2pI06

シロイヌナズナの表皮細胞に局在する小胞体由来の新規構造体（ER body）の解析

松島良[1]，林八寿子[2]，山田健志[1]，嶋田知生[1]，西村幹夫[3]，西村いくこ[1]（[1]京大院・理・植物，[2]新潟大・理・自然環境，[3]基生研・細胞生物）

ER bodyは，シロイヌナズナの表皮細胞に存在する約0.5 x 5 μmの細長い構造体である．小胞体局在型のGFP（GFP-HDEL）を発現するシロイヌナズナを用いるとER bodyを可視化することができる．我々はER bodyが粗面小胞体に由来し，液胞へのタンパク質輸送に関わっていることを明らかにした[1)]．今回はER bodyの動的変化についての知見を報告する．ER bodyは幼植物体には大量に存在するが，ロゼット葉には存在しない．また子葉においては，その老化と共に消失する．これらのことは，ER bodyは単なる輸送小胞ではなく，何らかの生物学的意味を持ち，発生段階によって高度に制御されるオルガネラの一種であると考えられる．通常ER bodyを持たないロゼット葉をジャスモン酸メチルで処理をすると，大量のER bodyが誘導された．この結果は，ER bodyの生物学的意味がジャスモン酸と何らかの関係があることを意味する．ジャスモン酸の関与が報告されている傷害ストレスによってもER bodyの誘導が観察された．現在シロイヌナズナを用いて，ER bodyに関する突然変異体のスクリーニングを行っており，突然変異体を数種類得ている．

1）Hayashi, Y. et al.（2001）Plant Cell Physiol. 42, 894-899

2pI07

植物カタラーゼのペルオキシソームへの輸送機構の解明

神垣あかね[1]，寺内白梅薫[1]，真野昌二[2]，二藤和昌[2]，林誠[2]，西村幹夫[2]，江坂宗春[1]（[1]広島大・生物生産，[2]基生研）

多くのペルオキシソームタンパク質はC末端にあるターゲティングシグナル（PTS1）がPTS1レセプター（Pex5p）に認識され、結合することによってペルオキシソームへ輸送される。カタラーゼもペルオキシソームタンパク質の一つであり、C末端にPTS1様のモチーフを持つが、それがペルオキシソームへのターゲティングシグナルとして機能しているかは不明である。

本研究では、植物細胞へ導入発現させたカタラーゼとGFPとの融合タンパク質について、その細胞内局在性を観察することにより、カボチャカタラーゼ(Cat1)のターゲティングシグナルについて検討した。その結果、PTS1のコンセンサス配列に合致しているC末端側から-11位--13位のグルタミン-リジン-ロイシン（Q-K-L）が内部PTS1として機能していると推測された。そこで、Cat1が実際にPTS1系によって輸送されているのかを調べるため、酵母two-hybrid系を用いてPTS1レセプター（Pex5p）との結合解析を行った。その結果、Cat1がシロイヌナズナのPTS1レセプター*At*Pex5pと結合することが示され、Cat1がPTS1系によって輸送されることが示唆された。さらに、Cat1のどの領域がPex5pと結合するか解析中である。

2pI08

液胞輸送レセプターPV72の過剰発現シロイヌナズナの解析

渡辺悦子[1,2,3]，嶋田知生[1]，黒柳美和[1]，西村幹夫[2,3]，西村いくこ[1]（[1]京大院・理，[2]基生研・細胞機構，[3]総研大・生命科学）

私達は，種子タンパク質のプロ型を大量に含むPAC小胞の膜分画から2Sアルブミンのプロ領域と結合するPV72を見いだした．最近，PV72と2Sアルブミンのプロペプチドとの結合・解離がカルシウムよって制御されていることを証明した．液胞タンパク質の液胞輸送レセプターであると考えられるPV72のルーメン側ドメインに小胞体局在化シグナルを付加した融合タンパク質（PV72-HDEL）をシロイヌナズナに異所的に過剰発現させ，液胞タンパク質の輸送をin vivoで解析した．その結果、PV72-HDELの過剰発現はAtALEUのプロ型タンパク質の蓄積を引き起こすことを見いだした．AtALEUは液胞輸送シグナルのひとつであるNPIR配列をもつプロテアーゼである．更に，PV72-HDELとプロ型AtALEUがin vivoで結合していること，及びその結合・解離がカルシウム依存的であることを示した．これらの結果は，PV72がin vivoで液胞輸送レセプターとして機能し，リガンドとの結合・解離がカルシウムによって制御されていることを示唆している．

2pI09

シロイヌナズナ重力屈性異常変異体*zig*のsuppressor因子の分子遺伝学的解析

新濱充[1]，森田(寺尾)美代[1]，山内喜朗[2]，田坂昌生[1]（[1]奈良先端大・バイオ，[2]京大院・理）

我々は高等植物の重力屈性の分子機構を理解するために花茎の重力屈性異常変異体をシロイヌナズナから単離して解析している。その1つである*zigzag stem (zig)-1*は劣性の変異体であり、重力屈性異常に加えて、花茎が節で折れ曲がりジグザグな形態を示す。その原因遺伝子*ZIG*は、液胞への小胞輸送に関与するSNAREの1つであるAtVTI11をコードしていた。花茎の重力感受は、重力方向に移動するアミロプラストを含む内皮細胞層で行われる。そして、*zig*ではこの細胞内のアミロプラストの分布が異常であった。また、*zig*ではこの細胞以外の細胞においても液胞構造に異常が見られた。本研究は形態形成および重力屈性における液胞への小胞輸送の関与をさらに理解することを目的とし、*zig-1*変異体のサプレッサー変異体を多数分離して解析を進めている。*zig suppressor (zip) 1*変異は*zig-1*変異体において見られた形態および重力屈性における異常を完全に抑制する。そして、*zip1 zig-1*の内皮細胞内のアミロプラストも重力方向に正常に沈降していた。また遺伝学的解析から*zip1*は*zig-1*変異に対して優性に機能することがわかった。*ZIP1*は第1染色体上の40cM付近に座乗すると予想された。

2pI10

種子貯蔵タンパク質のプロセシングに異常を示すシロイヌナズナ変異体の解析

片岡未裕希[1]，嶋田知生[1]，山田健志[1]，西村幹夫[2]，西村いくこ[1]（[1]京都大院・理，[2]基生研・細胞機構）

多くの液胞タンパク質は前駆体として合成され，液胞内で液胞プロセシング酵素（VPE）により成熟型に変換される(1, 2)．液胞内プロセシング機構の解明を目的として，シロイヌナズナ変異体を用いた解析を行った．

種子貯蔵タンパク質12Sグロブリンと2Sアルブミンの前駆体を蓄積している変異体*bvpe*のアリルをこれまでに4種類単離している(3)．これらの変異体は全て，種子型VPE（βVPE）のDNA配列上に変異を持っていた。登熟*bvpe*種子中のVPE活性は，野生型に比べて著しく減少していた．*bvpe*種子に蓄積している貯蔵タンパク質の分子形態を網羅的に解析したところ，2SアルブミンはAspartic proteinase（AP）によりプロセシングされた分子種が多く蓄積していた．変異体種子では，βVPE以外のVPEホモログ（αVPE・γVPE）とAPが協調的に貯蔵タンパク質のプロセシングに関わっていることが明らかになった．

(1) Hara-Nishimura *et al.*, (2000) In Vacuolar Compartment in Plants, pp 20-42.
(2) Yamada *et al.*, (1999) J. Biol. Chem., 274, 2563-2570.
(3) Kataoka *et al.*, (2000) Plant Cell Physiol., 42, s45.

2pJ01

Cloning and Characterization of a Novel Sucrose Transporter Gene, *OsSUT3* from Rice

廣瀬竜郎[1]，Graham N. Scofield[2]，青木直大[2]，Paul Whitfeld[2]，Robert T. Furbank[2]（[1]中央農研・北陸研究センター，[2]CSIRO Plant Industry, Australia）

We report the isolation of a full-length cDNA and corresponding genomic clone coding for a novel sucrose transporter, *OsSUT3* from rice. The open reading frame of 1518bp encodes a 506aa-residue protein which is predicted to have twelve membrane-spanning helices, typical of the superfamily of membrane transporters. The predicted peptide sequence for OsSUT3 shows about 70% identity to the other known cereal SUT1 proteins. The genomic structure of *OsSUT3* shows differences to that of *OsSUT1*. The *OsSUT1* gene has 13 introns and 14 exons, while *OsSUT3* has 9 introns and 10 exons. Southern analysis revealed that *OsSUT3* is present as a single gene in the rice genome. RT-PCR analysis showed that it expressed in various sink and source organs of rice plant. Heterologous expression of the *OsSUT3* cDNA in yeast revealed that OsSUT3 is a functional sucrose transporter. Potential roles of OsSUT3 in comparison with OsSUT1 will be discussed.

2pJ02

オオムギ根においてマンノースで誘導される遺伝子の検索

柴坂三根夫[1]，趙白皓[2]，笠毛邦弘[1]（[1]岡山大・資生研，[2]全南大）

土壌中にはグルコース、ガラクトース、マンノースなどの数多くの単糖が含まれている。これらの糖は、主に腐敗した植物など土壌に含まれている多糖類が分解される過程で生じたものである。土壌中に含まれている単糖糖の量は土壌有機物1 kg当り数mgから数百mgである。ミリモル濃度（5-25 mM）の糖が植物の養分吸収に影響を及ぼすことは以前から知られているが、我々は数種の単糖類及びオリゴ糖類はマイクロモル希薄溶液（200 μM）で大麦幼植物の根におけるカリウム輸送に顕著な影響を及ぼすことを既に報告した。すなわち、ミリモル濃度のグルコースがカリウム輸送に顕著な促進効果を示すのに対し、蔗糖やリボースは影響がない。しかし、マイクロモル濃度ではグルコースにはほとんどその効果が見られず、蔗糖とマンノースが促進的、キシロースとリボースが阻害的に作用した。さらに、阻害剤を用いた実験によると、マンノースによるカリウム輸送の促進はmRNA及びタンパク質のde novo合成が必須であることが分かった。そこで、マンノースがどのような遺伝子の発現を誘導するかをPCR-Select cDNA subtractionを用いて検索を行ない、その遺伝子の単離を試みている。水耕栽培による発芽5日のオオムギ幼植物を用いてその培養液に200 μMのマンノースを加え24時間後に、マンノース無添加の対照区とそれぞれmRNAを抽出し、サブトラクションに用いた。

2pJ03

イネスクロースストランスポーター遺伝子OsSUT1プロモーターの機能解析

Budsaraporn Ngampanya[1,2]，池田亮[1]，Jarunya Narangajavana[2]，松倉千昭[3]，峯利喜[3]，樋江井祐弘[3]，日吉徹[3]，山口淳二[1]（[1]北大院・理，[2]タイ・マヒドール大，[3]（株）オリノバ）

イネスクロースストランスポーター遺伝子*OsSUT1*は、*in situ* mRNA 検出法によって、維管束篩部伴細胞において発現することを明らかにした（Matsukura et al. 2000. Plant Physiol. 124: 85-94）。*OsSUT1*遺伝子の伴細胞特異的な発現機構を解明するため、このプロモーター領域の機能解析を行った。*OsSUT1*遺伝子の3種類のプロモーター領域（OsSUT1-p-1, -1008/+6; OsSUT1-p-2, -456/+6; OsSUT1-p-3, -306/+6）とGUS遺伝子との融合遺伝子を形質転換したイネを作成した。OsSUT1-p-1では、維管束篩部でのみの発現が観察されたのに対し、OsSUT-p-2および-3では、その発現特異性が失われた。この遺伝子は、緑葉・葉鞘以外にも出穂・開花・登熟期の節や節間、花器官において維管束篩部特異的かつ時期特異的なプロモーター活性を有することが明らかとなった。

