protein was detected. Conversely, lower level was observed when flowering percentages of 3% or less were obtained with less active carbamate and thiocarbamate treatments. Progress is underway to isolate the full-length cDNA and to understand its function in relation to flower induction.

3aJ08

ミズワラビ（*Ceratopteris richardii*）の性の分化の造精器誘導物質と光照射による制御について

小板橋律子、渡辺昭、L.H.Hickok [1]、山根久和[2]、山口五十麿[3]、室伏旭[3]（東大院・理学系・生物科学、[2]生物生産センター、[3]東大院・農学系・応生化、[1]Tenessee 大）

同型胞子シダ植物では、胞子の性は決定されておらず、胞子は雌雄同体の前葉体へも、造精器のみを有する雄性配偶体へも分化可能である。配偶体の性を決定する要因といて、発達した前葉体が分泌する造精器誘導物質が、他の配偶体を雄性の配偶体へと分化誘導することが知られている。

ミズワラビ（*Ceratopteris richardii*）の造精器誘導物質は現在精製中であるが、この物質による雄性配偶体への分化誘導が、青色光照射の影響を受けることを見出したので報告する。暗所で生育させた原糸体は、発芽誘導後９日目においても造精器誘導物質に対する感受性を保っていたが、青色光照射(380 - 550 nm, 2.0 μ E m^{-2} s^{-1}, 30 min)によりこの感受性が消失した。赤色光照射(620 - 700 nm, 2.0 μ E m^{-2} s^{-1}, 30 min)ではこのような効果は観察されなかった。このことより、青色光照射は造精器誘導物質に対する原糸体の感受性を消失させることが解った。

3aJ09

ミカヅキモの有性分裂を誘起する情報伝達物質の解析

福本亮平,[1]関本弘之, 藤伊　正（筑波大・生物,[1]理研FRP）

ミカヅキモ*Closterium　ehrenbergii*の有性生殖過程では、＋型、－型両接合型の細胞がペアを形成した後、それぞれの細胞が特異な分裂（有性分裂）を行い、配偶子へと分化する。配偶子はプロトプラストを放出し、融合して接合子を形成する。我々は、+型細胞の有性分裂を誘起する活性を検出したので報告する。

＋型、－型細胞を混合し接合を誘起した後の培地を回収し、その中でそれぞれの細胞を単独で培養したところ、＋型細胞のみが有性分裂を開始し、さらにそのいくつかがプロトプラストを放出した。この活性は、両細胞を混合培養する際の－型細胞の数に比例して上昇し、また分泌は光の存在下でのみ見られた。さらにこの活性は、熱処理（60℃、20分）で著しく低下し、Sephacryl S-100HRを用いたゲルろ過により、みかけの分子量約1万の値を示した。以上より、このミカヅキモの-型細胞はタンパク質性の情報伝達因子を分泌し、＋型細胞に有性分裂を行わせることが示された。

発表者名簿および参加者名簿

発 表 者 名 簿

— A —

Ait-Ali, Tahar 1pJ07
〃 1pJ08
Alia 1pE08
〃 1pE09
〃 2aD09
〃 3aD02
Andersson, Carol 3aA02

— B —

Barnes, Simon A. 1pH17
Bauer, Carl E. 3aC04
Bialek-Bylka, Grazyna 1aB07
Bogorad, Lawrence 1aS05
Bohnert, Hans J. 1aE01
Bonfil, David 1aS04
Boudreau, Eric 1aB06
Bowler, Chris 1pH07
Brown Jr, Malcom R. 2pS01
Buchholz, Gunther 3aD04

— C —

Cao, Yongwei 2pG02
Chaumpluk, Piyasak 3aF05
Chua, Nam-Hai 1pH07
〃 1pH17
Codd, Geoffrey A. 1pC13
Cogdell, Richard J. 2pC01
Collings, David 2pI02
〃 3aI06
Crofts, Antony R. 1pB13
Crozier, Alan 3aG03

— D —

Davies, Eric 1aF07
〃 2pI09
〃 2pI10
〃 2pI11
〃 2pI12
Delmer, Deborah P. 2pS03
Deshnium, Patcharaporn 2aD07
〃 1pE09

— F —

Forde, Brian G. 1pA10

— G —

Gassmann, Walter 2pG02
Ghosh, Robin 2pC03
Gillies, Fiona M. 3aG03
Giraudat, Jerome 2aA05
〃 2aA06
Golden, Susan S. 3aA02
Gombos, Zoltan 2aD07
〃 1aG03
Grossman, Arthur 2pE05

— H —

Haley, Jean 1aS05
Heber, Ulrich 2pB03
〃 2pB10
Hedden, Peter 1pJ09
Hickok, L.H. 3aJ08
Hideg, Eva 2pB04
Hormann, Henning 3aE03
Howlader, M.A. Awal 1aA01

— I —

Iswantini, Dyah 1aE07

— J —

Jang, Jyan-Chyun 1aS06
Johnson, Carl H. 2aS05
Joshee, Nirmal 2pA05

— K —

Kang, Bong Joong 2aS02
Kaplan, Aaron 1aS04
Khatheder, Ingrid 3aC02
Kim, Byung Chul 2aS02
Koes, Ronald 3aH04
Kroth, Peter 3aB07
Kruger, Nicholas J. 1pA10
Ku, Maurice S. B. 2aC01

— L —

Lara, Catalina 2aE04
Laudenbach, David E. 2pG08
Lawson, Tracy 1pC13
Le Van, Hoa 1pI17
Lee, Byung Hyun 1pE07
Lee, Keun-Sik 2aC03
Ley, Eleazar 1aE01
Lieman-Hurwitz, Judy 1aS04
Limantara, Leenawaty 2pC02
〃 2pC11
〃 3aC02
Los, Dmitry A. 2aF02
〃 2pB01
Lugtenburg, Johan 3aC03

— M —

Marquez, Sheila 1aE01
Masci, Mima 3aC02
Masterson, Bob 2aJ05
Michaelzack, Dalius 1pD01
Moon, Bycung Yong 2aD09
Morris, Peter 2aA05
〃 2aA06
Musselman, Lytton J. 2aC10

— N —

Nam, HongGil 2aS02
Nelson, Donald E. 1aE01
Neuhaus, Gunther 1pH07
Nevins, Donald J. 1pI09

— P —

Page, Anthony J. 1pA10
Panpoom, Sayamrat 2aF02
Parvez, Mohammad M. 1pI05
Phillips, Andrew L. 1pJ09
Purcell, Marc 1aS05

— Q —

Quaggio, Ronaldo B. 1pH17

— R —

Reid, James B. 3aJ01
Rochaix, Jean-David 1aB06
Rodermel, Steven R. 1aS05
Rodoriguez, Rocio 2aE04
Ronen-Tarazi, Michal 1aS04
Roy, Sanjit K. 2aD03
Rybka, Krystyna 2pA06

— S —

Samarajeewa, P.K. 2aI02
Saradhi, Pardha P. 3aD02
Scheer, Hugo 3aC02
Scheuerlein, Robert 1pH05
Schreiber, Ulrich 3aE03
Schroeder, Julian, I. 2pG02
Sheen, Jen 1aS06
〃 2aA08
Siripatanadilok, Somkid 1pE11
Soh, Moon Soo 2aS02
Souer, Erik 3aH04
Strotmann, Heinrich 3aB07
Sutherland, Betsy M. 3aD03
Sutherland, John C. 3aD03
Swain, Stephen M. 1pJ07

— T —

Theg, Steven M. 1aB08
Turmel, Monique 1aB06
Tyson, Huw R. 1pA10

— V —

von Numers, Camila 1pJ09

— W —

Walden, Richard 1pJ04
Weigel, Detlef 2pH02
Wellmann, Eckard 3aD04
Weyers Jonathan D.B. 1pC13
Whitelam, Garry 1pH17
William J. Lucas 2pG07

Wunsch, Christian 1pH15
Wydrzynski, Tom 1pB01

— Y —

Yanofsky, Marty F. 2pH03
Yeo, Dennis 3aJ07

— Z —

Zhan, Xiang C. 1pF05

— あ —

相澤 幸子 2aB10
相澤 裕子 2aJ08
〃 2pJ09
愛知真木子 1aC02
〃 2aE03
青木 摂之 2aC02
〃 3aA01
〃 3aA02
〃 3aA03
青木 雅弘 1pG08
青木 幹雄 2pA03
青野 光子 3aE07
〃 3aE08
青柳 滋美 1pA07
青山 卓史 2pA03
〃 2pH10
赤池美紀子 2aF06
赤池 光博 1aB04
赤尾勝一郎 2pA11
赤川 巧 1aF02
赤木 宏守 1pC15
〃 1pF14
明石 哲行 2aB07
明石 智義 1pD06
赤堀 興造 1pB05
〃 2aB03
赤松佳代子 1pA12
東江 栄 1pC04
秋山 康紀 2pA06
秋山 高 1aI04
秋山 正志 1pF11
〃 3aA04
上松 淳一 1pJ05
浅井 一視 1aG06
浅井 友実 1pG01
浅川 修一 3aF11
浅田 浩二 1pA06
〃 1pB14
〃 1pI02
〃 2pB02
〃 2pB03
〃 2pB04
〃 2pB05
〃 3aC05
〃 3aE01
〃 3aE03
浅田 哲弘 1pS01
〃 2pI02
浅田 哲弘 2pI04
浅田美穂子 1aJ07
浅野 哲基 1aJ06
旭 正 2pA01
〃 2pA02
浅水恵理香 3aC10
芦田 裕之 1aF06
芦原 坦 3aG03
東 哲司 1pJ13
東 真由美 1pH06
足立 堯 1aA02
渥美 茂明 2pG11
安積 良隆 1aH01
穴井 豊昭 1pA11
〃 2aJ08
〃 2pJ03
〃 2pJ06
〃 2pJ09
阿部 啓輔 2aA11
阿部俊之助 2pI09
〃 2pI10
〃 2pI11
〃 2pI12
安部 俊彦 1pC13
〃 2aC06
阿部 知子 3aJ07
安部 弘 1aH02
〃 1pJ06
〃 3aJ07
阿部美紀子 1aF04
〃 1pA16
〃 2pA10
〃 3aG04
尼子 克己 1pA06
〃 2aE12
〃 2pG04
〃 2pG06
天野 豊己 3aB07
天野 政史 1pD15
網野 真一 2pI06
綾部 真一 1pD06
荒木 崇 2aF09
〃 2aF10
〃 2pH03
荒田 博行 1pC02
荒見真一郎 3aD13
有村源一郎 1pE13
〃 1pE14
有本 友香 1aE06
安東 郁男 2pA06

— い —

飯郷 雅之 2pJ08
飯坂 崇 3aC04
飯石 美典 1pG03
飯野 盛利 1pH08
〃 2aG04
猪川 倫好 2aE01
五十嵐直樹 2pC06
五十嵐由美子 1pE01
池内 昌彦 1aC04
〃 1pB04
〃 3aC06
池田 和正 3aJ03
〃 3aJ04
池原 規勝 3aD06
池本 尚人 1aS07
井沢 毅 2aH13
石井 忠 1pI11
〃 1pI15
〃 1pI16
石井 洋 2aC06
石井 有理 1aF02
石浦 正寛 2aC02
〃 3aA01
〃 3aA02
〃 3aA03
石川 敦司 2pA01
〃 2pA02
石川 圭吾 2aC07
石川 鑌 1aA09
〃 1pH04
石川 番 1pB02
〃 1pB03
石川 孝博 2pE07
〃 2pE09
〃 3aE04
石川 文雄 2pJ02
石川 雅樹 2pI03
石川 靖夫 1pB07
石黒 澄衛 1pS06
〃 2aF06
〃 2pH04
石沢 公明 2pE11
石田 功 1pD12
石田さらみ 2pJ04
石田 亘広 2aH13
石田 宏幸 2aI01
石原 悟 1pD05
石橋 百枝 2aD08

石丸　健　1pC03
石渡　裕　2pG07
泉井　桂　1aS02
〃　1pC16
〃　2aA08
〃　2pD11
伊勢島エリザ美智子　1pA09
磯貝　彰　2aH01
井田　正二　1pE12
一瀬　成広　2pE11
一瀬　信敏　1aA09
一瀬　勇規　1pD01
〃　1pD02
〃　1pD03
〃　1pD04
〃　1pD15
〃　1pI03
〃　2aA01
〃　2pA08
市原　耿民　1aA03
市村　和也　2aA05
〃　2aA06
市村　年昭　3aB06
伊藤　明子　1aF08
伊藤　一弥　2aI11
伊藤　繁　1aB01
〃　1aB02
〃　1aB03
〃　2aB01
伊藤　祥子　2aE07
伊藤　伸一　1pJ12
伊東　隆夫　2aI11
〃　2aI12
伊藤　寿　2aS04
〃　3aB10
〃　3aB11
伊藤　正樹　2aF01
〃　2aI07
〃　2pI01
〃　2pI08
〃　3aE06
伊藤　正則　2pJ08
伊藤　正幸　1pD02
伊藤　允好　2aB02
伊藤　ユキ　2aA03
伊東　庸子　2pI09
伊藤　嘉信　2pF01
伊藤　竜一　1pG14
稲垣　昇　1pE02
稲田　仁　2pH12
稲場-日向野久美子　2pH01
井上　香織　1pG06
井上　和仁　1aB04
〃　1aB05
〃　2pC04
〃　3aC04
井上　弘　2aA09
〃　3aB08
井上　雅裕　1pI09
〃　1pI10
〃　2aE07
〃　2aE08
井上　正保　1aF08
〃　2aH11
井上　康則　2aJ09
〃　3aB04
井上　頼直　1pB02
〃　1pB03
〃　1pB09
〃　1pB13
〃　2aB04
〃　3aB03
〃　3aB09
〃　3aC06
井口　八郎　3aB05
猪口　雅彦　1aD01
射場　厚　1aD02
〃　1aD03
〃　1pF13
〃　1pF14
〃　1pF15
〃　1pF16
〃　2pH11
〃　2pH12
〃　3aF08
今井　貴敬　2aI05
今井　博之　2aD10
今井　亮三　1pJ08
〃　1pJ14
今泉(安楽)温子　2pA11
今宿　芳郎　2pH10
今西　俊介　3aS05
〃　2aF07
井村　喜之　1pD01
入江　賢児　2aA05
〃　2pI03
入船　浩平　1pE13
〃　3aF02
〃　3aF03
〃　3aF04
岩城　雅代　1aB01
〃　1aB02
〃　1aB03
〃　2aB01
岩崎　郁子　2aB11
岩崎　照雄　1pA12
岩崎　俊介　2pD12
〃　3aD11
岩崎　尚彦　1aG06
〃　1aG08
岩崎　秀雄　3aA02
〃　3aA03
岩崎　行玄　2pA01
〃　2pA02
岩滝　暢子　2pF02
岩淵　雅樹　2aF09
〃　2aF10
〃　2pF08
〃　2pH03
岩松　明彦　1pD12

— う —

呉　国江　1pB10
上岡　華代　1aG04
〃　2aG03
上口(田中)美弥子　2aJ10
〃　2aJ11
〃　2aJ12
上田　健治　1aF08
上田　純一　1pI06
〃　2aJ05
上田　貴子　1aH02
上田　貴志　2aG11
上野　修　1pC04
上野　覚士　1pJ13
植野由美子　3aE04
上藤　洋敬　2aH03
魚住　信之　2pG02
宇佐美隆二　1pS06
宇治家武史　2aB06
臼井　美奈　3aB02
臼田　秀明　2aI08
〃　2pE05
内海　俊樹　1aF04
〃　1pA16
〃　2pA10
〃　3aG04
内田　浩二　2aG06
内田　純也　2pH08
内田　直次　1pJ13
内田　英伸　1aH05
〃　1aH06
〃　1aH07
内宮　博文　1pD07
〃　1pH01
〃　2aG11
〃　2aI02
〃　2pH05
〃　2pH06
〃　2pH07
内山　寛　3aJ03
〃　3aJ04
宇都野　要　2aF07
宇野　雄一　1pE02
梅田　正明　1pH01
梅基　直行　1pD12
浦尾　剛　1pE02

— え —

永口　貢　1pA14
江坂　宗春　2pF06
江崎　文一　2aE09
枝重　有祐　1pI11
榎並　勲　1pB03
〃　2aG06
〃　3aB04
江成　大輔　1pF12
海老沼宏安　3aF07
遠藤　千絵　2aG01
遠藤　剛　2pB05
〃　3aC05
遠藤斗志也　1pG01
〃　1pG02