2pJ04

マイクロアレイを用いたイネ葉鞘のシンク-ソーストランジションの解析

高橋咲子[1]，石丸健[1]，小曽根睦[1]，矢崎潤史[1]，藤井文子[2]，真保佳納子[2]，山本公子[2]，坂田克巳[1]，佐々木卓治[1]，岸本直己[1]，菊池尚志[1]（[1]農業生物資源研，[2]農林水産先端研）

イネでは、上位葉鞘は出穂前に一時的なシンクとしてデンプンを蓄積し、出穂後はソースとして蓄積したデンプンを分解し穂に送り出している。最近、出穂後にデンプン合成系の酵素遺伝子の発現量が減少する一方、ショ糖合成系の酵素遺伝子及びショ糖トランスポーター遺伝子の発現量が増加することが報告された。そこで本研究では、葉鞘のシンク-ソーストランジションの制御機構についてさらに詳細に解析するため、イネESTマイクロアレイ（8987クローン）を用いた大規模遺伝子発現モニタリングを行い、出穂期葉鞘で生育ステージにより発現量の変化する多数の遺伝子を同定した。同定した遺伝子群中には、新規シンクーソ-ストランジション関連遺伝子の候補となる3遺伝子が含まれていた。一方、従来の知見に反してデンプン分解酵素の遺伝子が出穂前のデンプン蓄積期に発現している事が明らかになった。さらにマイクロアレイ解析の結果より、出穂期葉鞘ではデンプン代謝の切り替えと同時期に、光合成の開始及びそれに伴う炭素代謝の切り替えが起きていることが示唆された。これらの結果をもとにデンプン及びショ糖代謝関連の酵素遺伝子の発現パターンの意義について再考し、新たな葉鞘のシンク-ソーストランジションのモデルについて議論する。

2pJ05

イネケイ酸吸収欠損変異体の単離と解析

馬建鋒[1]，玉井一規[1]，呉国峰[1]，一井真比古[1]（[1]香川大・農）

Rice is a typical Si-accumulating plant. We isolated a rice mutant (GR1) which is defective in active Si uptake by screening M_2 seeds (64000) of rice (cv. Oochikara) that were treated with sodium azide. There were no differences in the phenotype between wild type (WT) and GR1. Uptake experiment showed that Si uptake by the GR1 was significantly lower than that by WT at either low or high Si concentration. However, there was no difference in the uptake of other nutrients such as P and K. The Si uptake by WT was inhibited by metabolic inhibitors including NaCN, 2,4-dinitrophenl and low temperature, while the Si uptake by GR1 was not inhibited. These results suggest that an active transport system for Si uptake is defective in GR1. Analysis of F_2 populations between GR1 and WT showed that GR1 is a recessive mutant of Si uptake.

2pJ06

シロイヌナズナのホウ素輸送におけるBOR1の役割

高野順平[1]，小林正治[1]，野口享太郎[1]，安森美帆[1]，三輪京子[1]，林浩昭[1]，米山忠克[1]，藤原徹[1]（[1]東京大院・農）

ホウ素は植物の微量必須元素である。シロイヌナズナ変異株*bor1-1*は低ホウ素条件での生育が野生型植物に比べて劣り，ロゼット葉のホウ素濃度が野生型植物に比べて低い。安定同位体を用いたトレーサー実験によると，*bor1-1*変異株では導管へのloadingが野生型植物に比べて劣っている。BOR1遺伝子をマッピングと相補試験で同定した。BOR1は10回の膜貫通領域を持つタンパク質であり，シロイヌナズナには6つの相同遺伝子が存在する。イネ，ダイズ，トウモロコシなど多くの植物にも相同遺伝子が存在していた。*BOR1*は根で主に発現しており，根のpericycleで強い発現が観察された。*BOR1*を酵母で発現させると，酵母のホウ酸濃度が低下したことから，BOR1はホウ素を排出する活性があることが推測された。ホウ素は主にホウ酸として吸収される。ホウ酸は中性では電荷を持たず，膜の透過性が高いことが知られている。ホウ酸は根では受動的にシンプラストに取り込まれ，導管への積み込みの際のシンプラストからアポプラストとへのホウ素の汲み出しにBOR1は関わっていると考えられる。相同性遺伝子が植物に広く存在することから，このような機構は植物一般にあてはまるものと推定している。

2pJ07

シロイヌナズナのプラスチド局在性硫酸イオントランスポーターT-DNAタグラインの解析

高橋（渡部）晶子[1]，山谷知行[1,2]，高橋秀樹[1]（[1]理研・植物科学研究セ，[2]東北大院・農）

高等植物はプラスチドにおいて硫酸イオンを還元し、含硫アミノ酸であるシステイン・メチオニンを合成する。シロイヌナズナのゲノム上には12個の硫酸イオントランスポーター遺伝子(Sultr)が存在し、その特徴により4つのグループに類別される。プラスチド移行性シグナル配列を持つグループにはSultr4;1、Sultr4;2が存在する。GFP融合タンパク質を用いた解析からSultr4;1、Sultr4;2はプラスチドに局在し、システイン合成系への硫酸イオンの供給に重要な役割を果たしていると考えられる。

今回、Sultr4;1にT-DNAの挿入をもつ変異体を単離し解析した。Sultr4;1翻訳開始コドンから9 bp下流にT-DNAの挿入をもつ*sultr4;1-1*は、T-DNAボーダー領域に存在するマンノピン合成酵素プロモーターによりSultr4;1 mRNAの過剰な蓄積がみられた。sultr4;1-1は野生型に比べ小さく、Sultr4;1 mRNAの過剰蓄積にともなう表現型であると考えられる。Sultr4;1の第7イントロンにT-DNAの挿入をもつ*sultr4;1-2*ではSultr4;1 mRNAの蓄積はみられなかった。地上部・地下部とも野生型に比べ硫酸イオンを多く蓄積し、硫酸代謝産物であるシステイン含量が減少した。

2pJ08

シロイヌナズナ硫酸イオントランスポーター *Sultr3;4*、*Sultr3;5* の機能解析

林尚美[1]，高橋（渡部）晶子[1]，井上恵理[1]，山谷知行[1,2]，高橋秀樹[1]（[1]理研・植物科学研究センター，[2]東北大院・農）

シロイヌナズナには、組織特異的に発現する12種の硫酸イオントランスポーターが存在し、これらは配列の相同性から4つのグループに分類される。本研究では、このグループ3に分類される*Sultr3;4*、*Sultr3;5*の単離と機能解析を行った。

Sultr3;4、*Sultr3;5*はそれぞれ653、635アミノ酸をコードする遺伝子である。硫酸イオンに対し高親和性のグループ1トランスポーター、低親和性のグループ2トランスポーターと類似した膜貫通構造をもつと予想されたが、グループ3の*Sultr3;4*、*Sultr3;5*は酵母の硫酸イオントランスポーター欠損株を相補することができなかった。RT-PCRの結果から、*Sultr3;4*、*Sultr3;5* のmRNAは葉より根に多く蓄積し、その蓄積量は培地中の硫酸イオン濃度に非依存的であった。また、プロモーター領域とGFPの融合遺伝子を導入した形質転換シロイヌナズナの観察より、*Sultr3;4* は根の篩部及び伸長領域の内皮、*Sultr3;5*は根の中心柱で発現していることが明らかとなった。現在、*Sultr3;4* アンチセンス形質転換体と、*Sultr3;5*　遺伝子の第8エクソンにT-DNAの挿入をもつシロイヌナズナ変異体について解析を行っている。

2pJ09

MUSI法によりイネ葉篩管に導入した篩管タンパク質の長距離移行の検出

青木考[1]，藤巻秀[2]，藤原徹[2]，林浩昭[2]，山谷知行[1]，榊原均[1]（[1]理研・植物セ，[2]東大院・農・応生化）

It has been established that the phloem is a transport pathway of the information macromolecules such as protein. However, the mechanisms how the long-distance transport of protein is controlled are not characterized so far. We approached this question by introducing labeled phloem protein, and following their long-distance movement. To produce the tracer protein, we labeled the phloem sap protein from pumpkin (*Cucurbita maxima*) covalently by using biotin. Biotinylated pumpkin proteins were then introduced into the phloem of rice (*Oryza sativa*) leaf sheath by using Microintroduction Using Stylet of Insect (MUSI) method. The introduced protein was successfully detected in the sheath of sample-applied leaf, systemic leaves, and in the root, but not in the blade of sample-applied leaf. Interestingly, the profile of systemically moved protein in the leaf is different from the one in the root, implying that either transport or unloading of individual phloem protein is differentially regulated.

2pK01

硫黄栄養応答性プロモーター断片を用いたグルタチオン及びOSAの遺伝子発現への影響解析

曽川能任[1]，大鎌直子[1]，林浩昭[1]，米山忠克[1]，藤原徹[1]（[1]東大院・農）

我々はダイズ種子貯蔵タンパク質の硫黄栄養応答性プロモーターとGFPを用いて、硫黄欠乏によりGFP蛍光強度が増加する形質転換シロイヌナズナ（NOB）を作成した。本研究では、植物体中の硫黄代謝産物の変動とGFP蛍光強度で示される硫黄栄養応答性遺伝子のプロモーター活性変化との関係を調べることで、硫黄栄養に応答する遺伝子の発現制御機構についての知見を得ることを目的としている。硫黄栄養応答性遺伝子に対して影響があると報告されているグルタチオン（GSH）、アセチルセリン（OAS）について、この形質転換体を用いてその影響を調べた。その結果、硫黄欠乏培地にGSHを添加するとGFP蛍光強度が低下することが明らかとなった。またGSH生合成阻害剤を硫黄十分培地に添加することによりGFP蛍光強度が増加することが明らかとなった。それぞれの処理にしたがって植物体中のGHS含量は有意に変化していた。これによりGSHは用いた硫黄栄養応答性プロモーターに対して負の制御をすることが示唆された。一方、硫黄十分培地にOASを添加するとGFP蛍光強度が増加することが明らかとなったことより、OASは正の制御を行うことが示唆された。現在、GHS, OASを同時に添加する実験を行っており、今のところOASの方がGSHよりも優位であることが示唆されている。

2pK02

A possible role of Sac3 homologous genes in sulfur regulated gene expression

木村智子[1]，柴垣奈佳子[2]，John P. Davies[3]，林浩昭[1]，米山忠克[1]，藤原徹[1]（[1]東大院・農，[2]Carnegie Institution of Washington Department of Plant Biology, USA，[3]Exelixis Plant Sciences, Oregon 97224, USA）

To elucidate molecular mechanism of sulfur nutrition-regulated gene expression in higher plants, we focused on the role of specific protein kinases in *Arabidopsis thaliana*, which are homologous to *Sac3*, a gene required for sulfur-regulated gene expression in *Chlamydomonas reinhardtii*. Disruption in the *Sac3* gene results in constitutive sulfur-deficiency response. In this study, we describe an *A.thaliana* mutant plant, TF7B, carrying a T-DNA insertion in *Sac3* homologous gene At5g66880. We analyzed mRNA accumulation corresponding to the *Sac3* homologous gene by quantative Realtime-PCR. The mRNA levels of At5g66880 was extremely reduced in TF7B. We then analyzed mRNA accumulation correspoding to a sulfate transporter gene, *Sultr2;2*, in rosette leaves. Accumulation of the *Sultr2;2* transcript is known induced under sulfur-deficiency. Accumulation of the *Sultr2;2* transcript in TF7B was about two-fold higher than the wild type plants under sulfur-sufficiency. This results suggest that At5g66880 is an important component for the sulfur-nutrition regulated expression of *Sultr2;2*.