— お —

呉　基鳳　1aD08
大井　晶夫　1pD13
大西　道人　1pA04
大江田憲治　2aA10
大岡　宏造　1aB01
〃　1aB02
〃　1aB03
大川　和秋　1aG07
大川　秀郎　2pB07
大河　浩　2aC02
大川　裕美　3aI05
大城　香　2aB09

大木　和夫　1aG03
大島　正弘　2pA09
王子　善清　1pA04
大杉　立　1pC03
大隅　良典　2aG08
〃　2aG09
太田　淳子　1pF16
太田　尚孝　2aG06
〃　3aB04
太田　啓之　3aS04
〃　1aA04
〃　1pA03
〃　2aB05
太田垣　聡　2aI06
大瀧　保　1pH16
大谷　憲太　2aE12
大谷-金子律子　2pJ08
大塚　達之　3aB11
大槻　健蔵　2aA12
大坪　憲弘　1pD16
大野　香織　1pI14
大野　千晶　2pB03
大野　泰史　1aC06
大橋　祐子　3aS06
〃　1aD04
〃　2pA09
〃　2pF04
〃　1pD16
大場　哲彦　1aG03
大宮あけみ　2pJ01
大森　史裕　1aA03
大森　正之　1aC04
〃　1pD14
〃　2pA12
大家　理哉　2pG01
大柳　宏之　3aB03
大山加奈恵　2aD11
大山　莞爾　1pC07
〃　2aC03
〃　2pF09
岡　穆宏　2pA03
〃　2pH10
岡　桂子　2pG06
岡　真理子　2aJ05
岡崎　芳次　1aG08
岡田　克彦　1pB11
岡田　清孝　1pS06
〃　1aJ02
〃　2aJ05
〃　2pH02
岡田　清孝　2pH04
岡田　光正　2pJ02
岡田　康志　2pA13
岡南　政宏　2pF08
岡村　明浩　1pE12
岡村　昭治　3aI05
岡村　信幸　2pJ11
岡村　将人　1aC01
岡村　昌道　2pA12
岡本　繁久　1aI05
岡本　知明　2pI11
〃　2pI12
岡本　晴子　1pH11
岡本　雅次　1aD04
〃　2pA09
岡本ゆう子　1pB16
岡山　繁樹　2pH11
小川　健一　1pI02
〃　3aE01
小川　隆平　3aC09
小川　晃男　2aC02
〃　2aC03
〃　2aC04
〃　2aC05
奥田　将生　2aH03
奥野　裕美　1pC08
奥原　宏明　1aC03
〃　2pB08
奥村　暁　2pG03
奥山　剛　1pJ11
〃　3aH12
奥山英登志　1aA09
〃　1pF12
刑部祐里子　1pF17
尾崎　秀司　3aF03
小澤真一郎　1pB08
小関　良宏　1aF07
〃　3aD08
小田　順一　1aA07
小田真由美　3aD09
〃　3aD10
小田　祐一　2aD11
越智　泰彦　3aF03
落合　廣　1aG02
〃　1aG09
小内　清　3aA04
小野　莞爾　3aG01
小野　公代　2aH11
〃　2aH12
小野　清美　2aC11
小野　高明　1pB09
〃　1pB13
〃　3aB03
小野　智幸　2pF06
小野　道之　1aF08
〃　2aH11
〃　2aH12
小野寺英一　1pJ15
小濱由紀子　2pC05
小俣　達男　1aC01
〃　1aC02
〃　2aE02
〃　2aE03
〃　2aE04
〃　2aG07
小山　時隆　1pS06
小山田奈穂子　1pJ15

— か —

甲斐　元士　1pC04
甲斐　泰　1aS01
柿谷　誠　1pD12
柿本　辰男　1aJ03
〃　1aJ04
〃　1aJ08
賀来　華江　1aI04
〃　2aA03
加来　久敏　2pA09
角谷　佐紀　1aB02
角谷　忠昭　1aE07
掛川　弘一　1pI11
笠原　賢洋　1pD14
笠毛　邦弘　1pF01
〃　1pF02
〃　2aG02
菓子野康浩　1pB16
〃　2aC07
〃　2aD01
梶　隆　2aI13
梶原　忠彦　1aA05
片岡　博尚　1pH16
片桐　敏　2pA04
片山　義博　1pF05
〃　1pF17
勝原　弘樹　2aB03
加藤　朗　1pG10
加藤　彰　2aC03
〃　2aC04
加藤　敦之　2pH01
加藤　潔　2aJ01
〃　2aJ02
加藤　栄　2pB12
〃　3aB02
〃　3aB12
加藤　潤　2pJ09
加藤　哲也　2aB12
〃　2aI03
加藤　友彦　3aS04
〃　1aA04
加藤　紳子　3aF10
加藤　博章　1aA07
加藤　浩　1pB04
加藤美砂子　3aG03
加藤　良一　2aJ06
門田　明雄　1pH12
〃　1pH13
〃　1pH14
金井　龍二　1pC01
金澤　健二　2pE03
金森　正雄　1aD07
金山　喜則　2pA13
金勝　一樹　2aA12
鐘ヶ江弘美　3aE02
〃　2aA07
鐘ヶ江　健　1pH10
〃　3aD01
金子　勝芳　2aE05
金子　哲　1pI16
金子　貴一　3aC10
金田　剛史　1aJ08
金地　通生　1pE02
金松　澄雄　1pI02
〃　3aE01
鎌形　泰代　2aD06
鎌田　博　1pH06
〃　1pH09
〃　2aH06
〃　2aH11
〃　2aH12
〃　2pJ12
蒲地　浩之　2aA09
〃　3aB08
神阪盛一郎　1aI01
〃　1aI02
〃　1pI05
〃　1pI06
〃　2aJ03
〃　2pJ05
上中　弘典　1pF10

上中　弘典　2pE08
上舞　哲也　1aI05
上村　保麿　2pB12
〃　3aB12
神谷　明男　2pD06
神谷　勇治　1pH03
〃　1pJ06
〃　1pJ07
〃　1pJ08
〃　1pJ09
〃　1pJ14
亀井正一郎　1aB01
〃　1aB02
〃　1aB03
亀岡　豊史　1pF10
亀谷七七子　1pF09
加茂　政晴　3aB04
賀屋　秀隆　2aF09
苅部　英寿　2aA11
刈屋　國男　2aD12
川合　伸也　1pF05
〃　1pF17
河合　文雄　1aD07
川合　真紀　2aI02
川出　洋　1pH03
〃　1pJ09
川上　茂樹　3aF03
川上　直人　1pF13
〃　1pH02
川北　一人　2pA07
〃　3aI08
川口健太郎　2aD12
河口　清香　1pI13
川口正代司　2pA11
川崎　信二　1pI04
〃　2pA06
〃　3aF11
川瀬　芳恵　2pC06
河田　悦和　1pF06
川田　俊成　1aI07
河津　維　1pG16
河野　重行　1aH06
〃　1aH08
〃　1aH09
〃　1pG16
河野利津子　3aD09
〃　3aD10
川原　良一　3aH01
川出　洋　1pJ08
川向　誠　1aF06
河村　敬夫　1pC16
河村　義史　1pE13
河盛阿佐子　3aB01
神崎　洋之　1pF09

— き —

喜久田嘉郎　3aS02
〃　1aJ06
〃　1pA09
〃　2aI04
菊池　尚志　2aA07
〃　3aE02
菊地　浩人　2aB02
菊池　裕之　2aE03
菊池　美穂　2aD10
菊本　真人　1pH15
菊山　宗弘　1pD10
岸　國平　1aA02
岸田　宏幸　1aC05
雉鼻　晃　3aF01
木須　康智　2pF06
北川　恭浩　2pB09
〃　3aE09
北川　良親　2pA05
北野　高寛　2aE12
北村さやか　2aJ01
〃　2aJ02
九町　健一　2pF09
木下　浩司　2aI04
木下　哲　1pG05
木下　俊則　2pD07
木ノ元宏実　3aD09
〃　3aD10
木場　章範　1pI03
金　昊泰　2pH05
〃　2pH06
金　勤瑾　1aA06
金　晧衍　2pG10
木村　聡　2aI12
邱　日英　3aJ03
〃　3aJ04
清末　知宏　1aE05
清田誠一郎　2aH05

— く —

九鬼　導隆　2pC03
草野　輝男　1pF12
九島　みどり　2pJ10
楠　正美　3aB03
楠見　健介　1pF14
〃　2pH11
〃　2pH12
楠元　範明　1aB04
〃　1aB05
〃　2pC04
朽津　和幸　1pD10
杏名　伸介　3aA02
〃　3aA03
久野　範人　2aS01
久保亜希子　1pA15
久保　明弘　2pE08
久保　稔　1aJ03
久保　深雪　1pS06
〃　2pH04
熊谷　忠　3aD03
熊谷　浩高　1aC07
熊谷　史　2pI05
〃　3aI01
熊澤　修造　2aC06
倉田　哲也　2pH09
倉田理衣奈　2pJ11
倉知　正　1pH15
藏野　憲秀　1pA02
〃　2aB11
〃　2pC10
〃　2pC12
〃　2pE06
倉持　仁志　2pE11
倉盛志生子　3aI05
倉屋　芳樹　2pI06
栗山　昭　1aD07
栗山　英夫　1aH06
〃　1aH07
黒岩　繁樹　2aB03
黒岩　常祥　1aH03
〃　1aH04
〃　1aH06
〃　1aH07
〃　1aH08
〃　1aH09
〃　1pG11
〃　1pG12
〃　1pG13
〃　1pG14
〃　1pG15
〃　1pG16
黒岩　晴子　1aH03
〃　1aH08
黒岩　晴子　1pG11
〃　1pG12
〃　1pG13
〃　1pG14
黒谷　賢一　2pD11
黒田　洋詩　1pB12
黒森　崇　2pF02
桑原　朋彦　1pB06
〃　2aB10

— こ —

小池　説夫　1pF04
〃　2aD12
小池　裕幸　1pB16
〃　2aC07
〃　2aD01
小泉　好司　3aH07
小板橋律子　3aJ08
小岩　尚志　1aA07
小岩　弘之　1pF07
洪　淳寛　3aH02
幸田　泰則　3aS02
〃　2aI04
河内　直美　3aC03
河内　宏　2pI07
〃　3aF06
河野　順帆　1aD08
河本　恭子　1pG04
古賀仁一郎　1aA02
古賀　正明　1pD16
小柴　邦宏　1aH01
小嶋　純江　1aJ07
小島　久恵　3aS05
〃　2aF07
小嶋　洋之　1pF06
小杉　慶子　1pH06
小杉　俊一　2pF04
小杉　祐介　1pJ15
小瀬村誠治　2aJ08
〃　2pJ09
〃　2pJ10
小曽根　睦　2aJ04
小竹　敬久　1aI03
小谷　博一　3aC10
児玉　浩明　1aD02
〃　1aD03
〃　1pF13
〃　1pF14
〃　1pF15

児玉　浩明　3aF08
小橋久美子　1pB12
小林　晃　1pS04
〃　3aH04
小林　京子　1pE10
〃　2pD09
小林　徹　1pB08
小林　俊弘　2pJ12
小林　秀行　1pF01
〃　1pF02
〃　2aG02
小林　仁　1pF07
〃　3aF05
小林　裕和　1aS03
〃　1pE10
〃　2pD09
小林　正樹　2aE04
小林　正智　1pJ05
〃　1pJ10
小林　正美　2aB01
小林　優　1pI13
〃　1pI14
小林真由美　1pJ10
小林末邦子　2pJ02
小林　善親　2pB09
〃　2pB10
〃　3aE09
小松　節子　2aA11
〃　2pD03
〃　3aE02
駒場　繁　1pE14
駒嶺　穆　2pI01
米田　好文　2aH06
〃　2pH01
小森　久代　2pH11
〃　2pH12
古森　美香　2pC03
小山　鐵夫　3aJ03
小山　泰　1aB07
〃　2pC01
〃　2pC02
〃　2pC03
〃　2pC11
〃　2pC12
〃　3aC03
是枝　晋　1pC01
近藤　孝男　2aC02
〃　3aA01
〃　3aA02
〃　3aA03
近藤　矩朗　3aE07
近藤　弘清　1aD01
近藤　真紀　1pG07
〃　1pG08
〃　1pG09
〃　1pG10
近藤　正敏　3aJ06
五島　直樹　1pE13
〃　3aF03
〃　3aF04
後藤　弘爾　2pH10
後藤　聡　1aF02
後藤　伸治　2pJ07
後藤　洋子　2pA09
五味　雅裕　1pJ05

—さ—

西條　雄介　2aA08
斉藤　昭彦　3aJ01
斉藤　武　1aF06
斉藤　玉緒　1aG02
斎藤　臣雄　1pJ06
齋藤　力　1pH06
〃　1pH09
〃　2aH06
斉藤美佳子　1pD11
〃　1pD13
佐伯　和彦　1aC07
〃　1aC08
〃　1aF03
佐伯　真理　1pE10
酒井　敦　1pG15
坂井　康祐　3aE04
酒井　慎吾　1pJ16
酒井富久美　1aI07
〃　1pI12
榊　剛　2aJ04
佐々木成江　1pG15
榊原　均　1pE15
榊原　祥清　1pF01
〃　1pF02
坂野　勝啓　1pE11
〃　2aH05
〃　2pE10
高橋　武美　1pD06
坂本　敦　1pE09
〃　2pE08
坂本　綾子　1pS04
〃　3aH04
坂本　和俊　3aH05
阪本　康司　1pH11
坂本　俊　2pC02
坂本　敏夫　1pD14
坂本　秀樹　2aF10
坂本　正弘　1pC15
崎浜　靖子　3aD06
作野　友康　1aI07
佐久間卓也　3aD07
桜井　成　1aH02
〃　1pJ05
〃　1pJ10
〃　1pJ14
〃　3aJ07
櫻井　直樹　2pS04
〃　1aI03
〃　1aI08
〃　1pI17
〃　3aJ02
櫻井　望　2aE06
桜井　英博　1aB04
〃　1aB05
〃　1aC05
〃　2pC04
桜木由美子　2pC06
佐々木孝行　2pE06
佐々木成江　1pG13
佐々木典子　2pA06
佐々木昌生　2aE10
〃　2aE11
佐島　徳武　2pC12
佐治　光　3aE07
〃　3aE08
定金　豊　2pA04
佐塚　隆志　3aC10
佐藤　朗　1pC09
佐藤　和彦　1pB16
〃　2aC07
〃　2aD01
佐藤　嘉兵　3aJ03
〃　3aJ04
佐藤　公行　1aS03
〃　1pB12
〃　2aB01
佐藤　茂　1pJ15
〃　2pG03
〃　2pI01
佐藤　修正　3aC10
佐藤　淳子　2aF12
佐藤　豪　2aH07
佐藤　哲也　1pC14
佐藤　篤行　3aE06
佐藤　敏生　2aB06
〃　2pD10
〃　2pF05
〃　3aC01
佐藤　直樹　1pG11
〃　2pF10
〃　2pF11
〃　2pF12
佐藤　光　1pA15
〃　2pH11
佐藤　文彦　1aA07
〃　2pF07
佐藤　雅彦　2aG09
佐藤　康　3aH10
佐藤　豊　1pS05
〃　3aH02
佐藤　良平　1pC11
里澤　智美　1pC15
真田　幸香　1pE01
佐野　智　3aE03
佐野　浩　3aS06
〃　1aD04
猿山　晴夫　2aD05
〃　2aD06
澤　進一郎　2pH02
澤　嘉弘　1aA06
〃　1pA01
澤崎　達也　3aF04
澤田　美智子　1aA09
沢野　定憲　2pA09
山藤　誠司　2pJ07
三宮　一宰　3aD11

—し—

椎名　隆　1pB08
〃　2aF11
〃　2aF12
塩井　祐三　3aS04
〃　1aA04
〃　1pA03
〃　2aB05
塩入　孝之　2pE02
〃　2pE03
塩川　貴広　1pF05
塩崎　紀子　3aD05
四方　幸治　2aC10
鹿内　利治　2pH08

重岡　成 2pE07
〃 2pE09
〃 3aE04
重田　千晶 3aJ06
重友　恵子 1aA01
七條千津子 3aD09
〃 3aD10
篠崎　一雄 1aE05
〃 1pE01
〃 1pE02
〃 2aA05
〃 2aA06
〃 2aI07
〃 3aF08
〃 3aF10
篠崎　和子 1aE05
〃 1pE01
〃 1pE02
篠崎　忠治 1aB05
篠崎　真輝 3aJ05
篠原　健司 2aD02
柴岡　弘郎 1aJ08
〃 2pI02
〃 3aI02
〃 3aI06
柴坂三根夫 2pG01
柴田　幸一 2pI11
〃 2pI12
柴田　大輔 3aS04
〃 1aA04
〃 2pG03
〃 3aF09
柴田　均 1aA06
〃 1pA01
柴田　勝 2pB09
〃 3aE09
渋谷　直人 1aI04
〃 1pD09
〃 1pD10
〃 2aA03
〃 2aA04
〃 2aD12
島崎研一郎 2pD07
島津　恒夫 3aB02
嶋田　敬三 2aB08
〃 2pC06
〃 2pC07
〃 2pC08
〃 2pC09
〃 2pC11
嶋田　崇史 2pD05
嶋田　知生 1pG04
島田　浩章 2aF03
島田　裕士 2aB05
嶋田　幸久 3aE05
島宗　知行 1pA15
島本　功 2aH13
清水　克哉 3aF03
志水　佐江 2aJ12
清水　信義 3aF11
清水　源 3aD09
〃 3aD10
清水　良訓 1aI07
志村　令郎 2pH02
下河原浩介 2aI08
〃 2pE05
庄子　和夫 1aC06
庄田　恵子 2pH06
庄野　邦彦 1aA02
〃 1pJ03
〃 2pA11
庄野真理子 2aG05
白石　友紀 1pD01
〃 1pD02
〃 1pD03
〃 1pD04
〃 1pD15
〃 1pI03
〃 2aA01
〃 2pA08
白岩　善博 1pC09
白川　仁 2aG06
白野由美子 2pG03
〃 3aF09
白浜　佳苗 2aG08
沈　建仁 3aB09
進士　秀明 1pD07
〃 1pD08
〃 2pF01
新名　惇彦 2pI07
新村　良太 3aC09
新免　輝男 1aG05
〃 1pE11
徐　正君 1aF08
〃 1aJ06
城尾　昌範 1pI10
〃 2aE07
城野　健一 2pI07

—す—

末吉　邦 1pA04
菅井　真人 1aE07
菅沼　教生 2pA13
菅原　康剛 2aI09
菅原　由行 2pD09
杉浦　昌弘 1pG01
〃 3aC10
杉浦　美羽 2pB07
〃 2pG05
杉田　耕一 3aF07
杉村　康知 2pB11
杉本　敏男 1pA04
杉本　恵 2aA01
杉山　達夫 1pC03
〃 1pE15
〃 2aC01
〃 2aC12
杉山　宗隆 1pA07
〃 3aH05
〃 3aH07
杉山　立志 1pB08
須合　悦子 1pI10
鈴木　朗範 2pD09
鈴木　章弘 2aF08
鈴木　石根 1aC02
〃 2aE02
〃 2aE03
鈴木　英治 2pG08
鈴木　馨 1pD07
〃 1pD08
鈴木　健策 1pC10
鈴木　玄樹 3aS04
〃 1aA04
鈴木宏一郎 2pE04
鈴木　剛 2aH01
鈴木　章方 3aD07
鈴木　隆 2aJ07
鈴木　崇紀 2pD10
鈴木　孝尚 2pB12
鈴木　卓朗 2pJ08
鈴木　徹 2pE08
鈴木　俊洋 3aI04
鈴木　秀穂 1aH01
鈴木　理 2pF06
鈴木　玲奈 1aH05
〃 1aH06
〃 1aH07
角園　敏郎 2aA02

—せ—

瀬尾　茂美 3aS06
〃 1aD04
〃 1pD16
關　光 1pD03
関　原明 3aF10
関島　聖子 3aB08
関根　政実 2pI07
関本　弘之 1pJ09
〃 3aJ09
關谷　次郎 1pI13
〃 1pI14
瀬戸　秀春 1aD04
瀬戸山愛子 1pA16
千徳　直樹 1pC03

—そ—

曽根原和彦 3aI05
園池　公毅 2aD08
園田　雅俊 2aC02
〃 2aC04
園部　誠司 1aI06
征矢野　敬 1aD01

—た—

平　知明 1pA13
高市　真一 1aG01
〃 1pB06
〃 2pC03
〃 2pC06
高岩　文雄 2aF08
高木　慎吾 2pD08
〃 3aI07
高木　英典 3aC08
高木　優 2pF01
高崎　美紀 1pI13
高師　知紀 1aH01
高須　綾子 1pF03
高瀬　尚文 2aH02
〃 2aH03
高辻　博志 1pS04
〃 1pC04
〃 3aH04
高綱抄智子 2aJ06
高梨　寿 2pB02
高根　健一 3aF06
高野　博嘉 1aH06

高野　博嘉　1aH07
〃　1pG12
〃　1pG13
高野　誠　2aA07
高橋　一典　1pA15
高橋　淳　3aS02
高橋　宏二　1aE04
高橋　清子　1aF08
高橋正太郎　3aB04
高橋　哲郎　2aS03
高橋　信孝　1pJ14
高橋　秀典　1pG12
〃　1pG14
高橋　秀仁　2pJ08
高橋　宏之　2aJ07
高橋　正昭　2aE12
〃　2pG04
〃　2pG05
〃　2pG06
高橋　美佐　1pE12
〃　1pE14
〃　3aF01
〃　3aF04
高橋美智子　2pE03
高橋　康弘　2aB07
高橋裕一郎　1aB06
高橋　陽介　2pI06
〃　2pJ04
〃　1aJ05
高浜　有明夫　1pI01
高部　圭司　2aI10
高倍　鉄子　1pE03
〃　1pE04
〃　1pE05
〃　1pE06
高倍　昭洋　1pE05
〃　1pE07
〃　2aC05
高見　雄二　1pJ01
高宮建一郎　3aS04
〃　1aA04
〃　1pA03
〃　2aB05
滝尾　進　2pD10
滝沢　隆一　2pE01
宅見　薫雄　1pF08
田口真由美　3aC09
武井兼太郎　1pE15
武居　郁　3aI02
武市　哲郎　1pI04
竹内　雅宜　2aG12
竹内　安智　3aJ01
竹内　裕一　2aJ04
武田　幸作　1pD05
〃　3aD07
竹田　淳子　1aF07
〃　3aD08
竹田　匠　2aI11
武田　徹　2pE07
〃　3aE04
〃　2pE09
竹中　重雄　1aE06
〃　1pC08
竹葉　剛　1aH04
〃　1aJ01
〃　1aJ02
竹本　大吾　3aI08
田坂　昌生　3aH11
田坂　恭嗣　1aG03
田崎　清　2aA02
田沢　仁　1aG06
田代　英夫　1pH15
田島　茂行　3aF06
多田　幹郎　3aD12
〃　3aD13
多田隈　圭　1aF06
橘　達彦　1pS06
立元　秀樹　2pH08
田中亜矢子　3aC10
田中　歩　2aS04
〃　1aA08
〃　3aB05
〃　3aB10
〃　3aB11
田中　修　2aH10
田中　香里　1aJ06
田中　浄　2pE08
〃　3aE07
〃　3aE08
田中　國介　1pF10
〃　2pE08
〃　3aE08
田中　俊憲　3aF02
〃　3aF04
田中　直樹　2aD03
〃　2aD04
田中　紀史　2pD01
〃　2pD02
〃　2pD04
田中　良和　3aF11
田中　義人　2aC05
田中　喜之　1pF04
田中　亮一　3aB05
〃　3aB10
田辺　史生　2aF08
谷　亜矢　1aE06
谷　直之　1aJ07
谷口久美子　2pA08
谷口　光隆　1pC03
〃　2aC01
〃　2aC12
谷本　英一　1pI08
谷本　靜史　3aJ06
田畑　哲之　3aC10
田林　紀子　2aD06
田渕　彰　1aI01
田淵　豊　1aA05
玉井　宏紀　2pF08
玉置　雅紀　1pS05
〃　3aH03
田村　良行　1aE06
田茂井政宏　2pE09
樽井　裕　2aG04

—ち—

崔　賢美　3aH10
崔　用華　1pJ05
茅野　充男　1pJ04
〃　2aI05
〃　2pG07
〃　2pG09
〃　2pG10
〃　3aF09
張　浩明　1pB01
陳　小傑　3aD07
陳　暖　1pJ16
陳　磊　1aI02

—つ—

塚谷　裕一　2aG11
〃　2pH05
〃　2pH06
〃　2pH07
栂根　一夫　1pE10
〃　2pD09
柘植　知彦　2pH07
辻　英夫　1aJ01
〃　3aB05
辻　博之　2aF09
辻口　佳子　1aF03
土田　隆康　1pI12
土原　和子　2pH08
土屋　亨　2aF05
筒井　泉雄　1aG07
都筑　幹夫　2pE05
角山　雄一　2aF11
津村　淳　1aF05
津山　孝人　2pB09
〃　3aE09
鶴見　誠二　2pJ05

—て—

手島　圭三　1pB05
〃　2aB03
手塚　修文　3aD05
寺内　一姫　1aC04
寺尾　富夫　3aB12
寺島　一郎　1pC05
〃　1pD17
〃　2pD13
寺本　進　3aG02
寺本　陽彦　1aJ01
〃　1aJ02
出村　拓　3aH06
〃　3aH08
〃　3aH09

—と—

薫　夏静　2pD08
東江　昭夫　2aH04
遠山　知子　1aJ01
〃　1aJ02
遠山　鴻　1pI10
〃　2aE07
土岐　精一　1pC03
得字　圭彦　2aH09
徳富　哲　2pD05
徳富(宮尾)光恵　1pB11
〃　2pD12
徳楽　清孝　1pA11
戸栗　敏博　1pD05
戸田　恭子　1pG12
〃　1pG14
外内　尚人　1pI12
富岡　厚　2pC04
富澤　健一　1pH06

富澤　健一　1pH11
冨田英津子　1aI05
富田-横谷香織　2pJ06
〃　2pJ09
冨永　るみ　3aJ02
鞆　達也　2aB01
豊島　近　1pB02
豊島　喜則　1pB08
〃　2aF11
〃　2aF12
豊田　和弘　1pD15
〃　1pI03
〃　2aA01
豊増　知伸　1pJ14
〃　1pJ09
鳥山可菜子　1pG09
〃　2pA13
鳥山　欽哉　2aF05
〃　2aH01
道家建二郎　2aA12
道家　紀志　2pA07
〃　3aI08

— な —

内藤　敬子　3aI05
内藤　哲　1pH03
〃　2aI05
〃　2aI06
〃　2pG09
〃　2pG10
中井　朋則　1pI12
中井　正人　1pG01
〃　1pG02
中馬　誠　3aD12
中尾まゆみ　3aG01
中川　寅　2aE01
中川　強　1aF06
中川　直樹　1aI03
〃　1aI08
中川　弘毅　2pI01
中北真紀子　1pA15
中里　勝芳　1pB02
〃　1pB03
中里　直　1pH13
中澤　美紀　1pH06
中島　一雄　1aE05
中島　仁　2aI10
中島　秀明　1pF11
〃　2pA04
中島　秀明　3aA04
中島麻里奈　2pI04
中島　芳浩　1pB09
中谷　悦子　1pB01
中津　亨　1aA07
中西　啓仁　2pE01
〃　2pE04
中西　洋一　1pF03
中野　明彦　2aG11
〃　2aG12
中野　雄司　2pF07
中野　年継　2aH13
仲野　廣美　1pC06
〃　1pC14
中野　長久　1aE06
〃　1pC08
中原　昌明　3aC04
中林　一美　2aI07
中平　洋一　2aF11
中村　郁郎　1pF09
中村　研三　3aS05
〃　1pG03
〃　2aF06
〃　2aF07
中村　信吾　2pA06
〃　3aF11
中村　崇裕　2aA12
中村　輝子　1pJ10
〃　1pJ11
中村　敏英　1pE03
〃　1pE04
中村　拓　1pI04
中村　真樹　2pB11
中村　保典　1pA15
中村　有希　2pC04
中村　友紀　3aG02
中村　良子　2aE01
中村　善行　1pF01
〃　2aG02
仲本　準　2aD03
〃　2aD04
中屋敷　徹　3aB05
中山　和久　2aE01
中山　克己　2pJ02
中山　貴照　3aI03
中山　卓哉　2aF09
永井　徹　3aC04
永井　玲子　2pD08
〃　3aI07
長江　裕芳　2pC02
長岡　伸一　2aB02
永島　賢治　2aB08
〃　2pC06
〃　2pC09
永田　俊文　3aE02
長田　敏行　1pS03
〃　1aJ05
〃　2pI05
〃　2pI06
〃　2pJ04
〃　3aI01
永田　美世　3aH09
長谷あきら　1pH11
長戸　康郎　3aH02
永山　烈　1aA01
名取　俊二　2pA09
名取　俊樹　3aE08
成原　ゆみ　2aJ06
鳴坂　義弘　1aS03
南原　英司　1pH03
〃　2aI06

— に —

新山　孝弘　1aG01
仁木　輝緒　2aI13
西内　巧　1aD02
〃　1aD03
西岡　孝明　1aA07
西岡　美晴　1aA05
西川　暁　2aF03
西川　圭祐　2aC08
西口　満　2aA02
西澤　直子　2pE03
〃　2pE04
〃　1pH17
西沢　洋子　1pD11
西谷　和彦　1pS02
〃　1aI05
西田　生郎　2aD10
西野　徹　1pC12
西浜　竜一　2pI03
〃　2pI04
西原　昌宏　3aF05
西村いくこ　1pG05
〃　1pG06
〃　1pG07
〃　1pG09
西村　浩二　2aB05
西村　重喜　2pG11
西村　幹夫　1pG04
〃　1pG05
〃　1pG06
〃　1pG07
〃　1pG08
〃　1pG09
〃　1pG10
〃　2aF04
西村　光雄　1aD02
〃　1aD03
〃　1pF13
〃　1pF15
〃　2pH12
西山　佳孝　1aG03
〃　2aD07
〃　2pB01
丹羽　康夫　1pE10
〃　2pD09

— ね —

根本　泰行　1aD08
〃　1pD11
〃　1pD13
根本-鷲谷節子　1pE11

— の —

野口享太郎　2aI05
野口　航　2pD13
野口　貴文　2pD02
〃　2pD04
野口　巧　2aB04
〃　3aB03
野坂　修一　1aG07
野澤　彰　2aF01
野末　一成　1pH10
野田　和彦　1pH02
野田　健司　2aG08
野原　哲矢　1pG01
〃　1pG02
野村　正太　1pD11
野村　崇人　3aJ01
野村　美加　1pE05
〃　1pE06
乗田　英子　1pF09
則武　智哉　2pA07

—は—

箱山　晋　2aD12
〃　2aG01
橋爪　亜紀　1pH09
橋本　晶子　1aB08
橋本　隆　2pH08
橋本　徹　3aD04
〃　3aD09
〃　3aD10
橋本　信弘　1pB05
橋本　尚子　2aH13
橋本　博支　1pJ02
蓮沼　仰嗣　2pD01
〃　2pD02
〃　2pD03
〃　2pD04
長谷　昭　1aG04
〃　2aG03
長谷　俊治　1aA05
〃　1aC03
〃　2pB08
〃　3aC07
〃　3aC08
長谷　隆司　2aH10
長谷川宏司　1pA11
〃　2pJ03
〃　2pJ06
〃　2pJ07
〃　2aJ08
〃　2pJ09
〃　2pJ10
長谷川実加　2pF12
馳澤盛一郎　1pJ04
〃　2pI05
〃　3aI01
畑　信吾　1pC16
〃　2aA08
〃　2pD11
幡野　恭子　1pG07
波多野昌二　2aD11
奏　恵　3aD04
〃　3aD12
〃　3aD13
蜂谷　晶子　1aD05
〃　1aD06
服部　明彦　1aB04
〃　1aB05
服部　淳彦　2pJ08
服部　郁子　3aD05
服部　束穂　1aJ07
花岡　文雄　2pI08
花田　智　2pC06
浜崎　和恵　1pC08
濱田　達朗　1aD02
〃　1aD03
〃　1pF15
浜田　徹　2aA11
〃　2pD01
〃　2pD03
早川　俊彦　1aF01
〃　1aF02
〃　2aE06
林　隆久　1aI06
〃　1aI07
〃　1pI12
林　孝洋　2aB12
〃　2aI03
林　秀則　1pE08
〃　1pE09
〃　2pB01
林　浩昭　1pJ04
〃　2pG07
〃　2pG10
〃　3aF09
林　誠　1aH03
〃　1pG08
〃　1pG09
〃　1pG10
〃　2aF04
林田　信明　3aF08
〃　3aF10
原　正幸　2pJ08
原　由里子　2aI11
原口　博行　2pJ11
原田　久也　1pA15
原田　宏　1pH09
馬場　恭子　2aF12
馬場　啓一　2aI11
坂　佳三　2pC01
坂野　弘美　2pI03
〃　2pI04