2pK03

外部硫酸イオン濃度に応答した硫酸イオントランスポーターのmRNA蓄積に関与する情報伝達系

仲下（丸山）明子[1]，高橋秀樹[1]（[1]理研・植物科学研究センター）

植物の硫黄同化系は、外部からの硫酸イオンの取り込み、数段階の還元反応による硫化物イオンの生成、硫化物イオンからのシステイン合成、これに続くメチオニンやグルタチオンの合成、という過程を経て行われる。植物が硫黄欠乏にさらされると、硫黄同化系で働くいくつかの酵素の活性および遺伝子発現が上昇するが、その中で最も強く応答するのが、硫酸イオントランスポーター(*Sultr*)である。現在までに植物体内外の硫黄濃度の感知機構、硫黄栄養に応答した遺伝子発現の調節機構についてはほとんど知られておらず、今回阻害剤を用いることにより新しい知見を得たので報告する。シロイヌナズナでは12種の*Sultr*が存在しており、このうち外部硫酸イオン濃度に対して強く応答するものとして *Sultr1;1*、*Sultr2;1*があげられる。これらのmRNAは、シロイヌナズナの地下部において硫酸イオン濃度に反比例して蓄積する。転写阻害剤、タンパク質合成阻害剤を用いた解析により、硫酸イオン濃度が減少した際のmRNAの蓄積は主にmRNAの安定化によっていること、このmRNAの安定化には新規のタンパク質合成が必要であることが示された。また、リン酸化、脱リン酸化阻害剤を用いた解析により、このmRNAの安定化に脱リン酸化反応が関わることが示唆された。現在、これらのSultr発現のレポーター形質転換植物を作成し、より詳細な解析を進めている。

2pK04

気孔開閉に対する一酸化窒素(NO)の影響

崎浜靖子[1]，山崎秀雄[1]（[1]琉球大・理・海洋自然）

一酸化窒素（NO）は生体内で生成されるフリーラジカルの一種である。ヒトでは、血管拡張、神経信号伝達、免疫等の生理現象において重要な役割を果たしていることが分かっている。植物でも、病原菌感染応答防御反応や生長制御等の様々な機構にNOが関与する可能性が指摘されているが、動物の系に比べてまだ報告例は限られている。本研究では、NOが気孔開閉の信号伝達系に関与することを報告する。ソラマメの葉から剥離した表皮をNO 発生剤である *S*-nitroso-*N*-acethylpenisilamine（SNAP）で処理し、20分後の気孔開度を測定した。その結果、SNAPを添加した場合、無処理のものに比べ有意に気孔開度が上昇した。植物細胞内において、亜硝酸は硝酸還元酵素の触媒によりNOに変換される。剥離した表皮を亜硝酸で処理した場合にも同様に気孔開度の上昇が観察された。この開口は、亜硝酸濃度に依存しており、約1mMで飽和に達した。次に、ヒト勃起不全治療薬であるViagra（sildenafil citrate）の気孔閉口に対する効果を調べた。表皮を過酸化水素で処理すると気孔閉口が誘導された。しかし、Viagraで処理した表皮では過酸化水素による気孔閉口が抑制された。以上の結果から、気孔開閉メカニズムにヒトと同様なViagra感受性のNO依存性信号伝達系が存在することが示唆される。

2pK05

糖誘導性のスポラミン:LUC融合遺伝子の発現が低下したシロイヌナズナ変異株の解析

山田万希子[1]，西井照美[1]，森上敦[2]，中村研三[1]（[1]名古屋大院・生命農，[2]中部大・応用生物）

糖シグナル応答は種々の植物遺伝子の発現制御を始め、植物生長の様々な局面で重要な役割を担い、近年では複数の植物ホルモンシグナリングとの密接な関係が報告されている。我々は、シロイヌナズナに導入したサツマイモのスポラミン遺伝子由来の糖応答性最小プロモーターとルシフェラーゼとの融合遺伝子(*Spo^{min}::LUC*)の糖に応答した発現が顕著に低下した*lsi*型変異株と、顕著に高くなった*hsi*型変異株を多数単離している。ここでは、28ラインの*lsi*型変異株について特にABA応答との関係に着目して解析を進めた。

Spo^{min}::LUC の発現は野生型株では糖のみならず ABA によっても誘導されるが、変異株の中には発現が糖とABA双方に低感受性を示すものに加え、糖による誘導以上にABAによる誘導が著しく低下したものや、ABA による誘導はほぼ野生型を示すものが得られた。LUCレポーターの糖に応答した発現にはABAを介した経路とABA非依存的な経路の存在が示唆された。変異株の中には、*abi*や*gin*変異株のように種子発芽のグルコースやABAに対する感受性が低下しているものも含まれているが、種子発芽のグルコースやABAへの感受性には異常が見られない変異株も含まれた。現在、これら変異株における糖あるいはABAに応答する内在性遺伝子の発現パターンの解析などを進めている。

2pK06

14-3-3蛋白質による転写活性化因子RSGの機能制御機構

石田さらみ[1]，湯淺高志[2]，高橋陽介（[1]東京大院・理学系，[2]東京大院・総合文化）

RSGはジベレリン生合成系の酵素を標的とし、ジベレリン内生量を調節することによりシュートの成長を制御するbZIP型転写活性化因子である。RSGを中心とする転写制御系のネットワークを明らかにするため、RSGと相互作用する蛋白質の検索を行った。その結果、真核生物に広く保存された制御因子である14-3-3蛋白質の単離・同定に成功した。これまでの解析により、14-3-3はRSGを負に制御することを明らかとしている。さらに、14-3-3によるRSGの活性調節には、1) RSGの114番目のセリン残基が必須であること、2) RSGの細胞内局在性の変化を伴うことを解明した。

これらの結果から、1) RSGのリン酸化が14-3-3との相互作用に必要であること、2) 14-3-3との相互作用によりRSGの核-細胞質間輸送が調節されることが推測される。これを明らかにするために、1) RSGのS114部位のリン酸化が14-3-3との結合に及ぼす効果を調べ、S114部位を特異的にリン酸化するカイネースの探索を行った。2) RSG及び14-3-3と結合できない変異体RSG（S114A）と核内・核外輸送に関わる因子との相互作用について解析を行った。また、RSGを核移行させるシグナルについても検討を加えた。

2pK07

シアノバクテリア*Synechocystis* sp. PCC 6803における運動に関与した転写因子、Sll1626の生化学的解析

亀井綾子[1]，岡島公司[1]，小林玲児[1]，耿暁星[1]，池内昌彦[1]（[1]東大・教養・生物）

我々は2001年の本大会において*Synechocystis* sp. PCC 6803における*lexA*様*sll1626*遺伝子が大腸菌のLexAとは異なり、運動性に関係した遺伝子などの発現を調節することを報告した。

DNA チップによって発現量の変動が確認された複数の遺伝子はノーザンハイブリダイゼーションでも同様の結果が確認された。*sll1626*遺伝子破壊株で発現量が減少していた*slr2015*、*slr2016*、*slr2017*の個々の遺伝子破壊株において、*sll1626*遺伝子破壊株と同様に運動性が失われた。Sll1626の生化学的解析を行うため、N末端にHis-tagをつけた融合タンパク質としてSll1626を大腸菌で大量発現、精製した。*sll1626*遺伝子の上流配列をプローブとしてゲルシフトアッセイを行った結果、Sll1626が結合することが明らかになった。一方、大腸菌のLexAはアルカリ条件で自己切断が起こることが知られているが、Sll1626は自己切断部位が保存されているにも関わらず自己切断の明確な結果は得られなかった。これらの結果はSll1626が大腸菌とは異なるメカニズムによりその活性が制御されていることを示唆している。Sll1626のDNA結合領域について現在検討しているので合わせて報告する予定である。

2pK08

イネ、タバコ培養細胞で発現する膜電位依存性Ca^{2+}チャネル候補遺伝子のクローニングと機能解析

来須孝光[1]，渡邊崇[1]，小笠原よう子[1]，矢柄寿一[1]，朽津和幸[1,2]（[1]東京理科大・理工・応用生物科学，[2]東京理科大・ゲノムセンター・細胞シグナル制御）

植物のシグナル伝達におけるCa^{2+}動員機構の一つとして、陰イオンチャネルの活性化等により膜電位の脱分極が誘導されると、細胞膜の膜電位依存性Ca^{2+}チャネルが活性化される可能性が考えられる。例えばイネ培養細胞がオリゴ糖エリシターを認識し生体防御反応を誘導するシグナル伝達過程において、一過性の膜電位脱分極と細胞膜を介したイオンフラックスが誘導される。またタバコ培養細胞BY-2をタンパク質性エリシターで処理すると、過敏感細胞死の誘導に先立ち、二相性の細胞内Ca^{2+}濃度上昇が観察された。イネ培養細胞においても、別のタンパク質性エリシターにより過敏感細胞死が誘導され、その過程にイオン濃度変化、活性酸素種の生成，46kDaプロテインキナーゼの活性化等が関与する可能性が明らかとなった。しかしこうしたCa^{2+}動員やイオンフラックスの分子機構はほとんど未解明である。そこで、最近Arabidopsisで報告された膜電位依存性Ca^{2+}チャネル候補遺伝子*AtTPC1*に類似した分子が、こうしたシグナル伝達過程に関与している可能性を検討するため、相同遺伝子の探索を試みた。その結果、培養細胞で発現している相同遺伝子をイネ、タバコ(BY-2細胞)で同定した。このような遺伝子産物の性質や機能解析について報告し、ストレス誘導性のCa^{2+}動員における意義について考察したい。

2pL01

オゾンにより誘導されるWsの葉の可視障害はエチレン生成により促進される

玉置雅紀[1]，松山崇[1,2]，中嶋信美[1]，青野光子[1]，久保明弘[1]，佐治光[1]（[1]国立環境研究所，[2]豊田中央研究所）

オゾンは光化学オキシダントの主成分であり、植物に取り込まれると葉に可視障害を引き起こす。近年、この可視障害発現の過程は非病原性バクテリアの感染による過敏感反応に類似していることが示唆されている。本発表では異なるオゾン耐性を示すシロイヌナズナ生態型ColとWsの可視障害発現に対するエチレンの関与について報告する。

0.2ppmのオゾン暴露によりWsではColに比べ葉の可視障害、葉からのイオンの流出がより顕著に現れた。ストレス誘導性遺伝子のノーザンハイブリダイゼーションの結果、オゾン暴露によりエチレン誘導性遺伝子、及びサリチル酸誘導性遺伝子の発現がWsにおいてColより顕著に高くなっていた。これらの発現を経時的に調べたところWsにおけるエチレン誘導性遺伝子の発現上昇はサリチル酸誘導性遺伝子の発現上昇より早く起こっていた。また、オゾン暴露によりWsでは暴露後3時間目にColの約2倍のエチレンを発生し、エチレン合成の律速となるACC合成酵素の発現誘導もWsでより顕著に見られた。Wsにおいてエチレン発生またはエチレンシグナル伝達を阻害すると可視障害が顕著に抑制された。以上のことから、オゾン暴露による可視障害発現にはエチレン発生が必要なことが示された。ColとWsにおける*AtACS6*遺伝子の発現制御の違いについての考察も合せて報告する。

2pL02

オゾン感受性タバコ　BelW3　のオゾン障害に対するTironの効果

小川大輔[1]，中嶋信美[2]，玉置雅紀[2]，青野光子[2]，久保明弘[2]，鎌田博[1]，佐治光[2]（[1]筑波大バイオシステム研究科，[2]国立環境研究所）

植物は光化学オキシダントの主成分であるオゾンに曝されると、葉に可視障害ができる。我々は、superoxide anion radical (O_2^-) の消去剤であるTironをオゾン曝露したトマトの葉に噴霧すると、可視障害が著しく減少することを示した。本研究では、Tironがどのような遺伝子の発現に影響を与えているか知るために以下の実験を行った。材料としてタバコのオゾン感受性系統BelW3 (*Nicotiana tabacum* cv BelW3)を用い、オゾンにより発現が変化する遺伝子群（エチレン合成系、活性酸素種消去系、ポリアミン合成系、PRタンパク質、フェニルプロパノイド合成系、光合成）のcDNAを30個クローニングした。それらのTiron処理時の発現をノーザンブロット法で解析した。あらかじめTiron処理して0.2ppmのオゾンに曝したとき、Tiron無処理に比べて可視障害が減少することを確認した。クローニングした遺伝子の発現を比較した結果、程度の差はあれTiron処理によりほとんどの遺伝子でオゾン曝露の効果が抑制されていた。Tironの効果はオゾン曝露1時間以内に発現が変化する遺伝子についても認められた。従って、オゾンによる可視障害発生過程の極めて初期にO_2^-が作用している可能性が高い。