—ひ—

東　克己　2pJ12
東　四郎　1aF04
〃　1pA16
〃　2pA10
〃　3aG04
東山　哲也　1aH08
〃　1pG13
樋口　隆司　1aF01
樋口　達治　1aE02
彦坂　幸毅　1pC05
肥後　健一　1pA05
肥後ひろみ　1pA05
久島　繁　1pA11
久田　博元　1aE02
久堀　徹　3aB07
日出間　純　3aD03
日向　康吉　2aF05
〃　2aH01
日比野　隆　1pE05
〃　1pE07
〃　2aC05
〃　2aI11
姫野　道夫　1pC11
〃　1pC12
〃　2aC08
桧山　哲夫　1aB07
〃　2aD03
〃　2aD04
日吉　徹　1pA10
平井(横田)優美　2pG09
〃　2pG10
平井　則子　1aI06
平石　明　2aB08
平岩　呂子　1pG06
平澤　栄次　1aA01
平塚　和之　1pH07
〃　2aH02
〃　2aH03
平塚　理恵　2aH02
〃　2aH03
平野　篤　3aC06
平野　敬子　2pI04
平野　博之　1pA14
平野　昌彦　3aB02
〃　3aB04
平橋　智裕　2aC08
平本　忠浩　2pA08
広川　隆將　2pD01
広沢　誠　3aC10
広瀬　進　2pF03
廣瀬美佐江　1pF06
広田　雅光　2pC08
日渡　祐二　3aH01

—ふ—

胡　英　2pC03
深城　英弘　3aH11
福川　英司　2aI09
福崎　信夫　3aC09
福澤　秀哉　1pC07
〃　2aC03
〃　2pF09
福田　篤徳　1pF04
福田　俊介　1pH10
福田　裕穂　1pA07
〃　2aH09
〃　3aH01
〃　3aH05
〃　3aH06
〃　3aH07
〃　3aH08
〃　3aH09
〃　3aH10
福本　亮平　3aJ09
藤井　修平　1aE08
藤伊　正　3aJ09
藤井真紀子　1pE14
藤家　香苗　2aE08
藤岡　昭三　1aH02
藤垣　順三　2pE04
藤木　友紀　3aE06
藤澤　久雄　3aH11
藤田　哲也　2aI03
藤田　泰輔　3aB08
藤田　直子　1pA13
藤田　浩徳　1pJ03
藤田　稔　2aI10
藤田　祐一　1aC03
〃　2aB07
〃　2pB08
〃　3aC07
〃　3aC08
藤波　周　3aJ05
藤野　介延　1aJ06
〃　1pA09
藤原　伸介　2pA12
藤巻　秀　1pJ04
藤村　達人　1pC15
〃　1pF14
藤原研二郎　2aH04
藤原　徹　2aI05
〃　2pG07
〃　2pG09

藤原　徹　2pG10
〃　3aF09
布施　拓市　3aF08
二村　典宏　2aD02
船附　秀行　2aA07
舟本　聡　1aG09
舟山　幸子　1pD17
船山　学　2aA12
降旗　敬　1aC05
古川　健一　2pC05
古川　浩二　1pJ14
古川　聡子　1aA02
古瀬　勝美　3aI08
古橋　勝久　2aC10
古本　強　2aA08
古谷ちひろ　1aJ06
古谷　雅樹　2aS01
〃　2aS02

— へ —

賀　道耀　2aA04
平敷　りか　3aD06
別府　敏夫　2aD10

— ほ —

星　伸枝　3aF05
星名　哲　3aB08
星野　芳子　1aC06
保尊　隆享　1aI01
〃　1aI02
〃　1pI05
〃　1pI06
〃　2aJ03
堀田　康雄　2aH02
〃　2aH03
堀　智子　2pJ02
堀口　吾朗　1pF13
本城　賢一　2aD11
本庄さおり　2aB09

— ま —

馬　建鋒　2aE11
前　忠彦　1pC06
〃　1pC14
〃　2aI01
前尾健一郎　2aF06
前川　進　1pE02
前島　正義　1aE02
〃　1pF03
〃　1pF04
〃　2aG01
前田　静思　1pF15
前田　真一　1aC01
〃　2aG07
前田　浩　3aG01
牧　泰史　1aA08
牧迫　剛志　3aG04
牧野　周　1pC06
〃　1pC14
〃　2aI01
牧野　直純　1aC06
正元　和盛　2pC05
増田　税　2aJ04
増田　清　1aF08
増田　隆男　1pC16
増田　建　3aS04
〃　1aA04
〃　1pA03
〃　2aB05
〃　3aB05
増田　哲也　2aB10
増田　宏志　2aH07
〃　2aH08
増田　芳雄　1pI06
〃　1pI07
増田　亮一　2aE05
増村　威宏　1pF10
〃　2pE08
町田　泰則　2aA10
〃　2pH02
〃　2pI03
〃　2pI04
松井　啓祐　2pI02
〃　2pI04
松井　健二　1aA05
松浦　克美　2aB08
〃　2pC06
〃　2pC07
〃　2pC08
〃　2pC09
〃　2pC11
松尾　広信　2pA08
松尾　道憲　3aC05
松尾　雄志　2aG06
松岡　健　1pG03
松岡　英明　1aD08
〃　1pD11
松岡　英明　1pD13
松岡　信　1pS05
〃　1pJ12
〃　2aC01
〃　3aD11
〃　3aH02
〃　3aH03
松岡　正佳　3aC09
松崎　雅広　3aC01
松田　智明　1pA15
松田　英幸　1aF06
松永　悦子　3aF07
松永　幸大　1aH09
〃　1pG13
松永　俊朗　1pI15
〃　1pI16
〃　2aI05
松葉　修一　1aI04
松原　央　1aB01
〃　1aB02
〃　1aB03
松古　浩樹　2pA09
松村　健　2aD05
〃　2aD06
松村　智裕　1aC03
〃　2pB08
松本　邦弘　2aA05
〃　2pI03
松本　英明　1aD05
〃　1aD06
〃　2aE09
〃　2aE10
〃　2aE11
間藤　徹　1pI13
〃　1pI14
円　由香　2aJ10
〃　2aJ11
真鍋　勝司　1pH06
真鍋　弓月　1pH01
真野　昌二　2aF04
真野　純一　1pB14
〃　2pB02
〃　2pB03
〃　2pB04
真野　弘範　1pJ04
真柳　浩太　1pB02
〃　1pB03
圓山恭之進　2pF10
丸山　忍　2pC07

— み —

三浦　太郎　3aB04
右高　宙　2pJ08
三角　修己　1pG11
水澤　直樹　2pB06
水谷　明子　2pH11
〃　2pH12
水野　暁子　2aJ01
〃　2aJ02
水野　孝一　2pS02
〃　3aI03
〃　3aI04
〃　3aI07
溝口　正　2pC01
〃　2pC03
〃　2pC11
溝口　剛　2aA05
〃　2aA06
溝口　寛　2aB05
三谷　祐子　1pI06
道井　貴子　2aB07
光川　典宏　2pG03
三橋　敏　1pA02
光原　一朗　2pA09
皆川　純　1pB13
南　淳　3aH06
南　栄一　2aA04
皆見　政好　2aH02
三野　広幸　3aB01
三村　徹郎　1pE11
三村　真理　1pE11
三室　守　2aB01
〃　2aB02
〃　2pC07
〃　2pC08
宮入　祥夫　2aC09
宮尾(徳富)光恵　2pB06
〃　3aD11
三宅　親弘　2pB03
〃　3aE03
三宅　千寿　1pI03
三宅　仁　2pF05
宮嵜　厚　1pH16
宮下　英明　2pC10
宮嶋　伸行　3aC10
宮田　百　2pJ03
宮武　和孝　1aE06
〃　1pC08
宮地　重遠　1aS07

宮地　重遠　1pA02
〃　2aB11
〃　2pC10
〃　2pC12
〃　2pE06
宮本　健助　3aS01
〃　1pI06
〃　2aJ05
宮本　旬子　1aF04
宮脇　巳幸　2pI01
三好　一丸　3aE02

— む —

武藤　尚志　1aE03
〃　1aE04
武藤智恵子　2aG09
村井　耕二　1pF08
村井　里佳　1pF08
村上　真也　2pF07
村上　高　2pA09
村上　泰弘　1pD04
村田　隆　1pH14
村田　紀夫　1aG03
〃　1pE08
〃　1pE09
〃　2aD07
〃　2aD09
〃　2aD10
〃　2aF02
〃　2pB01
村田　祐二　2pG04
村田　芳行　1aE07
〃　3aD12
村中　俊哉　2aA10
〃　2pB07
村松　高道　2aS01
村本　伸彦　3aS05
〃　2aF07
村元　靖典　1pE03
〃　1pE04
室伏　旭　1pJ06
〃　3aJ08

— め —

飯　哲夫　2aF09
〃　2aF10
〃　2pF08

— も —

毛利　宏　1pA01
持丸　真里　1aC05
元木　章裕　3aB02
元木　章裕　3aB04
盛　有子　1pF05
森　泉　1aE03
森　敏　2pE01
〃　2pE02
〃　2pE03
〃　2pE04
森　仁志　1aI01
〃　1pI12
〃　2aJ10
〃　2aJ11
〃　2aJ12
森　宏樹　1pB01
森　昌樹　3aE02
森井　環　2aA09
森上　敦　2aF06
森川　暁子　1pD01
森川　弘道　1pE12
〃　1pE13
〃　1pE14
〃　3aF01
〃　3aF02
〃　3aF03
〃　3aF04
森田　重人　1pF10
〃　2pE08
森永　由紀　1pC02
諸星　紀幸　1pF05
〃　1pF17

— や —

八木　晟　2pJ11
矢崎　芳明　2aH05
〃　2pE10
矢沢　進　2aB12
〃　2aI03
屋代久美子　1pD14
安田　武司　1pJ13
保田　浩　2aH07
〃　2aH08
安田ゐう子　2aB12
〃　2aI03
安森　美帆　2aI05
山口　雅利　2aI02
八ツ橋寛子　1pH05
柳　瑞帆　1aJ05
矢野　明　1pD07
〃　1pD08
矢野　伸一　1pF06
藪崎　義康　2pB07
山内　忠彦　3aB01
山内　靖雄　1pA04
山内　喜朗　3aH11
山岡　直人　1pD12
山門　幹子　3aF07
山形　裕士　1pA12
〃　1pH07
山岸　真澄　1pF08
山口五十麿　3aJ08
山口信次郎　1pJ06
〃　1pJ14
山口　淳二　1pJ12
山口　武志　1pD09
山口　博隆　2pE02
〃　3aB03
山口　峰生　2aG02
山口　陽子　3aC01
山崎　武信　2pB12
山崎　照之　1pA12
山崎　秀雄　3aD06
山崎　健一　2pF01
〃　2pF02
〃　2pF03
山崎　淳也　2pB12
〃　3aB12
山崎　俊正　2pD03
山崎　裕　1pH16
山崎　良子　2pI03
〃　2pI04
山下　聡　1pD16
山下　卓　1pC01
山下　魏　1pB15
〃　2pB06
山下　広哲　2pA10
山下　寛　1aA06
〃　1pA01
山下　博史　1aH04
山田　恭司　2aC10
〃　2aF03
山田小須弥　2pJ06
山田　茂裕　1aE01
山田　隆文　1pA03
山田　哲治　1pD01
〃　1pD02
山田　哲治　1pD03
〃　1pD04
〃　1pD15
〃　1pI03
〃　2aA01
〃　2pA08
〃　3aF11
山田　晃弘　2aJ05
山田　康之　1aA07
〃　2pF07
〃　2pH08
山田　有子　1pJ15
山中　健生　1aC06
山根　久和　3aS03
〃　1pJ06
〃　3aJ08
山根　由裕　2aD01
山野由美子　2aB02
山村　三郎　1pF07
〃　3aF05
山村　庄亮　2aJ08
〃　2pJ09
〃　2pJ10
山村　英夫　1aE07
山本(豊田)章子　1aJ07
山本　勇　2aB06
〃　2pF05
山本興太朗　1pJ01
〃　1pJ02
〃　2pH09
山本　直樹　1pB11
〃　2pD12
〃　3aD11
山本　浩之　1pJ11
〃　3aH12
山本　正幸　2pF02
山本　泰　1aB08
〃　1pB01
〃　1pB07
山本　洋一　2pJ11
山本　洋子　1aD05
〃　1aD06
〃　2aE10
山本　良一　1pI07
〃　1pI08
山谷　知行　1aF01
〃　1aF02
〃　2aE06
梁　泳烈　1pJ08
〃　1pJ14

—ゆ—

湯本　健司　1aB07
尹　在吉　2aB12
〃　2aI03

—よ—

楊　和平　2aH06
養王田正文　3aF10
横井　修司　2aF05
横井　秀行　1pF10
横井　雅幸　2pI08
横田　明穂　1aS01
〃　1pE06
横田　孝雄　3aJ01
横山　和美　2pJ11
吉岡　俊人　1pJ15
吉川　正明　1pD12
吉川　陽子　2pI01
吉崎　克明　2pA05
吉崎　文則　2pB11
吉沢　恭子　1pJ10
吉玉国二郎　3aG02
吉田　泉　1aA01
吉田　和市　2aS04
〃　3aB05
〃　3aB10
〃　3aD08
〃　1pA08
〃　2aA02
吉田　茂男　1pB09
〃　2pF07
〃　3aJ07
吉田　真　2pC09
吉田　賢右　3aB07
吉田　正人　1pJ11
〃　3aH12
吉田　充輝　2aG06
吉原　照彦　1aA03
吉羽　洋周　1pE01
吉村　和也　2pE07
吉村　英尚　1pD11
依田　尚文　1pC07
米倉　功治　1pB02
米田　章登　2aF11
米田　和夫　3aJ03
〃　3aJ04
米山　忠克　2pA12

—ら—

羅　烈紅　1pB15

—り—

李　根植　1pC07
柳　政和　3aI07
劉　玉軍　1pH08

—わ—

若尾　紀夫　2aB08
若杉　達也　2aC10
〃　2aF03
若林　和幸　1pI05
〃　1pI06
〃　2aJ03
鷲尾　健司　1pH04
〃　1pJ01
渡辺　昭　1pB10
〃　2aC11
〃　2aD08
〃　2aF01
〃　2aI07
〃　2pI08
〃　3aE05
〃　3aE06
〃　3aJ08
渡辺　克美　1aD07
渡辺　圭一　1aF01
渡部　忠久　2aJ09
渡辺　久男　2aI05
渡辺　正夫　2aH01
渡辺　正勝　1pH16
渡辺　夕子　2pH08
渡辺　竜五　2pJ05
和田　明　1aA08
和田敬四郎　1aF05
〃　1pE01
〃　3aB08
和田　晋子　2pI01
和田　拓治　1pS06
〃　2pH04
和田　剛　2aJ06
和田　元　2pC05
和田　雅人　2aG05
和田　正三　1pH10
〃　1pH11
〃　1pH12
和田　正三　1pH13
〃　1pH14
〃　1pH15
〃　3aD01
和田　洋　1pG06
〃　2aG08
〃　2aG09
〃　2aG10
和田野　晃　1pA13
〃　1pC11
〃　1pC12
〃　2aC08

年会・シンポジウム参加者名簿

Alia	基礎生物学研究所
Bogorad, L.	Dept. Mol. Cell. Biol., Harvard Univ.
Brown Jr., R.M.	Dept. Botany, The Univ. of Texas
Collings, D.	大阪大・理・生物
Delmer, D.P.	Dept. Botany, The Hebrew Univ.
Dennis, Y.	理化学研究所・植物機能
Deshnium, P.	基礎生物学研究所
Johnson, C.H.	Dept. Biology, Vanderbilt Univ.
Kaplan, A.	Dept. Botany, The Hebrew Univ.
Ku, M.S.B.	名古屋大・生物科学センター
Kumer, R.S.	埼玉大・理・分子生物
Lajiko, Ferenc	通産省北海道工業技術研
Limantara, L.	関西学院大・理
Nam, H.G.	Dept. Life Sci., Pohang Univ.
Pampoom, S.	基礎生物学研究所
Parvez, M.M.	大阪市立大・理・生物
Saradhi, P.P.	Centre for Biosci.
Sheen, J.	Dept. Mol. Biol., Mass. Gen. Hosp.; Dept. Genet., Harvard Med. Sch.
Smith, M.W.	日本女子大・理・物質生物科学
Wunsch, C.	東京都立大・理・生物