2pL03

季節的なα-カロチン組成の変動

小倉あゆみ[1]，若井めぐみ[1]，高見常明[1]，柴田勝[1]（[1]長岡高専・物質工学）

高い活性酸素除去能力を有するα-カロチン（α-Car）の生理的意義を解明するために、植物におけるα-Carの種間差、色素タンパク質複合体での存在分布および季節的なカロチン組成変化、クロロフィル蛍光測定を行った。

木本植物81種，草本植物40種を対象に葉内の色素・抗酸化物質の測定を行った結果、多くの木本植物の葉片にα-Carが含まれており（5% α-Car含有率；木本86.4%，草本24.4% α-Car/Cars Av.；木本0.33, 草本0.08）、特に裸子植物-常緑樹において高い値を示した。また、測定した全樹種においてα-Car含量に関係なく、クロロフィル（Chl）/ カロチン比（10/1[mol/mol]）が一定であった。Mild SDS-PAGEおよび色素分析を行ったところ、反応中心、集光性タンパク質複合体に関係なく、α-Carは全ての色素タンパク質複合体に同比率で存在していた。これらの結果から、α-Carは非特異的にβ-Carと置換する形で存在していると考えられる。

α-Car含量は季節変化を示しており、夏季に増加、冬季に減少するのに対して、β-Carは夏季に減少、冬季に増加していた。このような樹木葉内での季節的な色素のダイナミックな変化は、木本植物において夏季に受けるストレスを回避する機構があるのではないかと考えられる。

2pL04

Purification and Characterization of Superoxide Dismutases from the Anaerobic Photosynthetic Bacterium *Heliobacillus mobilis*

Wanwipa Ittarat[1]，桜井英博[1]（[1]Department of Biology, School of Education and Division of Pure & Applied Physics, Graduate School of Science & Engineering, Waseda University）

Heliobacillus mobilis, a novel member of anaerobic phototrophic Gram-positive bacteria recently isolated from soils, has at least two superoxide dismutase (SOD) isozymes. The supernatant of cell lysates contains two SOD bands (SOD-A, -B according to the order of elution from a DEAE column) as revealed by activity staining from non-denaturing PAGE. We have purified both of the SODs by several kinds of chromatographies. The level of total SOD activity is extremely low in cells grown under anaerobic photosynthetic conditions. However, when the cells were exposed to air, the total SOD activity increased to 4 to 8-fold. When 1 mM paraquat was added, the total activity increased to 10 to 12-fold. Increasing the paraquat concentration beyond 1 mM did not increase the SOD activities further. Unlike SODs from other groups of anaerobic phototrophic bacteria, SOD-A and -B were not inhibited by hydrogen peroxide or cyanide treatment, indicating that they are MnSODs.

2pL05

イネは冠水中にミトコンドリア型アルデヒド脱水素酵素ALDH2aのmRNAを大量にプールしておき、冠水解除後これを急激に翻訳する

辻寛之[1]，目黒直樹[1]，鈴木保宏[2]，中園江[2]，堤伸浩[1]，平井篤志[1]，中園幹生[1]（[1]東大農学生命科学，[2]中央農業総合研究センター）

冠水状態にさらされた植物は、冠水解除後にも大きなダメージを受ける。この原因は活性酸素とアセトアルデヒドである。活性酸素は冠水解除時に急に酸素が供給されるために生成し、アセトアルデヒドは冠水中のアルコール発酵で生じたエタノールが酸化されて生じる。アセトアルデヒドは非常に毒性が高いが、アルデヒド脱水素酵素（ALDH）によって無毒化されるので、私たちは冠水時および冠水解除時のイネにおけるミトコンドリア型ALDH（ALDH2）の発現を調査した。イネALDH2遺伝子にはALDH2aとALDH2bの2つが存在し、両者の遺伝子発現を解析した結果、イネは冠水中にALDH2aのmRNAを大量にプールしておき、冠水解除後これを急激に翻訳することでALDH2aを増加させていることが明らかとなった。冠水解除後にはALDH活性が上昇しており、またアセトアルデヒドの量が減少していた。よってイネは冠水解除時にALDH2を増加してアセトアルデヒドによる障害を回避でき、その結果冠水抵抗性が高いという仮説が考えられた。この仮説を検証するためにアラビドプシスに嫌気処理をおこなった。40時間嫌気処理したアラビドプシスは生存しているのに対して、8時間嫌気処理後、解除して32時間経過したものは枯れることが分かった。さらに、予備的な結果だがALDH2を過剰発現させたアラビドプシスは嫌気解除後も生存できることが分かった。

2pL06

ニチニチソウ培養細胞におけるサリチル酸によるデンプンの分解

清田誠一郎[1]，矢崎芳明[1]，坂野勝啓[2]（[1]生物研・生理機能，[2]生物研・新生物資源）

我々は、シアン耐性呼吸の末端酸化酵素alternative oxidase(AOX)とストレス耐性、病害抵抗性との関連について研究している。サリチル酸（SA）によるAOXの発現誘導機構の解析の際に、細胞内のデンプン顆粒の著しい消失に気づいた。そこで、SAの生理作用との関連を探る目的で解析を行った。

植え継ぎ後3日目のニチニチソウ培養細胞に1-0.5mMの濃度でSAを与えると、6-12時間後にデンプン顆粒の著しい消失が顕微鏡観察で観察された。デンプンの分解は、細胞内デンプン量の測定でも確認された。浸透圧上昇を思わせる細胞の膨潤は観察されなかった。SAは、酸素吸収を著しく阻害した。呼吸は、SAの添加後30分以内に添加前の20-25%程度になった。0.25mMのSA添加では、呼吸は徐々に回復し、12-24時間後に、無処理と同じになった。しかし、1-0.5mM添加では、少なくとも24時間までの間、阻害から回復しなかった。この際、デンプンの分解に伴ってエタノールが蓄積した。これは、好気的条件下にも関わらず、醗酵が行われていることを示している。この現象の生理学的意義について考察する。

2pL07

シロイヌナズナのサイトゾル型アスコルビン酸ペルオキシダーゼ*APX1*破壊株の解析

浅井尚子[1,2]，松山崇[1,3]，玉置雅紀[1]，中嶋信美[1]，久保明弘[1]，青野光子[1]，加藤友彦[4]，田畑哲之[4]，白野由美子[5]，柴田大輔[4]，林浩昭[7]，Philip M. Mullineaux[8]，佐治光[1]（[1]国立環境研，[2]筑波大，[3]豊田中央研，[4]かずさDNA研，[5]Cornell大，[6]三井業際植物バイオ，[7]東京大，[8]John Innes Centre）

アスコルビン酸ペルオキシダーゼ（APX）は、植物体内で生じる有害な過酸化水素を消去する酵素である。APXには数種のアイソザイムがあり、葉緑体・サイトゾル・ミクロボディ等に存在することが知られている。しかしながら、サイトゾル型APX（cAPX）についてはその生理学的役割がよくわかっていない。本研究ではその一つである*APX1*の破壊株を単離しその特性を解析した。

27,264のシロイヌナズナT-DNAタギングラインから、*APX1*にT-DNAが挿入された植物を1系統単離した。この系統（*apx1-1*）では、1.1 kbの*APX1* mRNAやAPX1タンパク質は検出されなかった。また、*apx1-1*の可溶性タンパク質画分のAPX活性は野生型の約3分の1であった。これらのことは、*APX1*の破壊が成功していることを示している。*apx1-1*の全アスコルビン酸含量は野生型とほぼ同じであったが、還元型アスコルビン酸の割合は野生型よりわずかに高かった。植物の生育は、*apx1-1*の方が野生型よりわずかに悪かった。また、低温ストレス下では*apx1-1*の方が野生型よりアントシアニンを多く蓄積した。以上のことから、cAPXはストレス耐性に関与していることが示唆される。

2pL08

活性酸素種の過敏感細胞死に与える影響

平沢賢一[1]，天野豊己[1]，塩井祐三[1]（[1]静岡大・理・生物地球）

活性酸素種は，植物において過敏感細胞死を誘導する重要な分子であると考えられている．しかしその相関には不明な点が多く，細胞死の分子機構の解明を困難にしている．我々はこれまでペプチド性エリシターであるクリプトゲインの部位特異的変異体（N93A）を作製し，タバコ細胞の活性酸素種の放出活性と細胞死の誘導能について，活性の低下率が異なることを見出してきた．この結果はこれら2つの反応が連続した反応ではなく，独立の反応であることを示唆している．

本研究では，活性酸素種と細胞死の相関を明らかにするため，タバコ細胞を用いて活性酸素種の消去剤がクリプトゲインによって誘導される細胞死に与える影響を検討した．活性酸素種の生成はピラニンの蛍光が消光する速度を指標として解析した．タバコ細胞の生存率の経時変化は，我々が以前に報告した方法であるフルオレセインジアセテート（FDA）がフルオレセインに変換される速度を生存率の指標として定量的に解析した．タイロン，ヒドロキノン，カタラーゼを添加することで活性酸素種はほぼ完全に消去されたが，ヒスチジンは効果がなかった．また，これら4種類の消去剤はクリプトゲインの細胞死活性には影響を与えなかった．これらのことからクリプトゲインによる過敏感細胞死には活性酸素種が関与しないと考えられる．

今後，さらに各種の活性酸素種の消去剤を用い，過敏感細胞死に与える活性酸素種の影響を解析する．

2pL09

CLONING AND INITIAL CHARACTERIZATION OF A rasPHGPX, A Raphanus sativus HOMOLOG OF MAMMALIAN PHGPXs

劉進元[4]，李文君[4]，楊小東[4]，趙南明[4]（[1]Department of Biological Sciences and Biotechnology, Tsinghua University, China）

Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPX) is a unique antioxidative enzyme which specifically catalyses the reduction of phospholipid hydroperoxides to protect biomembrane from oxidative injury. We will describe a radish cDNA encoding putative mitochondrion-targeted PHGPX obtained by RACE-PCR. The full-length cDNA (GenBank accession number AF322903) contains an ORF of 594 bp which encodes a protein of 197 amino acids with a calculated molecular weight of 22.1kD. The sequence was shown to be a novel PHGPX gene and significant identity with PHGPX sequences of Citrus sinensis (68%), Nicotiana sylvestris (68%), Helianthus annuus (64%) and Homo sapiens (51%). Based on sequence analysis, three typical domains of mammalian PHGPXs are all highly reserved in the protein. rasPHGPX is very likely to be a mitochondrion-targeted protein because of the features of a signal peptide sequence at the N-terminal. We also report the expression of the rasPHGPX gene in E. coli and its functional analysis.