【あ】

相澤　幸子	筑波大・バイオシステム
相澤　裕子	筑波大・応用生物化学
愛知真木子	名古屋大・農・応用生物科学
青木　　孝	金沢大・理・生物
青木　摂之	名古屋大・理・生物
青野　光子	国立環境研究所
青柳　滋美	東北大・理・生物
赤池　光博	神奈川大・理・応用生物科学
明石　哲行	大阪大・蛋白質研究所
明石　智義	日本大・農獣医・応用生物科学
赤堀　興造	広島大・総合科学
東江　　栄	農業生物資源研究所・発育生理研究室
秋山　　高	北海道農業試験場
秋山　正志	岡山大・理・生物
浅井　友実	名古屋大・理・化学
浅田　浩二	京都大・食糧科学研究所
浅田　哲弘	大阪大・理・生物
浅野　暁一	佐賀大・農・遺伝子工学
旭　　正	福井県立大・生物資源
芦原　　坦	お茶の水女子大・理・生物
東　哲司	神戸大・自然科学
足立　　勝	宮崎大・農・植物生産化学
渥美　茂明	兵庫教育大・自然系教育・生物
安積　良隆	神奈川大・理・応用生物科学
穴井　豊昭	筑波大・応用生物化学
阿部俊之助	愛媛大・農・農芸化学
安部　俊彦	東海大・海洋・海洋科学
阿部　知子	理化学研究所・植物機能
安部　　弘	理化学研究所
阿部美紀子	鹿児島大・理・生物
尼子　克己	大阪府立大・農・応用生物化学
天野　政史	岡山大・農・植物病理
綾部　真一	日本大・農獣医・応用生物科学
新井　正善	生物資源総合開発利用センター
荒木　　崇	京都大・理・植物科学
荒田　博行	九州大・理・生物
荒見真一郎	岡山大・農
有村源一郎	広島大・理・遺伝子科学

【い】

飯田　秀利	基礎生物学研究所
飯野　盛利	大阪市立大・理・附属植物園
五十嵐隆夫	国立環境研究所
五十嵐由美子	(株)日立製作所・基礎研究所
池内　昌彦	東京大・教養・生物
池田　和正	日本大・農獣医・応用生物
池本　尚人	(株)海洋バイオテクノロジー研究所
石井　　忠	農水省森林総合研究所
石井　　洋	東海大・海洋・海洋科学
石井　愃義	徳島大・総合科学
石浦　正寛	名古屋大・理・生物
石川　敦司	福井県立大・生物資源
石川　圭吾	姫路工大・理・生命科学
石川　重夫	
石川　孝博	近畿大・農・食品栄養科学
石川　靖夫	岡山大・自然
石黒　澄衛	京都大・理・植物
石沢　公明	東北大・理・生物
石田　昭夫	熊本大・教養・生物
石田さらみ	東京大・理・植物生理
石田　亘広	奈良先端科学技術大学院大・バイオサイエンス研究科
石田　宏幸	東北大・農・応用生物化学
石原　　悟	東京学芸大・生物
石渡　　裕	東京大・農学生命科学・応用生命化学
泉井　　桂	京都大・農・農林生物学
泉　　良和	(株)エー・ティー・アイ.
伊勢島エリザ美智子	北海道大・農・作物生理学
一瀬　信敏	北海道大・地球環境

一瀬　勇規　岡山大・農
市原　謙一　京都府立大・農
市村　和也　筑波大・生物科学
市村　年昭　工業技術院・生命工学工業技術研究所
井手口隆司　大阪大・蛋白質研究所
伊藤　繁　基礎生物学研究所
伊藤　祥子　愛媛大・理・生物
伊藤　伸一　名古屋大・農・生化学制御
伊藤　整志　日本バイエルアグロケム(株)
結城中央研究所
伊東　隆夫　京都大・木質科学研究所
伊藤　寿　京都大・理・植物
伊藤　正樹　東京大・理・生物科学
伊藤　正幸　岡山大・農・植物病理
伊藤　庸子　愛媛大・農・分子細胞生物
伊藤　嘉信　名古屋大・農・生化学制御
伊藤　竜一　東京大・理・生物
稲永　醇二　鹿児島大・農
稲塲-日向野久美子　北海道大・理・生物科学
稲葉　昌美　基礎生物学研究所
井上　和仁　神奈川大・理・応用生物科学
井上　弘　富山大・理・生物圏環境科学
井上　雅裕　愛媛大・理・生物
井上　康則　東京理科大・理工・応用生物科学
猪口　雅彦　岡山理科大・理・生物化学
射場　厚　九州大・理・生物
今井　亮三　理化学研究所　ホルモン機能研究室
今泉(安楽)温子　東京大・教養
今宿　芳郎　京都大・化研
今関　英雅　日本たばこ産業(株)遺伝育種研究所
今西　俊介　名古屋大・農・生化
井村　喜之　岡山大・農・植物病理
入船　浩平　広島大・理・遺伝子科学
岩城　雅代　基礎生物学研究所
岩崎　郁子　(株)海洋バイオテクノロジー研究所
岩崎　俊介　農業生物資源研究所
岩崎　尚彦　大阪医科大・教養・生物
岩滝　暢子　名古屋大・農・生化学制御
岩崎　秀雄　名古屋大・理・生物
岩崎　行玄　福井県立大・生物資源

【う】

呉　国江　東京大・理・生物科学
上岡　華代　北海道教育大・函館・生物
上口(田中)美弥子　名古屋大・農・生化学制御
上田　純一　大阪府立大・総合科学
上田　貴志　東京大・分子細胞生物学研究所
上野　修　農業生物資源研究所・発育生理研究室
魚住　信之　名古屋大・生物分子応答研究センター
宇治家武史　広島大・理・生物科学
臼田　秀明　帝京大・医・化学
内海　俊樹　鹿児島大・理・生物
内田　英伸　筑波大・生物科学
内山　寛　日本大・農獣医・応用生物
宇野　雄一　神戸大・自然科学・環境科学・緑地環境
梅田　正明　東京大・分子細胞生物学研究所
梅基　直行　キリンビール(株)基盤技術研究所

【え】

江崎　文一　岡山大・資源生物科学研究所
榎並　勲　東京理科大・理・生物
遠藤さおり　日本製紙中央研究所
遠藤　千絵　北海道農試・畑研センター・品質制御
遠藤　剛　京都大・食糧科学研究所

【お】

大井　晶夫　東京農工大・工・生命工学
大岡　宏造　大阪大・理・生物
大川　和秋　大阪大・理・生物
大河　浩　名古屋大・生物分子応答研究センター
大城　香　東海大・海洋・海洋科学
大住千栄子　味の素(株)中央研究所
太田　英史　(株)クボタ基盤技術研究所
太田　淳子　九州大・理・生物
太田　尚孝　東京理科大・理・生物
太田　啓之　東京工業大・生命理工学
太田　喜元　近畿大・生物理工・生物工学
太田垣　聡　北海道大・農・分子生物
大谷　憲太　大阪府立大・農・応用生物化学
大坪　憲弘　農業生物資源研究所　分子育種部
大西　純一　埼玉大・理・分子生物
大西　道人
大野　千晶　京都大・食糧科学研究所
大橋　祐子　農業生物資源研究所
大場　泰
大宮あけみ　農水省・果樹試験場
大森　正之　東京大・教養・生物
大屋　俊英　生物資源総合開発利用センター
大家　理哉　岡山大・資源生物科学研究所
大山　勝夫　農林水産技術情報協会
岡　穆宏　京都大・化学研究所
岡　桂子　大阪府立大・農・応用生物化学
岡　真理子　大阪府立大・総合科学
岡崎　芳次　大阪医科大・教養・生物
岡田　克彦　農業生物資源研究所　機能開発部
岡田　清孝　京都大・理・植物
岡田　光正　東邦大・理・生物分子科学

岡村　昭治	富山医科薬科大・薬
岡村　将人	名古屋大・農・応用生物科学
岡本　朱根	横浜市立大・総合理学研究所
岡本　繁久	鹿児島大・教養・生物
岡本　知明	愛媛大・農・農芸化学
岡本　晴子	東京都立大・理・生物
岡山　繁樹	九州大・理・生物
小川　健一	京都大・理・分子植物科学
小川　隆平	熊本工業大・応用微生物工学
小川　晃男	名古屋大・生物分子応答研究センター
奥原　宏明	大阪大・蛋白質研究所
奥山英登志	北海道大・地球環境
刑部祐里子	東京農工大・農・応用生物科学
小澤真一郎	京都大・人間・環境学
小関　良宏	東京大・教養・生命環境
小田真由美	神戸大・理・生物
落合　　廣	北海道大学・理・生物科学
小内　　清	岡山大・理・生物
小野　莞爾	熊本大・理・生物科学
小野　公代	筑波大・遺伝子実験センター
小野　清美	東京大・理・生物科学
小野　高明	理化学研究所　光合成科学研究室
小野　道之	秋田県立農業短期大学付属生物工学研究所
小俣　達男	名古屋大・農・応用生物科学
恩田　弥生	大阪大・蛋白質研究所

【か】

貝原　純子	
甲斐　　泰	大阪大・工・物質化学
嘉数江美子	愛媛大・理・化学
柿本　辰男	大阪大・理・生物
賀来　華江	農業生物資源研究所
掛川　弘一	森林総合研究所
笠原　賢洋	東京大・教養・生物
笠毛　邦弘	農業生物資源研究所
梶　　隆	拓殖大・政経
菓子野康浩	姫路工業大・理
片岡　博尚	東北大・遺伝生態研究センター
加藤　　朗	基礎生物学研究所
加藤　　彰	名古屋大・生物分子応答研究センター
加藤　　潔	名古屋大・人間情報学・生物システム論
加藤　　栄	東邦大・理・生物
加藤　哲也	京都大・理・植物
加藤　　浩	東京大・養・生物
加藤　良一	山形大・教養・生物
門田　明雄	東京都立大・理・生物
金井　龍二	埼玉大・理
鐘ヶ江　健	東京都立大・理・生物
鐘ヶ江弘美	農業生物資源研究所
金勝　一樹	北里大・一般教育・生物
金子　　哲	筑波大・応用生物化学
金子　貴一	かずさ　DNA　研究所　遺伝子構造第２研究室
金田　剛史	大阪大・理・生物
金松　澄雄	南九州大・園芸・食品工学
鎌田　　博	筑波大・生物科学
蒲池　浩之	富山大・理・環境
神阪盛一郎	大阪市立大・理・生物
上中　弘典	京都府立大・農・農芸化学
上村　保麿	東邦大・理・生物
神谷　明男	帝京大・薬学・化学
神谷　勇治	理研フロンティア
賀屋　秀隆	京都大・理・植物科学
唐沢　智司	金沢大・理・生物
川合　真紀	東京大・分子細胞生物学研究所
川上　直人	横浜市立大・木原生物学研究所
川北　一人	名古屋大・農・植物病理学
川口健太郎	北海道農業試験場畑作研究センター
河口　清香	京都大・農・農芸化学
川口正代司	東京大・教養・生命
川崎　信二	農水省・生物研
川瀬　芳恵	東京都立大・理・生物
川地　太平	神戸大・農・生物環境制御学
河津　　維	東京大・理・生物
河野利津子	神戸女子大・家政
河盛阿佐子	関西学院大・理
神埼　洋之	(財)岩手生物工学センター

【き】

菊地　裕之	名古屋大・農・応用生物科学
菊山　宗弘	放送大・生物学研究所
岸本　卓也	大阪府立大・農・応用生物化学
木須　康智	広島大・生物生産・酵素化学
北川　良親	秋田県農業短期大学附属生物工学研究所
木谷　重和	トヨタ自動車(株)　第１ＦＰ部バイオラボ
北野　高寛	大阪府立大・農・応用生物化学
北村さやか	名古屋大・人間情報学・生物システム論
木下　浩司	北海道大学・農・作物生理
木下　　哲	基礎生物学研究所
木下　俊則	九州大・理・生物
木ノ元宏実	神戸女子大・家政
木場　章範	岡山大・農・植物病理
木原　淳一	東北大・遺伝生態研究センター
金　　昊泰	東京大・分子細胞生物学研究所
金　　晧衍	東京大・農学生命科学・応用生命化学
木村　　宏	熊本工業大・応用微生物工学
邱　　日英	日本大・農獣医・応用生物

【く】

草場新之助	つくば市果樹試験場栽培部
九島みどり	植物情報物質研究センター
楠見　健介	九州大・理・生物
沓名　伸介	名古屋大・理・生物
久能　　均	三重大・生物資源
久保　　稔	大阪大・理・生物
久保　深雪	京都大・理・分子植物
熊谷　　忠	東北大・遺伝生態研究センター
熊谷　友宏	熊本工業大・応用微生物工学
熊谷　浩高	大阪大・理・生物
熊谷　　史	東京大・理・植物
倉田　哲也	北海道大・地球環境科学・環境分子生物
倉田　裕文	宮崎大・農・植物生産化学
倉屋　芳樹	東京大・理・生物・植物生理研
栗山　　昭	(財)環境科学総合研究所
栗山　英夫	東京大・理・生物
黒岩　繁樹	広島大・総合科学
黒岩　常祥	東京大・理・生物科学
黒谷　賢一	京都大・農・農林生物
黒田　洋詩	岡山大・理・植物生理
桑原　朋彦	筑波大・生物科学

【こ】

小池　裕幸	姫路工業大・理・生命科学
小泉　好司	東北大・理・生物
小板橋律子	東京大・理・生物科学
肥塚　信也	(株)植物工学研究所
小岩　尚志	京都大・農・農芸化学
小岩　弘之	(財)岩手生物工学研究センター
幸田　泰則	北海道大・農・作物生理
河内　直美	関西学院大・理
河野　順帆	東京農工大・工・生命工
五島　直樹	広島大・理・遺伝子科学
小杉　俊一	農水省・生物研
小曽根　睦	埼玉大・理・分子生物
小竹　敬久	広島大・総合科学・自然環境コース
児玉　浩明	九州大・理・生物
後藤　　聡	東北大・農・応用生物化学
後藤　敏男	日本バイエルアグロケム(株) 結城中央研究所
後藤　伸治	宮城教育大・生物
小林　　晃	農業生物資源研究所・発育生理
小林　　興	東京学芸大・生命科学
小林　俊弘	筑波大・遺伝子実験センター
小林　直子	熊本大・理・生物科学
小林　裕和	静岡県立大・生活健康科学
小林　裕俊	神戸大・理・植物生理
小林　正樹	名古屋大・農・応用生物科学
小林　正智	理化学研究所　植物生活環制御研究室
小林　正美	筑波大・物質工学系
小林　　優	京都大・農・農芸化学
小林　善親	九州大・農・林学
小松　節子	農業生物資源研究所
駒嶺　　穆	日本女子大・理・物質生物科学
小森　久代	九州大・理・生物
古森　美香	関西学院大・理
小山　　泰	関西学院大・理
是枝　　晋	埼玉大・理・分子生物
近藤　孝男	名古屋大・理・生物

【さ】

西條　雄介	京都大・農・農林生物
齋藤　和實	京都大・放射線同位元素総合センター
斉藤　　武	島根大・遺伝子実験施設
斉藤　玉緒	北海道大・理・生物
齋藤　　力	筑波大・遺伝子実験センター
斉藤美佳子	東京農工大・工・生命工学
佐伯　和彦	大阪大・理・生物
酒井　　敦	東京大・理・植物科学
酒井　慎吾	筑波大・生物科学
酒井　秀徳	帝京大・理工・バイオサイエンス
榊原　　均	名古屋大・農・応用生物科学
榊原　祥清	食品総合研究所　分子情報解析研究室
坂野　勝啓	農業生物資源研究所
坂本　　敦	基生研
坂本　和俊	東北大・理・生物
坂本　　俊	
坂本　秀樹	京都大・理・植物科学
桜井　直樹	広島大・総合科学
櫻井　　望	東北大・農・応用生物化学
桜井　英博	早稲田大・教育・生物
櫻木由美子	東京都立大・理・生物
佐々木孝行	(株)海洋バイオテクノロジー研究所
佐々木昌生	岡山大・資源生物学研究所
佐々木陽子	
佐島　徳武	関西学院大・理
定金　　豊	岡山大・理・生物
佐藤　　朗	新潟大・理・生物
佐藤　和彦	姫路工業大・理
佐藤　公行	岡山大・理．生物
佐藤　　茂	東北大・農・環境適応生物工学
佐藤　　忍	筑波大・生物科学
佐藤　淳子	京都大・人間・環境学
佐藤　　豪	帯広畜産大・生物資源化学
佐藤　敏生	広島大・理・生物
佐藤　直樹	東京学芸大・生命科学