2pN01

トマト根で発現する金属結合性タンパク質LeGlp1のN末端リーダー配列のターゲット部位

杉浦美羽[1]，高橋正昭[1]（[1]大阪府大院・農学生命科学）

トマトの根より金属結合部位を持つタンパク質の一つとしてクローニングしたタンパク質は小麦種子の発芽時に発現するgerminとアミノ酸配列の相同性を持ついわゆるgermin様タンパク質（germin like protein）である。LeGlp1と名付けたこのタンパク質はN末端に27アミノ酸から成るリーダー配列を持っている。本研究では、LeGlp1のリーダー配列をN末端に連結したβ-グルクロニダーゼと緑色蛍光タンパク質を用い、これらのレポーターの局在を調べることにより、ターゲット部位を明らかにすることを試みた。

*pBI121*の*GUS*の上流にLeGlp1のプロセシング部位を含んだ配列に相当するcDNAを挿入したベクターを構築した。また、そのベクターの*GUS*を丹羽博士より供与された*sGFP (S65T)*と置換したベクターも作成し、各々*Agrobacterium tumefacience*感染法を用いてタバコに導入しCaMV35Sプロモーターにより発現させた。GUSの局在は活性染色により、sGFP(S65T)の局在は緑色蛍光により調べた。

コントロールとしてGUSとsGFP(S65T)を修飾無しに発現させるとタバコの組織内にその局在が認められたが、LeGlp1のリーダー配列を付加されるとその局在は明らかにコントロールと異なり、根で発現したタンパク質はほとんど根の表面に移行し蓄積していた

2pN02

トマト根で発現するタンパク質LeGlp1の金属結合性に関与するN末端近傍のアミノ酸残基

高橋正昭[1]，杉浦美羽[1]（[1]大阪府大院・農学生命科学）

根における金属イオンの吸収と輸送に関与するタンパク質を明らかにする目的で、トマト根の形質膜に存在するタンパク質より金属結合部位をスクリーニングし、その一つが小麦のgerminに相同なタンパク質であることをcDNAクローニングにより明らかにした。金属結合部位はそのタンパク質(LeGlp1)のN末端近傍に在り、Cys_{10}とCys_{25}が金属イオンとの結合に配位子となっていると推定した。本研究ではCys_{10}とCys_{25}を各々Serに置換したLeGlp1(C10S)とLeGlp1(C25S)の金属結合性と構造、および、触媒活性について検討した。

LeGlp1（C10S）とLeGlp1（C25S)、および、LeGlp1(C10S,C25S)は、変異を導入したプライマーを用いてオーバーラップPCRによりcDNAを得、*pBI121-Agrabacterium tumefaciens*系を用いてタバコを形質転換し植物体内で合成させた。

形質転換植物よりタンパク質を抽出し、アフィニティークロマトにより金属イオンと結合性を調べた。LeGlp1の構造は、温和な条件で高次構造を残したままSDS-PAGEで分離、ウェスタンブロットによりその分子サイズにより調べた。また、LeGlp1のシュウ酸酸化活性は*in gel*活性染色により決定し、Cys残基の置換による金属イオンとの結合能の喪失の与える影響を明らかにした。

2pN03

*Euglena gracilis*をモデル生物とした塩化カドミウム惹起細胞障害と細胞応答

渡邊益美[1]，逸見健司[2]，小川健一[2]，鈴木鐵也[1]（[1]北大院・水，[2]岡山県生物科学総合研究所）

活性酸素(ROS)は，細胞の老化や機能障害と深く関与しており，環境汚染物質による障害発現にもROSの関与が指摘されている．環境汚染物質の一つである無機カドミウムの細胞毒性と発ガン，ROS生成，DNA断片化との関わりについては，高等生物や組織培養細胞を用いて多数研究されてきたが，細胞レベルでの障害発現を迅速かつ定量的に解析でき，従来の実験生物の代替となる評価系が求められている．演者らは，哺乳動物に匹敵するほどの高度に発達した細胞内小器官を備え，動植物双方の特徴をもつ真核単細胞生物*Euglena gracilis*に着目し，葉緑体を有するZ株を植物，葉緑体欠損変異株SMZを動物モデルに，カドミウムの細胞毒性ならびにROSと生体応答について検討を行っている．*E. gracilis*両株にnMからmMレベルの塩化カドミウムを曝露したところ，μMからmMレベルで増殖阻害，nMからμMレベルで催奇形性を認めた．さらに，本細胞と高等生物との共通性について，細胞内障害発現を検討したところ，他のモデル細胞で認められるようなROS生成の促進，DNA断片化，ミトコンドリア膜電位の変化などが認められ，*E. gracilis*の細胞応答を指標にした細胞毒性評価は，生体へのさまざまな機能障害を探る上でも有用であることが示唆された．

2pN04

カドミウム耐性植物ミゾソバにみられる特異的な集積

新町文絵[1]，九万田有希[2]，重広竜之[2]，野口章[2]，長谷川功[2]（[1]日大・短大，[2]日大・生物資源）

Phytoremediationに用いる植物を選抜あるいは分子育種することを目的として、重金属耐性植物を探索し、その耐性機構を解析すると共に、その利用を検討している。

数十種類の野生植物を用いて重金属（Cd,Ni,Cr,Pb,Cu,Zn）に対する耐性評価を土耕・水耕試験によって行い、重金属耐性の高い数種類の植物を選抜した。その中で特にCd耐性が高いミゾソバについて、その集積機構の解析を行った。ミゾソバは茎中にCdを高濃度に集積するが、葉身中の濃度は著しく低いことを明らかにした。Cd処理したミゾソバでのMetallotioneinやPhytochelatinの存在を検討した結果、こうしたCd結合性ペプチドの生成は認められなかった。Cd処理したミゾソバのXylem sap中のCd濃度は、Cd添加水耕液中よりも高く、しかもXylem sap中にはCd処理区にのみ特異的に存在するニンヒドリン陽性物質が確認された。しかも、このニンヒドリン陽性物質は茎中に著しく多いことから、吸収されたCdはこの物質と結合して地上部に移行していると推測した。一方、Cdの茎組織内分布をCd蛍光プローブによって観察した結果、導管壁構成細胞およびその周辺細胞に特異的にCdが集積していることを確認した。これらの結果より、ミゾソバのCd耐性は、茎の特定部位にCdを結合させることで遊離のCdを無害化しているものと考えた。

2pN05

Functional analysis of CdI19 metal binding protein that localizes on plasma membrane in *A. thaliana*

鈴木伸昭[1]，小泉望[1]，佐野浩[1]（[1]奈良先端大・遺伝子教育研究センター）

Screening cadmium induced genes by differential display method in Arabidopsis, we identified a particular gene CdI19, that encodes a protein consisted of 393 amino acids. It possesses two metal binding regions and a farnesyl motif. When each of Cd, Cu, Fe, Hg (II) ions was added to CdI19 protein, strong changes in the ultraviolet range of circular dichroism spectrum was observed, indicating a specific interaction among them. When two cysteines were mutated to glycine, the interaction was lost. Mn, Co, Ca ions induced little change in both wild and mutant proteins. When CdI19 protein fused to GFP was expressed in tabacco BY2 cells, GFP fluorescence was visible only at plasma membrane. However, the construct with mutated farnesyl motif showed GFP signals mostly in cytoplasm. These results suggest that CdI19 functions to bind and to localize metal ions on the plasma membrane, and subsequently to protect cytoplasmic fractions from their toxicity.

2pN06

Microarray analysis of gene expression in rice plants and silicon nutrition

渡辺修一[1]，下井絵美[1]，矢崎潤史[2]，藤井文子[2]，真保佳納子[3]，島谷善平[3]，長田夕子[3]，橋本晶子[3]，太田智弥[2]，佐藤友紀[2]，本多幸子[2]，山本公子[3]，坂田克己[2]，佐々木卓治[2]，岸本直己[2]，菊池尚志[2]，林浩昭[1]，米山忠克[1]，藤原徹[1]（[1]東大院・農，[2]生物研，[3]STAFF研究所）

Oryza sativa L., cv. Nipponbare were grown hydroponically with culture medium containing various concentrations of silicon (Si; 0, 15, 150 and 1500 μM). Rice cDNA microarrays of 8987 clones were hybridized with cDNAs from total RNA of shoots. Two independent hybridizations were carried out for each RNA samples generating four data sets for one of the clones. Student's t-test were performed on data sets between plants treated with 0 μM and those of other samples. Clones, which exhibited significant difference ($P<0.05$), were regarded as genes affected by silicon supply condition on their expression. For instance, homologs of chlorophyll a/b binding protein were found downregulated by +Si treatment and patterns of mRNA accumulation corresponding to this clone were confirmed with quantitative RT-PCR. This suggests Si treatment associated with regulation of an aspect of photosystem. We will discuss about transcript profiles depending on silicon nutrition.

2pN07

Transcriptome Analysis of Gene Expression Profiles in Response to Sulfur Nutrition in Rice.

大鎌直子[1]，下井絵美[1]，矢崎潤史[2]，藤井文子[2]，真保佳納子[3]，島谷善平[3]，長田夕子[3]，橋本晶子[3]，太田智弥[2]，佐藤友紀[2]，本多幸子[2]，山本公子[2]，坂田克己[2]，佐々木卓治[2]，岸本直己[2]，菊池尚志[2]，林浩昭[1]，米山忠克[1]，藤原徹[1]（[1]東大院・農，[2]生物資源研究所，[3]農林水産先端技術研究所）

Gene expression profiling using microarray was carreid out to reveal gene expression profiles under sulfur deficiency. Rice plants (Oryza sativa L., cv. Nipponbare) were grown hydroponically with deionized water for first 15 days and with medium containing sufficient sulfate for 10 more days. Then, plants were transferred to medium in which sulfate ion was replaced with equivalent amount of chloride ion. The control plants were transferred to the freshly prepared normal media containing sufficient sulfate. Shoots and Roots were taken separately at 6, 24, and 72 hours after medium transfer. Total RNA were extracted and labeled during reverse transcription, then hybridized to microarray on which independent 9000 rice EST clones were spotted.

Pattern of gene expression will be presented together with changes in concentrations of O-acetyl-L-serine or gluthatione, which are considered to regulate expression of genes involved in sulfur metabolisms.

2pN08

銅によるFe-SODの発現制御の多様性

塩野忠彦[1]，宮田幸典[1]，中田克[1]，松崎雅広[1]，佐藤敏生[1]（[1]広島大院・理・生物科学）

コケ植物は、最も原始的な植物であり、植物の陸上化に伴う酸素ストレスへの適応を考える上で重要な位置にあると考えられる。私たちは、コケ植物の活性酸素除去に関わる酵素のうちsuperoxide dismutase (SOD)に着目し、その種類と性質について調べてきた。コケ植物のうち、より体制的に古い苔類フタバネゼニゴケでは葉緑体にFe-SODの1種のみであり、より体制的に高等植物に近い蘚類ネジクチゴケでは葉緑体にFe-SODとCuZn-SODの2種が存在することを見出した。

銅によるFe-SODの発現制御をみると、蘚類では、培地中の銅濃度の上昇によりFe-SODの発現の抑制とCuZn-SODの発現の誘導が転写レベルで起こり、一方、苔類ではFe-SODの発現の抑制が起こらないことを見出した。私たちは、苔類のように一つのコンパートメントにSODとしてFe-SODを唯一持つ生物は銅によるFe-SODの発現制御はないのではないかと考えた。そこで、さらに細胞質にFe-SODのみを持つラン藻*Synechocystis*、葉緑体にFe-SODのみをもつ緑藻*Chlamydomonas*について銅によるFe-SODの発現制御を調べた。SOD活性染色では、ともに銅によるFe-SODの発現抑制は見られなかった。現在のところ、上記の仮定には矛盾は認められない。

2pN09

DNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現の網羅的解析によるマンガン受容伝達系の同定

山口勝司[1]，鈴木石根[1,2]，Lyukevich Alexander[1,3]，Bodrova Irina[3]，Los Dmitry A.[1,3]，Piven Irina[4]，Zinchenko Vladislav[4]，村田紀夫[1,2]（[1]基生研・制御機構，[2]総合研究大学院大学・生命科学，[3]Institute of Plant Physiolgy, Russian Academy of Sciences，[4]Department of Genetics, Moscow Stare University）

微生物や高等植物は様々な環境変化を迅速に感知し、それに対応する遺伝子を発現することで環境ストレスに適応している。環境変化のセンシングは大腸菌等の微生物でTwo-component systemが重要な働きを担っていることが知られている。ラン藻*Synechocystis* sp. PCC 6803には43個のヒスチジンキナーゼと40個のレスポンスレギュレーターが存在する。これら個々のタンパク質がそれぞれどのような環境シグナルを受容伝達し、最終的にどの遺伝子が制御されているかを明らかにすることは極めて重要な課題である。

この点を解明するためにラン藻のTwo-component systemを構成する遺伝子を破壊した'ライブラリー'を作成し、DNAマイクロアレイによる遺伝子発現の変化の網羅的解析を進めている。今回、この手法によってマンガンセンサーおよびレスポンスレギュレーターが同定されたので報告する。ヒスチジンキナーゼ(MntS)とレスポンスレギュレーター(MntR)の破壊株においてABCタイプMnトランスポーターの遺伝子発現が強く誘導されていた。また、野生株ではMn欠乏によっても同トランスポーター遺伝子の誘導が観察された。一方、破壊株ではMn欠乏による遺伝子発現の変化が見られなかった。これらの結果から、Two-component systemが担うマンガン受容伝達系の役割を考察する。

2pO01

タンパク質性エリシターにより誘導されるタバコ培養細胞BY-2のプログラム細胞死過程の解析

郷達明[1]，中村衣里[1]，門田康弘[1]，矢柄寿一[1]，武藤尚志[2]，朽津和幸[1,3]（[1]東京理科大・理工・応用生物科学，[2]名古屋大・生物分子応答研究センター，[3]東京理科大・ゲノムセンター・細胞シグナル制御）

タバコ培養細胞BY-2は、植物病原菌由来のタンパク質性エリシター（cryptogein）を認識してプログラム細胞死(PCD)を誘導する。PCD誘導過程における細胞内外のイオン濃度変化を解析した結果、エリシター処理直後から一過性で二相性の$[Ca^{2+}]_{cyt}$変化、持続的なCl^- efflux、早い一過的な変化と持続的な変化の二相性のpH変化等のイオンフラックスが誘導されることが明らかになった。阻害剤を用いた実験から、二相性の$[Ca^{2+}]_{cyt}$変化の1山目は細胞外からのCa^{2+}動員、2山目はホスフォリパーゼを介した細胞内Ca^{2+}ストアからのCa^{2+}動員である可能性が示唆された。PCDや、エリシターにより数分以内に活性化される48kDaのSIPK様プロテインキナーゼの活性化は、陰イオンチャネル阻害剤により濃度依存的に抑制された。PCDの過程では、細胞質の凝集・収縮、液胞の膨張・崩壊などの形態変化が誘導された。短時間のうちにミトコンドリアの還元酵素活性が低下することから、PCDにミトコンドリアの活性変化が関与している可能性が考えられる。また、TUNEL法によって多くの細胞核が染色されたことから、細胞死に伴いDNAの断片化が誘導されると考えられる。このような感染ストレス誘導性のPCDにおける細胞の形態変化、液胞、ミトコンドリア、核などのオルガネラの関与と、初期応答反応との関連について議論したい。

2pO02

Pseudomonas syringae pv. *tabaci*の単量体Flagellinは、非宿主植物トマト細胞にHR誘導因子として働く

清水鈴菜[1]，田口富美子[1]，池田陽子[1]，豊田和弘[1]，白石友紀[1]，稲垣善茂[1]，一瀬勇規[1]（[1]岡山大・農）

flagellinは、動植物の自然免疫機構を活性化エリシターである。単量体flagellinの役割を解明するために、flagellinをコードする*fliC*遺伝子と単量体flagellinをポリメライズするHAP2タンパク質の遺伝子*fliD*をそれぞれ欠損させた変異菌（Δ*fliC*菌及びΔ*fliD*菌）を作成した。両変異菌ともべん毛を形成しないため、運動能が失われた。また、Δ*fliC*菌はflagellinを全く生産しないのに対して、Δ*fliD*は培地中に多量の単量体flagellinを分泌した。これらの菌をトマト培養細胞Syl-1に接種するとΔ*fliC*菌はpv.*tomato*（トマト斑葉細菌病菌）の接種と同様に全くHRを誘導しないのに対し、野生型pv.*tabaci*は軽程度の、Δ*fliD*菌は激しい細胞死を伴うHRを誘導した。また、典型的防御遺伝子である*PAL*や*hsr203J*-mRNAの蓄積量を調べたところ、Δ*fliC*菌接種ではbufferコントロールと同程度の蓄積しかみられなかったが、Δ*fliD*菌接種では野生型に比べ、速やかに著しく増加した。一方、これらの菌をトマト葉に接種したところ、Δ*fliC*菌の菌数はやや増加する傾向がみられたが、Δ*fliD*菌では逆に速やかな減少が観察された。以上の結果はpv.*tabaci*のflagellinが非宿主に対し単量体でHRエリシターとして機能することを示している。

2pO03

HR誘導性細菌エリシターflagellinのHR誘導及び病原性における翻訳後修飾の重要性

田口富美子[1]，池田陽子[1]，清水鈴菜[1]，竹内香純[1,2]，稲垣善茂[1]，白石友紀[1]，一瀬勇規[1]（[1]岡山大・農，[2]農業生物資源研究所）

Pseudomonus syringae の異なる病原型細菌pv. *tabaci*, *glycinea*, *tomato*から植物に過敏感反応(HR)を誘導するタンパク質因子としてべん毛構成タンパク質flagellinを同定した。また、flagellinをコードする*fliC*遺伝子を単離し、これらの推定アミノ酸配列は92%以上の高い相同性を示し、特にpv. *tabaci* と*glycinea*では100%同一であることを明らかにした。しかしながら、pv. *glycinea*と*tomato*のflagellinがタバコにHRを誘導したのに対し、pv. *tabaci*のflagellinは誘導しなかった。このことは本HR誘導の特異性がflagellinの翻訳後修飾によって決定されていることを示唆している。実際に、各種flagellinをレクチンブロット解析したところ、異なる糖鎖修飾の存在が示唆された。また、上記のいずれの組換えflagellinもタバコに対して同程度のHR誘導能を有していた。更に、pv. *tabaci*の*fliC*欠失変異体を作出する一方、各種病原型由来の*fliC*遺伝子を再導入して相補実験を行ったところ、Δ*fliC*変異体をタバコに接種しても野生型接種時の病徴を示さず、トマトにHRを誘導しないのに対し、いずれの*fliC*相補菌株もタバコに対する病原力とトマトに対するHR誘導能を回復した。以上の結果はflagellinの翻訳後糖鎖修飾がHR誘導能と病原性に関与していることを示唆している。

2pO04

cDNAマイクロアレイを用いた防御シグナルにより発現誘導される病害抵抗性関連遺伝子の網羅的解析

鳴坂真理[1,2]，鳴坂義弘[1,2]，朴杓允[1]，関原明[2,3]，石田順子[2]，中嶋舞子[2]，槐亜稀子[2]，神谷麻子[2]，櫻井哲也[2]，佐藤将一[2]，篠崎一雄[2,3]（[1]神戸大院・自，[2]理研・ゲノム科学，[3]理研・植物分子）

植物の防御シグナル伝達機構にはサリチル酸経路、ジャスモン酸/エチレン経路、活性酸素種経路などが考えられている。本研究ではシロイヌナズナを用いて、アブラナ科植物に感染する病原糸状菌*Alternaria brassicicola*を接種または、サリチル酸、ジャスモン酸、エチレン、wounding、UV、パラコート、Rose bengal、硫酸銅を処理し、DNAマイクロアレイを用いて発現誘導する遺伝子を経時的かつ網羅的に解析した。その結果、*A.brassicicola*の接種により、320の遺伝子が発現した。またサリチル酸、ジャスモン酸、エチレン、wounding、UV、パラコート、Rose bengal、硫酸銅によりそれぞれ、324、235、492、309、135、164、81、425 の遺伝子が発現した。これらの遺伝子の発現は各処理間において重なりが認められ、各シグナル伝達機構はクロストークしていることが推察された。また、*A.brassicicola*の接種により発現誘導される遺伝子群を詳細に解析したところ、サリチル酸経路、ジャスモン酸/エチレン経路、または活性酸素種経路により誘導される遺伝子を多数含んでいることが明らかとなった。現在、これら経路間におけるクロストークについて詳細な解析を行っている。

2pO05

cDNAマイクロアレイを用いた病害ストレスにより発現誘導される遺伝子の網羅的解析

鳴坂義弘[1]，鳴坂真理[1]，朴杓允[1]，関原明[2,3]，石田順子，中嶋舞子[2]，槐亜稀子[2]，神谷麻子[2]，櫻井哲也[2]，佐藤将一[2]，篠崎一雄[2,3]（[1]神戸大院・自，[2]理研・ゲノム，[3]理研・植物分子）

植物の防御シグナル伝達機構を解明するため、シロイヌナズナとアブラナ科植物に感染する病原糸状菌*Alternaria brassicicola*を用いて研究を行った。シロイヌナズナのエコタイプであるコロンビアは*A.brassicicola*の攻撃に対し、過敏感細胞死を誘導して感染を阻止する。これに対して、ファイトアレキシン合成欠損変異体である*pad3-1*は*A.brassicicola*の攻撃に対し、過敏感細胞死を誘導できず感染が成立する。本研究では、cDNAマイクロアレイを用いてコロンビア/*A.brassicicola*（抵抗系）および*pad3-1*/*A.brassicicola*（感受系）の解析を行い、病害抵抗性に関わる遺伝子の網羅的解析を行った。その結果、感受系では発現せず、抵抗系のみで発現する243の遺伝子が同定された。また、両方の系において発現する遺伝子は77、感受系のみで発現する遺伝子は37であった。一方、発現抑制される遺伝子は抵抗系で3、感受系で257であった。現在、これら遺伝子群の詳細な解析を行うと同時に、遺伝子破壊株を用いた遺伝子機能解析を進めている。

2pO06

非親和性病原細菌によって誘導されるイネ培養細胞の活性酸素発生機構の解析

後藤一法[1]，岩野恵[1]，田中則子[1]，高山誠司[1]，蔡晃植[1]，磯貝彰[1]（[1]奈良先端大・バイオサイエンス）

Pseudomonas avenae は単子葉植物を宿主とする植物病原細菌である。我々はP.avenaeの非親和性菌株がイネ培養細胞に過敏感細胞死や抵抗性遺伝子の発現などの一連の抵抗性反応を特異的に誘導することを報告した。今回、植物の抵抗性反応誘導に関与すると考えられている活性酸素について、イネ培養細胞の抵抗性反応誘導時における発生とその機構を調べた。

イネ培養細胞に *P.avenae* 非親和性菌株N1141と親和性菌株K1を接種したところ、N1141菌株接種後6時間目から活性酸素発生が認められたが、K1菌株接種では認められなかった。また$CeCl_3$を用いた電子顕微鏡観察より、N1141菌株を接種した培養細胞の細胞壁、細胞膜付近で活性酸素が発生していることが明らかとなった。次にイネ培養細胞の抽出物をNative-PAGEで分離し、NBTを用いて活性染色を試みたところ、細胞膜画分にバンドが認めらた。このバンドの活性はNADPH依存的であり、DPIによって阻害された。そこで植物のNADPH oxidaseのサブユニットと考えられてる*rice RbohA*をクローニングした。ノーザンブロット解析を行った結果、*rice RbohA*はN1141菌株接種により発現誘導されることが明らかとなった。現在、*rice RbohA*とイネ培養細胞における活性酸素発生との関係を形質転換体を作製し解析中である。