佐藤　豊　名古屋大・生物分子応答研究センター
佐藤　良平　大阪府立大・農・応用生物化学
里澤　智美　三井東圧化学(株)ライフサイエンス研究所
真田　幸香　金沢大・理・生物
佐野　智　(財)地球環境産業技術研究機構植物分子生理
猿山　晴夫　(株)北海道グリーンバイオ研究所
澤　進一郎　名古屋大・理
澤崎　達也　広島大・理・遺伝子科学
三宮　一宰　名古屋大・生物分子応答

【し】

椎名　隆　京都大・人間・環境学
塩井　祐三　東京工業大・生命理工
塩崎　紀子　名古屋大・人間情報学研究科
四方　幸治　富山大・理・生物
鹿田　貴弘　岡山理科大・理・生物化学
重岡　成　近畿大・農・食品栄養科学
七條千津子　神戸大・理・生物
篠崎　一雄　理研・ライフサイエンス
篠崎　忠治　神奈川大・理・応用生物科学
篠崎　眞輝　京都大・農・応用植物
篠原　健司　森林総合研究所　生物機能開発部
柴岡　弘郎　大阪大・理・生物
柴田　幸一　愛媛大・農・農芸化学
柴田　大輔　(株)三井業際植物バイオ研究所
柴田　均　島根大・生物資源科学
柴田　勝　九州大・農・林学
嶋田　敬三　東京都立大・理・生物
嶋田　崇史　大阪府立大・先端科学研究所
嶋田　知生　基礎生物学研究所
嶋田　幸久　東京大・理・生物科学
志水　佐江　名古屋大・農・生化学制御
清水　力　クミアイ化学工業(株)生物科学研究所
清水　源　神戸大・理・生物
清水　良訓　鳥取大・農
下河原浩介　京都大・歯・化学
庄田　恵子　東京大・分子細胞生物学研究所
庄野　邦彦　東京大・教養・生命
庄野真理子　(株)植物工学研究所
徐　正君　秋田県立農業短大付属生物工学研究所
白石　友紀　岡山大・農
白岩　善博　新潟大・理・生物
白浜　佳苗　東京大・教養・生物
沈　建仁　理化学研究所　光合成科学研究室
新免　輝男　姫路工業大・理・生命

【す】

末吉　邦　神戸大・農
菅井　真人　京都大・農・農芸化学
菅井　道三　富山大・理・生物
菅沼　教生　愛知教育大・生命化学
菅原　康剛　埼玉大・理・生体制御
杉浦　美羽　神戸大・自然科学
杉村　康知　東邦大・理・生物・生化学教室
杉山健一郎　国立環境研究所
杉山　達夫　名古屋大・農・応用生物科学
杉山　宗隆　東北大・理・生物
杉山　立志　京都大・人間・環境学
須合　悦子　愛媛大・理・生物
鈴木　章弘　農水省・生物研
鈴木　石根　基礎生物学研究所
鈴木　英治　茨城大・理
鈴木　馨　生命工学工業技術研究所・植物分子生物
鈴木　玄樹　京都工業大・生命理工・生態構造
鈴木　健策　東北農試・生理生態研
鈴木　剛　東北大・農・植物育種
鈴木　章方　山梨大・教育・生物
鈴木　隆　山形大・教育
鈴木　崇紀　広島大・理・生物科学
鈴木　孝尚　東邦大・理・生物
鈴木　俊洋　大阪大・理・生物
鈴木　晴彦　(財)新機能素子研究開発協会
鈴木　正彦　青森県グリーンバイオセンター
鈴木　玲奈　東京大・理・生物

【せ】

瀬尾　茂美　筑波大・応用生物化学
關　光　岡山大・農・応用遺伝子工学研究室
関　原明　理研・植物分子生物
関根　政実　奈良先端科学技術大学院大・バイオサイエンス
関本　弘之　理化学研究所フロンティア
瀬戸山愛子　鹿児島大・理・生物
千徳　直樹　北海道大・理・生物

【そ】

副田　憲司
外内　尚人　(株)バイオポリマーリサーチ研
園池　公毅　東京大・理・生物科学
園田　雅俊　名古屋大・生物分子応答研究センター
園部　誠司　姫路工業大・理・生命科学
征矢野　敬　岡山理科大・理・生物化学

【た】

平　知明	大阪府立大・農
高市　真一	日本医科大・生物
高木　慎吾	大阪大・理・生物
高木　英典	大阪大・蛋白質研究所
高瀬　尚文	奈良先端科学技術大学院大・バイオサイエンス
高辻　博志	農業生物資源研究所　機能開発部
高梨　寿	京都大・食糧科学研究所
高根　健一	香川大・生物資源科学
高橋　明裕	日本曹達(株)小田原研究所
高橋　宏二	名古屋大・農
高橋　哲郎	北陸先端科学技術大学院大
高橋　正昭	大阪府立大・農・応用生物化学
高橋　美佐	広島大・理・遺伝子科学
高橋　美智子	東京大・農学生命科学・応用生命化学
高橋　康弘	大阪大・理・生物
高橋裕一郎	岡山大・理・生物
高浜有明夫	九州歯科大
高倍　昭洋	名城大・総合研究所
高倍　鉄子	名古屋大・生物分子応答センター
高宮建一郎	東京工業大・生命理工
高見　雄二	北海道大・地球環境科学・環境分子生物
滝尾　進	広島大・理・生物
滝沢　隆一	東京大・農学生命科学
瀧本　敦	京都生物研
武市　哲郎	農業生物資源研究所
竹内　雅宣	東京大・理・生物
武居　郁	大阪大・理・生物
武田　幸作	東京学芸大・生物
竹田　淳子	京都大・農・農芸化学
武田　徹	近畿大・農・食品栄養科学
竹中　重雄	羽衣学園短期大・家政・食物
竹本　大吾	名古屋大・農・植物病理学
田坂　昌生	京都大・理・植物
田坂　恭嗣	基礎生物学研究所
田沢　仁	福井工大・工・応用理化
多田　幹郎	岡山大・農
田中　歩	京都大・理・植物
田中　修	甲南大・理・生物
田中　香里	北海道大・農・作物生理
田中　浄	国立環境研究所
田中　直樹	埼玉大・理・分子生物
田中　紀史	木原生物学研究所
田中　義人	名城大・理工・化学
田中　亮一	京都大・理・植物
谷口　光隆	名古屋大・農・応用生物科学
谷本　英一	名古屋市立大・教養・生物
谷本　静史	佐賀大・農・遺伝子工学
田畑　哲之	かずさDNA研究所
田渕　彰	大阪市立大・理・生物
玉井　鉄宗	
玉井　直人	金沢大・理・生物
玉井　宏紀	京都大・理・植物科学
玉置　雅紀	名古屋大・生物分子応答研究センター
樽井　裕	大阪市立大・理・附属植物園

【ち】

崔　賢美	東北大・理・生物
陳　暖	筑波大・生物科学
陳　磊	大阪市立大・理・生物

【つ】

栂根　一夫	静岡県立大・生活健康科学
柘植　知彦	東京大・分子細胞生物学研究所
辻　英夫	神戸女子大・一般教育生物
辻口　佳子	大阪大・理・生物
角山　雄一	京都大・人間・環境学
津村　淳	金沢大・理・生物
津山　孝人	九州大・農・林学
鶴崎　健一	福山大・一般教育部
鶴見絵里子	東邦大・理・生物
鶴見　誠二	神戸大・自然科学

【て】

手島　圭三	広島大・総合科学
手塚　修文	名古屋大・人間情報学研究科
出村　拓	東北大・理・生物
寺内　一姫	東京大・教養・生物
寺島　一郎	筑波大・生物科学
寺本　進	熊本大・理・生物
寺本　陽彦	京都府立大・生活科学・応用生物

【と】

土井　道生	九州大・理・生物
遠山　知子	京都大・理・植物
時田　誠二	東京都立大・理・生物
得字　圭彦	東北大・理・生物
徳富　哲	大阪府立大・先端科学研究所
徳富　光恵	農業生物資源研究所　光合成研究室
徳楽　清孝	筑波大・応用生物化学
戸栗　敏博	キリンビール(株)基盤技術研究所
戸田　恭子	東京大・理・生物科学
富岡　厚	早稲田大・教育・生物
冨田英津子	鹿児島大・連合大学院

富永　るみ　広島大・総合科学
鞆　達也　岡山大・理
豊島　喜則　京都大・人間・環境学
豊田　和弘　岡山大・農・植物感染病
虎沢　慶太　愛知学院大・生物
鳥山可菜子　基礎生物学研究所
鳥山　欽哉　東北大・農

【な】

内藤　哲　北海道大・農
中井　朋則　京都大・木質科学研究所
永井　玲子　大阪大・理・生物
中馬　誠　岡山大・農
中尾まゆみ　熊本大・理・生物科学
中川　強　島根大・遺伝子実験施設
中川　直樹　広島大・総合科学・自然環境コース
中里　勝芳　理化学研究所　光合成科学
中里　直　東京都立大・理・生物
中澤　美紀　横浜市立大・理
中島　一雄　国際農林水産業研究センター
中島　仁　京都大・農・林産工学
中島　秀明　岡山大・理・生物
中嶋　信美　国立環境研究所
中嶋　正敏　東京大・農・農芸化学
中島　芳浩　理研・植物機能
永島　賢治　東京都立大・理・生物
永田　俊文　生物資源研究所　遺伝子発現調節
長田　敏行　東京大・理・生物科学
長谷あきら　東京大・遺伝子
永田　美世　東北大・理・生物
中西　啓仁　東京大・農学生命科学・応用生命化学
中野　明彦　東京大・院・生物科学
中野　雄司　理研・植物機能
仲野　廣美　東北大・農・応用生物化学
中林　一美　東京大・理・生物科学
中原　昌明　神奈川大・理・応用生物科学
中平　洋一　京都大・人間・環境学
永松　愛子　佐賀大・農・遺伝子工学
中村　研三　名古屋大・農・応用生物
中村　信吾　農水省・生物研
中村　輝子　日本女子大・理・物質生物科学
中村　敏英　名古屋大・生物学分子応答研究センター
中村　運　甲南大・理・生物
中村　真樹　東邦大・理・生物
中村　保典　農業生物資源研究所
中村　友紀　熊本大・理・生物
中村　良子　筑波大・生物
中村　善行　食品総合研究所　分子情報解析
仲本　準　埼玉大・理・分子生物
中山　貴照　大阪大・理・生物
南原　英司　北海道大・農・応用生命科学

【に】

西原　昌宏　(財)岩手生物工学研究センター
仁木　輝緒　拓殖大・工
西内　巧　九州大・理・生物
西川　圭祐　大阪府立大・農・応用分子生物
西口　満　森林総合研究所・生物機能開発部
西崎友一郎　神戸学院大・人文
西澤　直子　東京大・農
西田　生郎　東京大・理・生物科学
西谷　和彦　鹿児島大・教養・生物
西野　徹　大阪府立大・農・応用分子生物
西浜　竜一　名古屋大・理・生物
西村いくこ　基礎生物学研究所
西村　浩二　東京工業大・生命理工
西村　重喜　兵庫教育大・自然系教育・生物
西村　幹夫　基礎生物学研究所
西村　光雄　九州大・理・生物
西山　佳孝　基礎生物研究所
丹羽　康夫　静岡県立大・生活健康科学

【ね】

根本　泰行　東京農工大・工・生命工学

【の】

野口　勝三　基礎生物学研究所
野口　航　筑波大・生物科学
野口　貴文　横浜市立大・木原生物学研究所
野口　巧　理化学研究所　光合成科学
野澤　彰　東京大・理・生物科学
野末　一成　東京都立大・理・生物
野原　哲矢　名古屋大・理・化学
野村　崇人　帝京大・理工・バイオサイエンス
野村　美加　名古屋大・生物分子応答研究センター
則武　智哉　名古屋大・農・植物病理学

【は】

朴　恵卿　食品総合研究所　分子情報解析研究室
橋本　純治　農業生物資源研究所
橋本　晶子　岡山大・理・生物
橋本　隆　奈良先端科学技術大学院大・バイオサイエンス
橋本　徹　神戸女子大・家政
橋本　博支　北海道大・地球環境科学・環境分子生物

蓮沼　仰嗣　横浜市立大・木原生物学研究所
長谷　昭　北海道教育大・函館・生物
長谷川宏司　筑波大・応用生物化学系
長谷川実加　東京学芸大・生命科学
馳澤盛一郎　東京大・理・植物
長谷　俊治　大阪大・蛋白質研究所
長谷　隆司　甲南大・理・生物
畑　信吾　京都大・農・農林生物
秦　恵　神戸大・理・生物
波多野昌二　九州大・農・食糧化学工学
蜂谷　晶子　岡山大・資源生物科学研究所
服部　淳彦　聖マリアンナ医科大・第一解剖
服部　束穂　三重大・遺伝子実験
花田　智　東京都立大・理・生物
馬場　恭子　京都大・人間・環境学
馬場　啓一　京都大・木材科学研究所
浜崎　和恵　大阪府立大・農・応用生物化学
浜田　徹　農業生物資源研究所
濱田　達郎　九州大・理・生物
濱田　朋子　愛媛大・理・化学
早川　俊彦　東北大・農・応用生物科学
林　隆久　京都大・木質科学研究所
林　秀則　愛媛大・理・化学
林　浩昭　東京大・農学生命科学・応用生命化学
林　誠　基礎生物学研究所
〃　東京大・理・生物科学
林田　信明　理化学研究所
原口　博行　福山大・工
坂　佳三　関西学院大・理

【ひ】

東　正一　基礎生物学研究所
東　四郎　鹿児島大・理・生物
東山　哲也　東京大・理・生物科学
樋口　隆司　東北大・農・細胞生化学
樋口　達治　名古屋大・農・生物化学
肥後　健一　農業生物資源研究所　分子育種部
久堀　徹　東京工業大・資源化学研究所
日出間　純　東北大・遺伝生態研究センター
日比野　隆　名城大・理工・化学
日吉　徹　日本たばこ産業(株)遺伝育種研究所
平井(横田)優美　東京大・農学生命科学・応用生命化学
平井　則子　京都大・木質科学研究所
平岩　呂子　基礎生物学研究所
平澤　栄次　大阪市立大・理・生物
平野　篤　東京電力(株)・エネルギー環境研究所
平野　博之　国立遺伝学研究所
日渡　祐二　東北大・理・生物

【ふ】

福崎　信夫　熊本工業大・応用微生物工学
福澤　秀哉　京都大・農・農芸化学
福田　篤徳　農業生物資源研究所
福田　俊介　東京都立大・理・生物
福田　裕穂　東京大・理・附属植物園
福本　亮平　筑波大・生物科学
藤家　香苗　愛媛大・理・生物
藤井　修平　帝塚山短大
藤井真紀子　広島大・理・遺伝子科学
藤井　康代　京都大・農・バイオマス循環論
藤木　有紀　東京大・理・生物科学
藤澤　久雄　京都大・理・植物
藤田　直子　大阪府立大・農・応用植物科学
藤田　浩徳　東京大・教養・生命
藤田　祐一　大阪大・蛋白質研究所
藤波　周　京都大・農・農林生物学
藤野　介延　北海道大・農・作物生理学
藤巻　秀　東京大・農学生命科学・応用生命化学
藤村　達人　三井東圧化学(株)ライフサイエンス研究所
藤原研二郎　東京大・理・生物
藤原　徹　東京大・農・応用生命化学
布施　拓市　九州大・理・生物
二村　典宏　森林総合研究所・生物機能開発部
舟本　聡　北海道大・理・生物科学
舟山　幸子　筑波大・生物科学
古川　健一　熊本大・教育・生物
古川　浩二　理研・国際フロンティア・ホルモン機能
古川　聡子　都立立川短大・化学
古谷　雅樹　(株)日立製作所基礎研究所

【へ】

別府　敏夫　西東京科学大・理工・バイオサイエンス
賀　道燿　農水省・生物研

【ほ】

法忍　孝子　京都大・人間・環境学
保坂　秀夫　日本曹達(株)小田原研究所
星　久行　住友化学(株)農業化学品研究所
星田　尚司　京都大・人間・環境学
保尊　隆享　大阪市立大・理・生物
堀　智子　東邦大・理・生物分子科学
堀口　吾郎　九州大・理・生物
堀越　守　日本農薬(株)生物研究所
本城　賢一　九州大・農・食糧化学工学
本庄さおり　東海大・海洋・海洋科学
譽田　大仁　愛媛大・理・化学