2pO07

植物病原細菌 *Pseudomonas avenae* のフラジェリンによる植物の特異的抵抗性誘導機構の解析

日紫喜隆行[1]，中島芳浩[1]，高山誠司[1]，蔡晃植[1]，磯貝彰[1]（[1]奈良先端大・バイオサイエンス）

植物病原細菌 *P. avenae* の非親和性菌株のフラジェリンはイネに様々な抵抗性反応を誘導するが親和性菌株のフラジェリンは誘導しない。そこで、この特異性決定機構の分子レベルでの解析を目的として研究を行った。特異性決定へのアミノ酸配列の関与を明らかにするため、親和性菌株、非親和性菌株のフラジェリンを大腸菌で発現させた。両発現フラジェリンをイネ培養細胞に加えたところ、非親和性菌株の発現フラジェリンだけでなく親和性菌株の発現フラジェリンもイネ培養細胞の過敏感細胞死を誘導することが示された。さらに、いくつかの抵抗性関連遺伝子が両発現フラジェリンで同様に誘導されることも明らかとなり、フラジェリンによる特異的抵抗性反応誘導にはアミノ酸配列以外の因子が関与することが示された。我々はこれまで、*P. avenae*のフラジェリンには糖鎖が存在することを示した。そこで、次に糖鎖の特異性決定への関与につて調べた。まず、フラジェリンの糖鎖欠損株の作成を目的として、フラジェリン糖鎖修飾遺伝子の同定を試みた。フラジェリン糖鎖修飾遺伝子は鞭毛オペロンの中に存在していると考え、鞭毛オペロンの解析を行った。その結果、約40 kbの鞭毛オペロンを含む配列中に、フラジェリンの糖鎖修飾に関与すると思われるいくつかの遺伝子群の存在が明らかになった。現在、これら遺伝子の破壊株を作成し解析を行っている。

2pO08

イネcDNAマイクロアレイを用いた病原細菌認識機構の解析

田中則子[1]，藤原沙都姫[1]，金田隆志[1]，高山誠司[1]，蔡晃植[1]，磯貝彰[1]（[1]奈良先端大・バイオサイエンス）

イネにおける植物病原細菌*Pseudomonas avenae*の認識と情報伝達機構を明らかにするため、親和性、非親和性菌株および*P. avenae*の認識に関与するフラジェリンやその欠損株等を用いて抵抗性関連遺伝子の発現を指標に解析を行った。その結果、非親和性菌株や非親和性菌株のフラジェリンによって*EL2*、*EL3*、*PAL*、*Cht-1*、*LOX*等の抵抗性関連遺伝子が特異的に誘導されるものの、*PAL*、*Cht-1*、*LOX*等の発現誘導にはフラジェリン以外の因子も関係することが示された。そこで、これら親和性、非親和性菌株やフラジェリンによって誘導される様々な遺伝子の発現を網羅的に理解するためにイネcDNAマイクロアレイを用いて解析を行った。非親和性菌株接種および非接種のイネ培養細胞より作製したcDNAライブラリーより得た約2500のユニークなクローンを用いてcDNAマイクロアレイチップを作製した。非接種および非親和性菌株N1141、または親和性菌株K1接種のイネ培養細胞より単離したmRNAからプローブを作成し解析を行ったところ、非親和性菌株接種後、非接種と比較して発現変動が認められる遺伝子が、1時間で約30個、3時間で約300個、6時間で600個であった。現在、それぞれの遺伝子に対する詳細な解析を行っている。

2pO09

DNAマイクロアレイを用いた宿主特異的毒素処理りんご葉における発現解析

初山慶道[1]，深沢（赤田）朝子[1]，五十嵐恵[1]，矢崎潤史[2]，藤井文子[2]，真保佳納子[3]，島谷善平[3]，長田夕子[3]，橋本晶子[3]，太田智弥[2]，佐藤友紀[2]，本多幸子[2]，山本公子[3]，坂田克己[2]，佐々木卓治[2]，岸本直己[2]，菊池尚志[2]，鈴木正彦[1]（[1]青森県グリーンバイオセンター，[2]農業生物資源研究所，[3]STAFF研究所）

りんご斑点落葉病菌の宿主特異的毒素であるAM-toxinは感受性りんごの葉に壊死を生じさせる。我々はAM-toxinが及ぼす遺伝子発現への影響と壊死発現に関わる遺伝子の解明を目的とし、りんごcDNAのマイクロアレイを用いた発現モニタリング解析を行った。マイクロアレイにはこれまでEST化を進めてきたりんごの培養シュート及び登熟期果実由来のcDNA 1926個をスポットした。毒素感受性品種の葉をAM-toxin溶液または毒素無添加溶液で減圧浸潤後、1、3.5、5、10時間暗所において処理した。これらより単離したpolyA$^+$RNAをターゲットとしてアレイ解析を行った。毒素処理1時間で光合成関連遺伝子の発現が低下し、5時間では対照の10分の1程度まで減少した。その傾向はCO_2同化関連遺伝子において顕著で、りんごの主要な光合成産物であるソルビトールの合成系で重要なソルビトール-6-リン酸デヒドロゲナーゼの発現は1時間で10分の1まで低下した。これまで、AM-toxinによってCO_2固定阻害、葉緑体構造の崩壊が表現形質として報告されていたが、遺伝子発現のレベルにおいても急速に光合成機能を低下させていることが判った。また、マイクロアレイ上cDNAの約10％はAM-toxinによって発現が上昇した。この結果についても報告する。

2pO10

シロイヌナズナにおけるトリコテセン系カビ毒応答遺伝子の網羅的解析と5' 上流域におけるシス配列の探索

増田大祐[1]，石田守[1]，木村真[2]，山口勇[2]，山口和夫[3]，西内巧[3]（[1]金沢大・理，[2]理研・PSC，[3]金沢大・遺伝子）

コムギ赤カビ病菌の麦類への感染によるトリコテセン系カビ毒の汚染によって、人畜の食中毒等の深刻な被害が報告されている。トリコテセン非産生菌のコムギへの感染力の低下が報告されているものの、植物におけるトリコテセンの作用についてはほとんど明らかにされていない。我々はトリコテセンが植物の防御応答や形態形成に与える影響について作用機構の解析を行っている。昨年度年会において、トリコテセン系カビ毒の一種であるT-2 toxinを含むMS培地でシロイヌナズナを生育させると、矮化及び葉の形態異常が起こることを報告した。今回、T-2 toxin存在下で育成したシロイヌナズナにおける遺伝子発現の変化について、GeneChipによる網羅的解析を行った結果について報告する。T-2 toxin存在下において、非存在下と比較して3倍以上高い発現を示した遺伝子には、(1)病原体の感染等に応答する防御遺伝子、(2)ストレス応答性遺伝子、(3)転写因子、(4)transporterやchannel protein、(5)細胞内シグナル伝達に関わる遺伝子などが見られた。また、これらの遺伝子について、翻訳開始コドンから5' 上流1kbまでの領域に含まれる既存のシス配列を検索したところ、MybとWRKYの認識配列が統計的な期待値よりも高い頻度で見られた。一方、T-2 toxin存在下で発現が低下した遺伝子には、活性型ジベレリンの合成に関わるGA4遺伝子が含まれていた。

3aB01

光合成炭素代謝に及ぼす葉緑体および細胞質FBPaseの役割

宮川佳子[1]，松浦京子[2]，勝見美穂[2]，野田裕介[2]，田茂井政宏[2]，重岡成[1,2]（[1]近畿大院・応生化，[2]近畿大・農・食栄）

我々はこれまでに、ラン藻FBP/SBPase葉緑体過剰発現タバコでは、RuBP再生能力の向上により光合成能が上昇し、カルビンサイクルを含めた一連の炭素代謝が変化し、最終的に生育が増加したことを明らかにした（Nature Biotechnol. 19, 965-969, 2001）。そこで本研究では、光合成能の上昇がFBPase/SBPase活性のどちらに起因するのか、FBP/SBPase導入によるソース・シンク器官の炭素代謝系への影響を明確にするために、ラン藻のFBPase-IIの葉緑体導入タバコ（TpF）およびFBP/SBPaseの細胞質導入タバコ（TcFS）を作製し、成育、炭素代謝及び光合成能に及ぼす影響を比較・検討した。

TpF-9およびTpF-11の全FBPase活性はそれぞれ野生株の約1.4, 1.8倍に増加した。TpF-11においてのみ光合成速度（360 ppm CO_2、1500 μ E/m ^{2}/s）が有意に上昇（1.15倍）し、ヘキソースおよびデンプン量の増加も認められた。

最も全FBPase活性が高いTcFS-7（野生株の2.1倍）の成育、乾燥重量、光合成能は野生株との間に有意な差は認められなかった。しかし、F6P、G6P及びショ糖量の上昇（1.7-2.0倍）、DHAP量の低下（44％減）が認められた。炭素分配への影響をより明確にするために、現在詳細な検討を行っている。

3aB02

イネの胚乳で発現するピルビン酸リン酸ジキナーゼ（PPDK）の機能解析

野村美加[1]，片山健一[1]，宮尾光恵[2]，田島茂行[1]，松岡信[3]（[1]香川大・農，[2]農水・生物研，[3]名大・生物分子）

PPDK（ピルビン酸リン酸ジキナーゼ）酵素は、ピルビン酸からホスホエノールピルビン酸を触媒する酵素であり、トウモロコシなどのC4植物ではC4光合成回路の一つの酵素として知られている。この酵素をコードする遺伝子は一つの遺伝子から二つの転写産物を転写する。この特徴的な性質はC4植物のPPDK遺伝子のみならず、C3植物であるイネのPPDK遺伝子においても同様な発現制御系が存在する。しかしイネでは葉緑体型PPDKはきわめて低い発現を示す一方で、胚乳での細胞質型PPDKは高いレベルで発現している。本研究ではこれまでソース器官特異的と考えられてきたPPDK酵素に注目し、このタンパク質のイネ胚乳における発現様式の解明、解析を行うことを目的とし、アンチセンスによりPPDK遺伝子の発現を減少させたイネを作成した。また、コントロールとしてPPDK高発現イネも作成した。得られた形質転換体の葉、根、胚乳の酵素活性を測定した結果、アンチセンスイネの胚乳におけるPPDK活性は非形質転換体に比べ低い活性が得られた。次にこの形質転換イネのT2ホモ個体を得た後、発芽時における生育を調べてみると、アンチセンスイネは高発現イネあるいは非形質転換体に比べかなり生育が抑制された。しかしながら糖添加培地で生育させるとこの抑制が幾分か抑えられることがわかった。

3aB03

クラミドモナスcDNAマクロアレイを用いたCO_2シグナル伝達因子CCM1標的遺伝子の検索

三浦謙治[1]，小日向務[1]，能岡智[1]，浅水恵理香[2]，中村保一[2]，田畑哲之[2]，大和勝幸[1]，大山莞爾[1]，福澤秀哉[1]（[1]京都大・生命科学，[2]かずさDNA研究所）

クラミドモナスはCO_2が欠乏するとそのシグナルを伝達し、CO_2濃縮機構（CCM）に関わる複数の遺伝子を誘導する。我々は、このシグナル伝達の分子機構に着目し、この機構に重要な役割を果たす遺伝子*Ccm1*を単離した（文献1）。そこで、CO_2シグナル伝達における*Ccm1*の役割を明らかにするため、*Ccm1*によって調節を受ける遺伝子を、cDNAマクロアレイ（10,368 EST）を作成して検索した。野生株の高CO_2、低CO_2細胞と変異株C16（*ccm1*）との発現プロファイルを比較し、2.5倍以上の差を示すクローンを選抜したところ、59遺伝子が低CO_2で誘導され、66遺伝子が*Ccm1*によって制御を受けていた。55種類の低CO_2誘導性遺伝子が*Ccm1*に制御されることから*Ccm1*がシグナル伝達経路の上位に位置し、多岐にわたって下流の遺伝子発現を調節していることが示唆された。また55種類の遺伝子のうち光呼吸に関連する遺伝子が6種含まれていたので、光呼吸もCCMと同様、*Ccm1*の制御を受けることが示唆された。

文献1）Fukuzawa *et.al.* PNAS 98：5347-5352（2001）

3aB04

光合成代謝産物の高感度分析・定量を目的としたHPLCシステムの開発

小野玲子[1]，佐藤隆之[1]，葛西身延[1]，荒川修[1]，澤田信一[1]（[1]弘前大・農学生命）

光合成代謝産物である糖リン酸類及びヌクレオチド類の分析・定量は、光合成調節機構を解明する上で重要である。そこで我々は、従来の酵素法に対し、少量の葉に含まれる多くのこれらの物質を一度に分析・定量可能な高感度HPLCシステムの開発を試みた。

このHPLCシステムにおいてはポリヒドロキシメタクレイト系陰イオン交換樹脂充填したセミミクロカラムを用いた。0.6M H_3BO_3、0.8M NaH_2PO_4を用いた120分のグラジエント分析により糖リン酸及びヌクレオチドを溶出した。ヌクレオチドはUV検出器で分析・定量し、糖リン酸及び一部のヌクレオチドはアルギニン蛍光発色法により分析・定量した。

このHPLCシステムを用いることによって、葉（面積9cm^2）中の光合成代謝に関与した糖リン酸8種及びヌクレオチド11種の分析・定量が可能である。糖リン酸とヌクレオチドの検出感度は、オルシノール硫酸法あるいはPADを用いたHPLCシステムに比べ、著しく上昇した。（本HPLCシステムでは、オルシノール硫酸法を用いたHPLCシステムに比べ、ATPは48倍、ADPGは28倍、NADPは26倍に検出感度が上昇し、PADを用いたHPLCシステムに比べ、F1.6Pは1900倍、F6Pは460倍、RuBPは490倍に検出感度が上昇した）。このHPLCシステムはsink-limit状態における、RuBPcaseの活性阻害物質の検出にも用いている（岩船ら、本学会発表）。

3aB05

Net Gas Exchange And Leaf Characteristics Of Diploid And Synthetic Autotetraploids Of *Phlox drummondii*.