【ま】

馬　建鋒	岡山大・資源生物科学研究所
前　忠彦	東北大・農・応用生物化学
前島　正義	名古屋大・農・生物化学
前尾健一郎	名古屋大・農・生物化学
前田　静思	九州大・理・生物
前田　真一	名古屋大・農・応用生物科学
牧　泰史	京都大・理
牧迫　剛志	鹿児島大・理・生物
牧野　周	東北大・農・応用生物化学
牧野　英志	京都府立大・農・農芸化学
正元　和盛	熊本大・教育・生物
増田　清	北海道大・農
増田　隆男	京都大・農・農林生物
増田　建	東京工業大・生命理工
増田　宏志	帯広畜産大・生物資源化学
増田　芳雄	帝塚山短大
増田　亮一	農水省・食総研
増村　威宏	京都府立大・農・生物化学
町田　泰則	名古屋大・理・生物
松井　啓祐	大阪大・理・生物
松井　健二	山口大・農・応生化
松浦　克美	東京都立大・理・生物
松岡　健	名古屋大・農・生物化学
松岡　信	名古屋大・生物分子応答研究センター
松岡　正佳	熊本工業大・応用微生物工学
松尾　友明	鹿児島大．農
松尾　広信	岡山大・農・植物感染病
松尾　道憲	京都大・食糧科学研究所
松崎　雅広	広島大・理・生物科学
松永　悦子	日本製紙中央研究所
松永　幸大	東京大・理・生物科学
松永　是	東京農工大・工・物質生物工学
松原　央	岡山理科大・理
松村　健	(株)北海道グリーンバイオ研究所
松村　智裕	大阪大・蛋白質研究所
松本　英明	岡山大・資源生物科学研究所
間藤　徹	京都大・農・農芸化学
円　由香	名古屋大・農・生化学制御
真鍋　勝司	横浜市立大・理
真野　純一	京都大・食糧科学研究所
真野　昌二	基礎生物学研究所
豆塚　弘毅	日本農薬(株)生物研究所
真柳　浩太	理化学研究所　光合成科学
圓山恭之進	東京学芸大・生命科学
丸山　忍	東京都立大・理・生物

【み】

水澤　直樹	筑波大・生物科学
水野　暁子	日本福祉大・情報社会科学
水野　孝一	大阪大・理・生物
三角　修己	東京学芸大・生命科学
溝口　正	関西学院大・理
溝口　剛	理化学研究所　植物分子生物学
溝口　寛	東京工業大・生命理工
三谷　祐子	大阪市立大・理・生物
光川　典宏	(株)三井業際植物バイオ研究所
三橋　敏	(株)海洋バイオテクノロジー研究所
光原　一郎	農業生物資源研究所
皆川　純	理化学研究所　光合成科学
南　淳	鶴岡工業高専・物質工学
南　栄一	農水省・生物研
南　善子	岡山理科大・理・生物化学
皆見　政好	奈良先端科学技術大学院大・バイオサイエンス
三村　徹郎	一橋大・生物
三室　守	基礎生物学研究所
宮入　祥夫	つくば市工技院・生命工学研
宮城　布明	果樹試験場興津支場
三宅　親弘	京都大・食糧科学研究所
三宅　正人	生命工学工業技術研究所
宮下　英明	(株)海洋バイオテクノロジー研究所
宮地　重遠	(株)海洋バイオテクノロジー研究所
宮本　健助	大阪府立大・総合科学

【む】

武藤　尚志	名古屋大・生物分子応答研究センター
武藤　智恵子	東京大・教養・生物
村井　耕二	石川県農業短大農業資源研究所
村上　悟	神奈川大・理・応用生物科学
村上　泰弘	岡山大・農・植物病理学研究室
村田　隆	東京大・教養・生命環境科学
村田　祐二	大阪府立大・農・応用生物化学
村田　善則	大阪府立大・農
村田　芳行	岡山大・農・細胞生理
村中　俊哉	住友化学・生命研
村元　靖典	名古屋大・生物分子応答研究センター

【も】

毛利　宏	島根大・生物資源科学・生物化学
元木　章裕	東レリサーチセンター
盛　有子	東京農工大・農・応用生物科学
森　泉	名古屋大・生物分子応答研究センター
森　敏	東京大・農学生命科学・応用生命化学

森　仁志　名古屋大・農・生化学制御
森川　弘道　広島大・理・遺伝子科学
森田　重人　京都大・理・植物学教室

【や】

八木　史郎　鹿児島大・農
矢崎　芳明　農業生物資源研究所
保谷　泉　トヨタ自動車(株)　第１ＦＰ部バイオラボ
保田　浩　帯広畜産大・生物資源化学
安田ゐう子　京都パストゥール研究所
八ツ橋寛子　宮崎大・教育・生物
柳　瑞帆　東京大・理・生物科学
矢野　明　生命工学工業技術研究所分子生物部
矢野　伸一　大阪工業技術研究所
山内　靖雄　神戸大・農
山内　喜朗　京都大・理・植物
山形　裕士　神戸大・農・生物機能化学
山口　淳二　名古屋大・生物分子応答センター
山口信次郎　東京大・農学生命科学・応用生命化学
山口　武志　農業生物資源研究所
山口　博隆　東京大・農学生命科学・応用生命化学
山口　峰生　筑波大学・生物科学
山崎　健一　名古屋大・農・生化学制御
山崎　淳也　東邦大・理・生物
山崎　照之　神戸大・農・生物機能化学
山崎　秀雄　琉球大・理・生物
山下　魏　筑波大・生物科学
山下　広哲　鹿児島大・理・生物
山下　博史　京都府立大・生活科学・応用生物
山田　恭司　富山大・理・生物
山田小須弥　神戸大・自然科学
山田　茂裕　日本たばこ産業(株)遺伝育種研究所
山田　隆文　東京工業大・生命理工
山田　裕之　金沢大・理・生物
山田　晃弘　北海道東海大・工
山中　健生　日大・理工・工業化学
山根　久和　東京大・生物生産工学研究センター
山根　由裕　姫路工大・理・生命科学
山本(豊田)章子　三重大・遺伝子実験施設
山本　勇　広島大・理・生物科学
山本興太郎　北海道大・地球環境科学
山本　直樹　農業生物資源研究所
山本　宏　基礎生物学研究所
山本　浩之　名古屋大・農・応用生物
山本　泰　岡山大・理・生物
山本　洋子　岡山大・資源生物科学研究所
山本　良一　帝塚山短大
山谷　知行　東北大・農・応用生物化学

【ゆ】

楊　和平　筑波大・生物

【よ】

横井　修司　東北大・農・植物育種
横田　明穂　(財)地球環境産業技術研究機構
横田　智　森林総合研究所　生理機能研究室
横田　孝雄　帝京大・理工・バイオサイエンス
横谷(富田)香織　筑波大・応用生物化学
吉崎　文則　東邦大・理・生物・生化学教室
吉玉国二郎　熊本大・理・生物科学
吉田　和市　京都大・理・植物
吉田　和正　森林総合研究所・生物機能開発部
吉田　茂男　理研・植物機能
吉田　真　東京都立大・理・生物
吉田　正人　名古屋大・農・生物材料物理学
吉原　照彦　北海道大・農・生物機能化学
依田　尚文　京都大・農・農芸化学
米田　章登　京都大・人間・環境学
米山　忠克　農業研究センター

【ら】

羅　烈紅　筑波大・生物科学

【り】

劉　玉軍　大阪市立大・理・附属植物園

【れ】

レ・バン・ホア　広島大・総合科学

【わ】

若林　和幸　大阪市立大・理・生物
鷲尾　健司　北海道大・地球環境科学・環境分子生物学
和田敬四郎　金沢大・理・生物
和田　雅人　筑波大・生物科学
和田　正三　東京都立大・理・生物
和田　洋　東京大・教養・生物
渡辺　昭　東京大・理・生物科学
渡辺　正勝　基礎生物学研究所　培養育成
渡辺　幹夫　株式会社エー・ティー・アイ.
和田野　晃　大阪府立大・農・応用生物化学

日本植物生理学会1996年度年会委員長

鹿児島大学理学部：　東　　四郎

日本植物生理学会1996年度年会準備委員会

鹿児島大学理学部：　阿部美紀子
内海　俊樹
教養部：　西谷　和彦
岡本　繁久
農学部：　堀口　　毅
稲永　醇二
松尾　友明
八木　史郎
渡部　由香

日本植物生理学会1996年度年会および
第36回シンポジウム講演要旨集

発行日：1996年３月20日
発行者：日本植物生理学会年会 鹿児島大会準備委員会
〒890 鹿児島市郡元1-21-35 鹿児島大学理学部
印刷所：中西印刷㈱ 〒602 京都市上京区下立売通小川東入

日本植物生理学会1996年度年会の開催にあたり，多くの企業，団体から広告掲載，展示，協賛参加，寄付等のご援助を頂きました．ご協力まことに有り難うございました．ここにお名前を掲載し感謝申し上げます．

中西印刷株式会社
宝酒造株式会社
株式会社 テクノ
株式会社 講談社
株式会社 培風館
和光純薬工業株式会社
株式会社 秀潤社
薩摩酒造株式会社
日農生研株式会社
宝来化学薬品株式会社
アッベ科学株式会社
日本たばこ産業株式会社
東ソー株式会社
日製産業株式会社
ＪＴＢ鹿児島支店
タイテック株式会社
旭光通商株式会社
南西糖業株式会社
小正醸造株式会社
原田学園看護専門学校
日本バイエルアグロケム株式会社
日本バイオラッドラボラトリーズ株式会社
ユーエイチ・アイ システムズ株式会社
株式会社 パーキン エルマー ジャパン
アプライドバイオシステムズ
株式会社 エー・ティー・アイ
ファルマシアバイオテク株式会社
財団法人 鹿児島観光コンベンション協会

（３月６日現在 順不同）

TaKaRa

BEACON™

蛍光偏光度測定システム

Fluorescence Polarization System

Bio Engineering Research

蛍光偏光度を測定することで
物質間の相互作用を
pmolレベルでリアルタイムにモニタリング

A-Protein

DNA-DNA

Antibody-Antigen

Protein-Protein

●
●
●
●

応用例

夾雑酵素の高感度検出が可能
ブロッティングの必要なしに**DNAハイブリダイゼーション**を測定
ゲルシフトアッセイより簡便にDNA-タンパク質の結合を確認　**etc…**

BEACON専用キット

BEACON Protease Activity Detection Kit
TaKaRa Code VP2010　200回

BEACON RNase Activity Detection Assay
TaKaRa Code VP2115　100回

このシステムはPANVERA社製です。

TaKaRa BIOMEDICALS

宝酒造株式会社

東京事務所　バイオ販売課
TEL.03-3271-8553　FAX.03-3271-7282

大阪支店　バイオ販売課
TEL.06-374-1685　FAX.06-374-5457

TaKaRa テクニカルサポートライン
TaKaRa製品の技術的なご質問に専門の係がお応えさせていただきます。
TEL.0775-65-6974　FAX.0775-65-6965

For Immediate information use BioTechNet address below.

BioTech NET JAPAN

btn00000

ISO 9001
認証取得

汎用液クロスシステムで使える
TSKgel Superシリーズがラインアップ!!

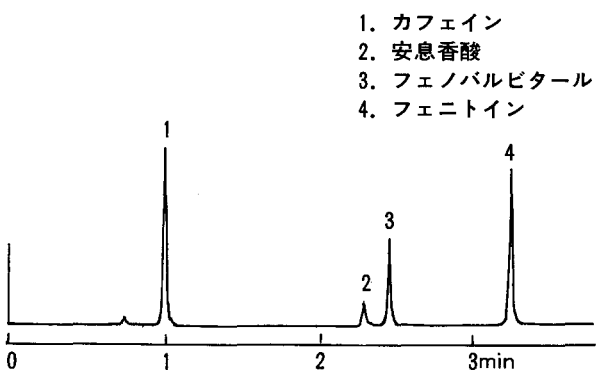
好評発売中

超高速高性能2ミクロン逆相カラム

TSKgel Super-ODS
NEW TSKgel Super-Octyl
NEW TSKgel Super-Phenyl

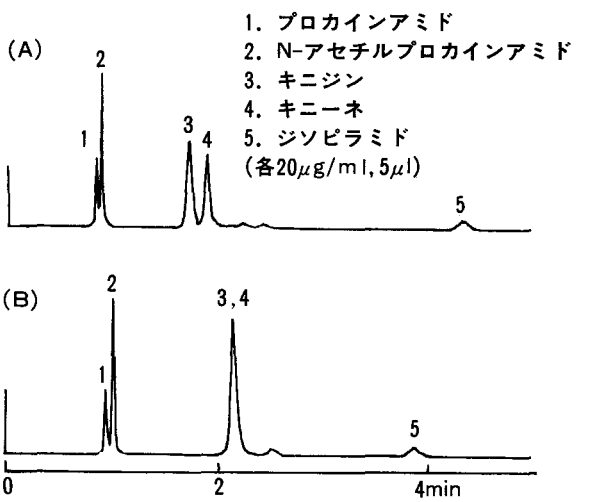
■ **高性能**：5ミクロンODS 4.6mmI.D.×15cmカラムを超える分離能です。
（5 cmカラム／8,000段以上、10cmカラム／16,000段以上）
■ **超高速**：分析時間は1分ないし5分です。
■ **汎用性**：汎用HPLCシステムが使用できます。（使用流速は1-3ml/min）
■ **省溶媒**：従来の2分の1以下です。
■ **高感度**：従来の2倍以上の感度が得られます。
■ **選択性**：オクチル、フェニルタイプは、保持力、選択性がODSと異なります。
■ **用　途**：医薬品の分析、品質管理、食品の分析、検査、ペプチドタンパク質の分離など

●抗てんかん薬（錠剤）の分離



カラム：TSKgel Super-ODS(4.6mmI.D.×10cm)
溶離液：A: 50mM NaH_2PO_4(pH2.5)/acetonitrile =80/20
B: 50mM NaH_2PO_4(pH2.5)/acetonitrile =30/70
0min(B: 0%), 5min(B: 100%)（リニアグラジエント）
流　速：1.5ml/min
温　度：40℃
検　出：UV(210nm)（UVセルはヒートシンク除去）
試　料：錠剤抽出液（濾過）、5μl

●不整脈治療薬の分離



カラム：(A)TSKgel Super-Octyl(4.6mmI.D.×10cm)
(B)TSKgel Super-Phenyl(4.6mmI.D.×10cm)
溶離液：20mM NaH_2PO_4(pH2.5)／アセトニトリル＝90/10
流速：1.0ml/min　温度：40℃　検出：UV(254nm)

＊高感度、省溶媒用には、セミミクロカラム（TSKgel ODS-80Ts、TSKgel ODS-120T）もございます。

TOSOH
東ソー株式会社
科学計測事業部

東京本社 ☎(03)3275-1101　〒104 東京都中央区京橋3-2-4 仙台支店 ☎(022)266-2341
大阪支店 ☎(06) 344-3857　名古屋支店 ☎(052)211-5730　つくば営業所 ☎(0298)55-8166
山口営業所 ☎(0834)63-9888　福岡支店 ☎(092)781-0481　徳島営業所 ☎(0886)64-6865

FISONS
Applied
Sensor
Technology

これからは手軽にスピーディにリアルタイム分析!

生体分子間相互作用解析装置

IAsys

IAsysキュベットシステムは、革新的な光センサーを採用、
ラベリングや面倒な前処理なしで、
特定の生体分子間の反応過程をモニターできるリアルタイム解析が可能です。

解析パラメータ

- ●Kinetic Constant
- ●濃度測定
- ●エピトープ・マッピング
- ●結合パターン
- ●分子標識

固相化法

〈固相化用官能基〉	〈バインディング〉
●一級アミン	●抗原一抗体
●チオール基	●ホルモン一受容体
●アルデヒド基	●ドラッグ一受容体
●ビオチン/ストレプトアビジン	●酵素一補助因子/基質/阻害剤
●捕捉用抗体	●受容体一微生物/細胞
	●核酸一結合タンパク質
	●DNA/RNA—CDNA
	●タンパク質—タンパク質

お問い合わせは
日製産業株式会社
科学機器営業本部:担当 中島
(03)3504-7279

本　社　〒105 東京都港区西新橋1-24-14　電話 東京(03)3504-7211(ダイヤルイン)
事業所　札　幌(011)221-7241　仙　台(022)264-2211　筑　波(0298)23-7391　北関東(0486)53-2341　西関東(0426)43-0080
千　葉(0472)47-4151　横　浜(045)451-5151　新　潟(025)241-3011　北　陸(0764)24-3386　豊　田(0565)28-5191
名古屋(052)583-5841　京　都(075)241-1591　大　阪(06) 366-2551　四　国(0878)62-3391　広　島(082)221-4514
九　州(092)721-3501　沖　縄(0988)78-1311

Wako

植物生長調節因子

6-BA

6-Benzylamino-2-(2-hydroxyethylamino)-7-methylpurine
6-Benzylamino-2-(2-hydroxyethylamino)-9-methylpurine
6-BA-3-β-D-glucoside
6-BA-7-β-D-glucoside
6-BA-9-β-D-glucoside
6-BA
6-BA-5-MP・2Na

Zeatin

cis-Zeatin
trans-Zeatin-9-β-D-glucoside
(±)-Dihydrozeatin
Dihydrozeatin Riboside
trans-Zeatin, Crystal
trans-Zeatin Riboside
(±)-Dihydrozeatin-9-β-D-glucoside
(±)-Dihydrozeatin Riboside 5'-MP・2Na

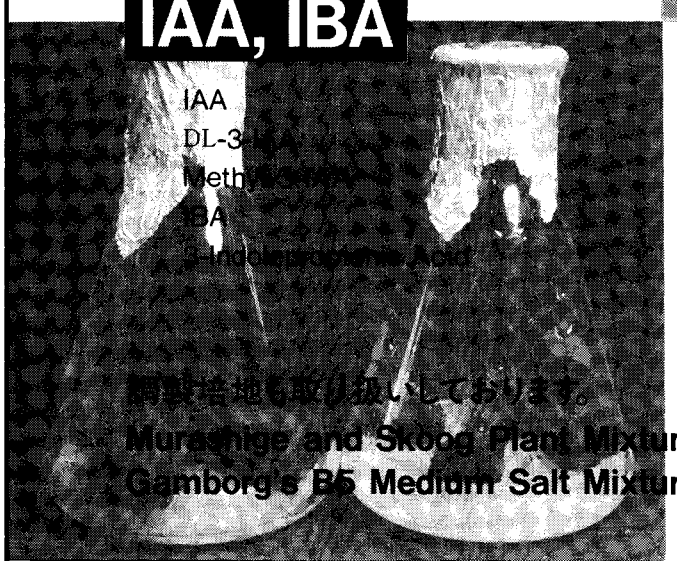
Gibberellin

Gibberellin A_3
Gibberellin A_4

その他

2, 4-D
Chitosan, Water Soluble
6-Chloropurine Riboside 5'-MP・2Na
p-Chlorophenoxyacetic Acid
N^6-(2-Isopentenyl) adenine
N^6-(2-Isopentenyl) adenosine
Isopentenylamine・HCl
Kinetin
Maleic Acid Hydrazide
2-Methylthio-6-chloropurine
2-Methylthio-6-chloropurine-9-β-D-riboside

IAA, IBA



IAA
DL-3-IAA
Methyl-3-IAA
IBA
3-Indolepropionic Acid

調製培地も取り扱いしております。
Murashige and Skoog Plant Mixture
Gamborg's B5 Medium Salt Mixture

＊資料をご請求下さい。

和光純薬工業株式会社

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

素敵な時間を。…… デパート共通商品券 ナイスショップ

美味なる時間を。… レストランお食事券 ナイスグルメ

感動の時間を。…… JTB旅行券 ナイストリップ

JTB
日本交通公社

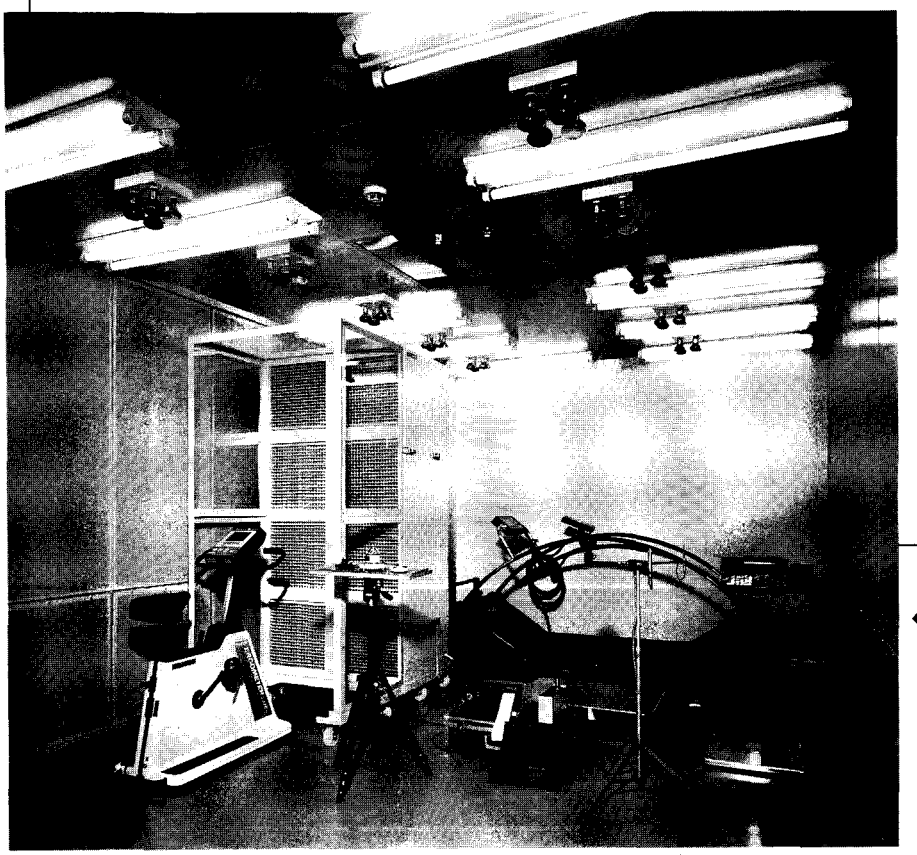
実績と信頼で旅を

トータルにクリエートするJTB

ＪＴＢ鹿児島支店

鹿児島市東千石町2-12　〒892
（Ｋフラットビル2Ｆ）
TEL:　099(226)1515・(227)5205

あらゆる生気象環境をシミュレーションする



人間環境制御計測システム

本システムは、温度-20～+45℃±1℃、湿度30%～80%RH±3%RH（但し+20～+40℃において）の範囲の生気象環境がシミュレーションできるように配慮されており、温度、湿度、気流、人工降雨、人工降雪（雪の結晶）照明、送風、運動負荷装置等の運転制御しながら、もう一方では被験者情報、生体情報をテレメーターシステム（機器を介して）により計測制御装置のCPUに転送してリアルタイムに同時計測することができます。また、梅雨時などに空調装置の冷却コイル等の氷結を未然に防ぐように配慮されています。

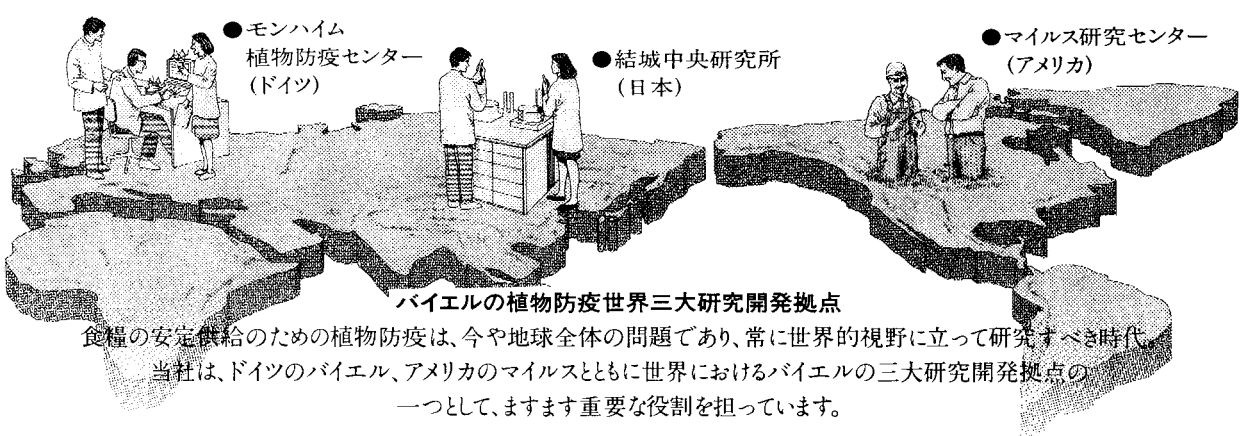
資料請求・お問い合わせは

ABBE SCIENCE COMPANY., LTD.
ABBE アッベ科学株式会社™

本　　社
〒160 東京都新宿区大京町29番地
TEL(03)3359-0361　FAX(03)3341-7913
千葉営業所　　TEL(043)273-1175
甲府営業所　　TEL(0552)43-2451
八王子営業所　TEL(0426)45-4866

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、アメリカのマイルス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。

新しい時代のニーズにあった夢の殺虫剤

アドマイヤー®

■ユニークな殺虫作用で好評！

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

講談社の自然科学専門書

胚発生学の基本的事項をもれなく解説

植物の発生学 ―植物バイオの基礎―

新刊

S.S.ボジュワニ・S.P.バトナガ　著／足立　泰二・丸橋　亘　訳

A5・222頁・定価4,500円(税込)

園芸学，育種学などでの品種改良・増殖・遺伝子組換えの実験的基礎となる胚発生学の基本的事項をもれなく解説。植物のバイオテクノロジーを目指す若い学生，とくに園芸学・植物遺伝・育種学・応用生物工学・園芸繁殖学・資源生物学を学ぼうとする者にとっては必須である。

主な内容：1．研究小史　2．花　3．小胞子嚢　葯壁／胞子形成組織　**4．雄性配偶体**　栄養細胞および雄原細胞の形成／精細胞の形成／成熟花粉の内的体制／細胞質的形質の遺伝／花粉壁／花粉壁の特徴　**5．大胞子嚢**　胚珠のタイプ／珠皮／珠心／大胞子形成　**6．雌性配偶体**　胚嚢の型／成熟した胚嚢／胚嚢の吸器的行動／胚嚢の栄養　**7．受粉**　葯の裂開／花粉の移送／人工受粉　**8．受精**　花粉の発芽と花粉管の成長／重複受精　**9．胚乳**　胚乳の発達／胚乳の細胞学／胚乳の機能／形態形成　**10．胚**　接合子／胚発生／前胚／胚柄／異常な形状／胚の栄養　**11．多胚性**　多胚性の原因／多胚性の実験的誘発／多胚性の実用的な価値　**12．アポミクシス**　栄養生殖／アガモスパーミー（無融合種子形成）／アポスポリー（無胞子生殖）／アポミクシスの原因　**13．種子**　種子の発達／生理・生化学　**14．実験発生学と応用発生学**　植物組織培養法／半数体の作出／胚培養／珠心の培養／胚珠と種子の培養／子房培養／果実肥大に対する幼種子の影響／単為結実／生殖過程を利用した形質転換

東京都文京区音羽2－12－21
振替 東京8－3930

講談社

編集部☎03(3235)3701
販売部☎03(5395)3624

培風館

植物ホルモンハンドブック　全2巻

高橋信孝，増田芳雄共編

A5判　上巻672頁　定価 9270円　(〒450円)
下巻448頁　定価 7210円　(〒380円)
セット価格　定価14832円　(〒520円)

植物ホルモンの化学，生理，生化学および農業・園芸への応用など研究成果の概要と主要な文献を整理してまとめた。上巻では総論およびジベレリン，オーキシン，サイトカイニンについて，その研究状況を紹介。下巻では，アブシジン酸，エチレン，プラシノステロイドおよび天然植物生長調節物質，除草剤，植物化学調節剤について，化学，生合成と代謝，個体から分子レベル迄の生理作用等を主要な文献と共にまとめた。

〈主要目次〉

―― 上巻 ――

1章植物ホルモンとは　2章ジベレリン―研究の歴史／化学／生合成と代謝／生理作用　3章オーキシン―研究の歴史／化学／生合成と代謝／生理作用　4章サイトカイニン―研究の歴史／化学／生合成と代謝／生理作用

―― 下巻 ――

5章アブシジン酸―研究の歴史／化学／生合成と代謝／生理作用　6章エチレン―研究の歴史／生合成／生理作用　7章プラシノステロイド―研究の歴史／化学／生合成と代謝／生理作用　8章植物ホルモンの相互作用　9章天然植物成長調節物質―ジャスモン酸／ポリアミン／植物起源の植物成長調節物質／微生物起源の植物成長調節物質　10章除草剤と植物化学調節剤―除草剤の生理作用／植物成長調節剤

〒102
東京都千代田区
九段南 4-3-12

TEL(03)3262-5256
振替 00140-7-44725

化学英語の基礎
＝和英・英和用例辞典

野崎 亨著　A5・176頁　定価2472円　(〒310)

著者によって厳選された，化学論文でよく用いられる基本的な語句や英熟語を含んだ用例英文と語句に対応した和訳をスマートにまとめた。英和・和英辞典的に使える充実した索引により，英作文や和訳の上達に最適。

糖鎖の科学入門

岩瀬仁勇・大西正健・木曽　眞
平林義雄・山本憲二　共著

A5・224頁　定価2987円　(〒310)

第3の分子生物学として注目されている糖鎖について，糖の結合の仕方・多様性などの基本から，受精・細胞認識などの生命現象やがん・免疫の作用などの病態にどのように関与しているかといった応用まで解説。

植物細胞壁と多糖類

桜井直樹，山本良一，加藤陽治共著

A5・272頁　定価3900円　(〒380円)

細胞壁の利用法，役割，成分等の基礎概念から応用までを細胞壁の主成分である多糖類と絡ませて意欲的に解説。さらに多糖類研究の実験例等も具体的に紹介している。関連分野の学生や研究者の参考書に好適。

新製品 NEW PRODUCT

MicroIncubator M-36
(恒温・攪拌)

学術と産業に貢献します
TAITEC

型名	M-36
温度制御範囲	室温＋5～60℃
温度制御精度	±0.1℃以内
温度最小単位	0.1℃
温度調節器	UP/DOWN入力　PID制御
安全器	高温安全器、過電流保護
攪拌モーター	DCモーター
攪拌方式	旋回攪拌式
回転振幅	2.0mm
制御回転数	二段　切り換え式 300～1000r/min(LOW.RANGE) ～2500r/min(HIGH.RANGE)
タイマー	運転用60分タイマー
振動テーブル寸法	270×102mm（外寸）
外形寸法	310×195×190Hmm
重量	約　6kg
価格	¥198,000(※容器ホルダーは含みません)

適用容器 マイクロチューブ	EM-1040	¥10,000
	EM-1036	¥10,000
	EM-0836	¥ 2,700
マイクロタイタープレート	96穴用×2枚架	

●表示価格は消費税を含みません。

本機は極微量試料を使った酵素反応、イムノアッセイ等を恒温下で攪拌しつつ行う事を可能にし、反応の促進、均一化により、短時間で再現性の良い結果を得ることができます。
さらに、極小の試験管、マイクロタイタープレート等を装着でき、多数の微量試料を用いた実験や検査を同時に行うことができる最新機器です。

タイテック株式会社
本社・〒343 埼玉県越谷市西方2693-1

新製品のお問い合わせは
九州TSC. 〒813 福岡市東区多々良1-11-15
TEL. 092-682-1341(代) FAX. 662-1283

日製産業(株)

分光光度計，ガスクロ，液クロ，赤外分光，遠心機，糖度計，
粒度分布測定器，旋光計，ＰＨメーター，塩分計，イオンメーター，
電導度計，微量水分計，滴定装置，水質検査器，公害側定器，工業計器

ヤマト科学(株)

実験室設備，純水製造装置，乾燥器，恒温器，ファーメンター，天秤，
ウォーターバス，温湿度計，密度計，ケルダー分析器

株式会社　テ　ク　ノ

鹿児島市小松原２丁目11番８号
TEL　099-266-0008　　FAX　099-266-0385

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

待望の新刊 「植物細胞工学シリーズ」第４号は実験プロトコール

●イネ・シロイヌナズナの最新の実験テクニックのすべてを紹介！

モデル植物の実験プロトコール（仮題）
－イネ・シロイヌナズナ編－

【監修】島本　功（奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科）
岡田清孝（京都大学理学部）

◆インターナショナル判
◆約230ページ◆予価3,600円

◆内容予定

巻頭カラーページ
遺伝子地図，目で見る形態学
1. 概論
2. 基本的な栽培法
3. 遺伝学的手法
4. 形質転換法と細胞学的手法
5. 分子生物学的手法
6. 種子・情報の入手法と入手先リスト

● 好評発売中●　植物の細胞・オルガネラに関する最新情報をまとめた第3号レビュー集

植物の分子細胞生物学－細胞の構築・ダイナミズム・シグナル応答－

【監修】中村研三（名古屋大・農），福田裕穂（東北大・理），町田泰則（名古屋大・理）

◆228ページ
◆定価3,708円

秀潤社　〒106　東京都港区西麻布4-15-21　第6興和ビル7階
TEL.03-3409-6121（代表）　FAX.03-5485-7715