ヴィアスプーナム[1]，寺島一郎[1]（[1]阪大・院・理・生物）

Multiplication of genome has significant roles in the adaptation and evolution of plants and is accompanied by various physiological changes. We studied the effect of chromosome doubling on gas exchange and leaf anatomy in *Phlox drummondii*. The net CO_2 assimilation rate was double and stomatal conductance was about three times in autotetraploids than in their diploid progenitors on leaf area basis. The autotetraploid leaves were thicker and larger and contained double the chlorophyll content. Cell size, mesophyll volume and chloroplast number per cell were much higher in 4x than in 2x plants. There was about 15 % increase in the surface of mesophyll cells facing intercellular spaces (S_{mes}). Also the net photosynthesis per S_{mes} was higher in autotetraploid than in the diploid plants. Increase in the leaf thickness and larger mesophyll volume are positively correlated with CER. Increase in carbon assimilation seems to be due to increase in S_{mes} and conductance.

3aB06

Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBisCO)と*Bacillus subtilis* RuBisCO-like protein (RLP)の機能的関連性

宅間弘樹[1]，齋藤洋太郎[1]，小林和夫[1]，小笠原直毅[1]，横田明穂[1]（[1]奈良先端大・バイオ）

RuBisCOはカルビンサイクルにおいてCO_2を固定する鍵酵素である。近年、驚くべきことにカルビンサイクルを有さないグラム陽性細菌*B. subtilis*がRuBisCOと相同性を示すRLPをコードする*ykr*W遺伝子を持つことが明らかになった。しかし*B. subtilis*にRuBisCOの基質ribulose-1,5-bisphosphateを合成するphosphoribulokinase遺伝子が存在せず、RLPは*B. subtilis*においてRuBisCOとは異なる反応を触媒していると予想された。*ykr*WはmethionineSalvage pathway (MSP)遺伝子オペロンと推察されるクラスターの先頭に位置している。そこでRLP破壊株を作製し、RLPがMSPにおいて機能しているか解析した。その結果、野生株ではMSP中間代謝物のいずれをも単一硫黄源に生育することができた。RLP遺伝子破壊株はmethylthioadenosine(MTA) で生育できなかったが、2-keto-4-methylthiobutyrate(KMTB)では生育することができた。この結果からRLPがMTAからKMTB間のMSPにおいて機能していることが明らかになった。また、このRLP遺伝子破壊株の表現型は光合成細菌*Rhodospirillum. rubrum rbc*L遺伝子により相補された。この結果はRuBisCOにもRLPと同反応の触媒能があることを示唆する。

3aB07

トウモロコシCO_2固定に酸素が必要である

大脇友裕[1]，浅田浩二[1]（[1]福山大・工）

C_4植物のトウモロコシは、CO_2濃縮機構を備えているため、光呼吸は維管束鞘細胞中で高濃度のCO_2により抑制されている。従ってC_4光合成はO_2濃度によって影響を受けにくい。しかし、我々はC_4植物の光合成にO_2が必要であることを見出したので報告する。

暗黒下でO_2濃度を0にし、光照射を開始すると、光合成CO_2固定や電子伝達速度は空気中でのこれらのレベルの20%以下であった。これに1%O_2を与えると、CO_2固定速度は21%O_2でのレベルに約20分で到達し、クロロフィル蛍光解析からみてΔpHも形成される。しかし、光照射しながらO_2濃度を21%から0%に低下させたときには、CO_2固定速度は低下しなかった。これらの結果から、トウモロコシ光合成にO_2が必要であるが、しかし、一旦光合成が開始された後は気相にO_2がなくてもCO_2固定は進行する。従ってCO_2固定に伴って発生するO_2が葉緑体外に拡散するよりも速い速度でWater-Water cycleに利用され、CO_2固定に必要なATPを生成していることを示唆している。

3aB08

部位特異的変異導入によるトウモロコシC_4型ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼのフレキシブルループの機能解析と活性化因子グルコース6-リン酸の推定結合部位の同定

寺田彰子[1]，小寺正明[1]，古本強[1]，松村浩由[2]，甲斐泰[2]，泉井桂[1]（[1]京都大院・生命科学・統合生命科学，[2]大阪大院・工・物質化学）

近年、我々は大腸菌ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ（PEPC）の立体構造を世界で初めて明らかした。その際、X線の反射が得られず立体構造を特定することができない構造（フレキシブルループ；[702-KRRPTGG-708]）を見いだした。これはPEPCの活性部位を覆うように配置しており、部位特異的変異酵素の機能解析によって、このループが重炭酸イオンの酵素への結合に関与している可能性が示され、さらにこの構造に塩基性残基を増やすことで触媒活性を向上させることに成功した。C_4 光合成に関与するトウモロコシ PEPC（ZmPEPC）についても同様の構造 [761-KRRPGGG-767]が存在することがわかり、今回、ZmPEPCについて5種類の変異型酵素の速度論解析を行い、この構造は触媒活性において様々な役割を担っていることがわかった。

また、ZmPEPC のX線結晶解析により、本酵素の活性化因子であるグルコース6-リン酸（G6P）の結合部位(R183、R184、R231、およびR372)が推定された。4種類の変異型酵素の速度論解析結果から、R183とR184はG6Pによる活性化に必須であることがわかった。

さらに、野生型ZmPEPCには重炭酸イオン濃度の高低に依存して二つの*K*m値が存在する、という新しい知見が得られたので、併せて報告する。

3aB09

*Flaveria*属のC3およびC4型植物を用いた新規C4光合成関連遺伝子の探索

山口鉄平[1]，泉田敦[2]，古本強[1,2]，泉井桂[1,2]（[1]京大院・生命，[2]京大院・農学研究科）

キク科の*Flaveria*属21種にはC3型からC4型までの連続的な光合成型の種が存在することが知られ、またそれぞれの植物の遺伝的背景は非常に近いといわれている。C4光合成について炭素代謝の酵素群はすでに明らかにされているが、2種類の細胞間や葉緑体内外の物質の移動に関与するタンパク質をはじめ、C4光合成の成立に関与するタンパク質は解明されていないものも多い。そのようなタンパク質を解明するために、C3型（*F. pringlei*）および C4型（*F. trinervia*）の2種を用いてC4型cDNAライブラリーに対するdifferential screeningを行った。単離した遺伝子の内から主要なC4光合成遺伝子を除き、C4型に高発現している新規遺伝子を単離した。その結果、約9000個のクローンから56個のクローンを単離することができた。それらは29種の独立したクローン群であり、現在までに11種が既知の遺伝子と相同性を持ち、12種が相同性を持たないことが判明した。今回単離したクローンの内には、動物において既知のトランスポーターと相同性をもち、植物で未解析な遺伝子が見つかった。この遺伝子はC4型の葉に特異的に発現し、昼に発現量が高い。現在この遺伝子の細胞内局在性および組織局在性を調べることで、C4光合成との関連性を検証中である。

3aB10

Sink-limit状態におけるC4植物のC3回路とC4回路を通じた光合成代謝の制御機構の解析

坂本竹史[1]，岩船美都[1]，佐藤真樹子[1]，葛西身延[1]，澤田信一[1]（[1]弘前大・農学生命）

C4植物の光合成source-sink制御機構は未解明な点が多い。そこで、我々はC4植物アマランサスのsourse-sinkモデル植物の光合成代謝の制御機構について解析を行ってきた。sink-limit状態に置かれたモデル植物では、1)光合成速度の低下、2)葉内へのsucrose蓄積、3)葉内のPi level低下が認められた。同時に、4)RuBPcase の initial activity、5)PEPcase、6)NAD-Malic Enzymeの活性の低下が認められた。sink-limit状態で低下したPEPcase活性はprotein kinase（Sigma P2625）とATP、Piを加えることによって完全に回復した。このprotein kinaseによるPEPcaseセリン残基のリン酸化はATPとの反応で進行する。そして、Piはprotein phosphatase活性を阻害することが報告されている。そこで、Okadaic acidをprotein kinase、ATPと共に加えると、sink-limit状態で低下したPEPcase活性は完全に回復した。従って、sink-limit状態においては、PEPcase protein kinaseが機能せず、protein phosphataseが機能することでPEPcaseセリン残基の脱リン酸化が起こり、PEPcase活性が低下すると考えられる。この制御には葉肉細胞内のPi levelが関与する可能性が示された。

3aB11

Source-limit状態におけるサツマイモのsource-sinkモデル植物の光合成代謝及び酵素活性の解析

佐藤真樹子[1]，葛西哲人[1]，矢尾知大輔[1]，亀谷陽次郎[1]，葛西身延[1]，澤田信一[1]（[1]弘前大・農学生命）

我々は、生育初期から塊根が肥大成長するサツマイモのsource-sinkモデル植物を用い、source-limit状態における光合成source-sink制御機構の解析を行なってきた。1)このモデル植物においては、葉、葉柄、shootは同化産物のsink器官としてはほとんど機能しないが、生育初期から塊根が活発な肥大成長をし、主要なsink器官となり、同化産物を集中的に蓄積した。2）塊根肥大によるsink能増大に伴なって、光合成速度（source能）は上昇し、3）RuBPcaseのinitial activityおよびtotal activityも上昇したが、4）maximum activityは実験期間を通じて高く、ほぼ一定の値であった。5）葉面積当たりのRuBPcase含量も、sink能の増大に伴なって増加した。以上の結果は、生育初期にはこのモデル植物がsink-limit状態にあり、RuBPcaseの活性が抑制されていたために、光合成速度が低下していたことを示す。そして、塊根の活発な肥大成長に伴なってsink能の増大が起こり、source-limit状態となり、RuBPcaseの活性抑制が解除され、RuBPcase含量が増加し、光合成速度が上昇したことを示す。

3aB12

Sink-limit状態におけるRuBPcase活性阻害物質による光合成制御機構

岩船美都[1]，葛西身延[1]，佐藤真樹子[1]，亀谷陽次郎[1]，澤田信一[1]（[1]弘前大・農学生命）

サツマイモのsource-sinkモデル植物を用い、光合成source-sink制御機構の解析を行なった結果、1）塊根が生育初期から活発に肥大成長を示し、主要なsink器官となって、同化産物の蓄積を開始した。2）塊根の肥大によるsink能増大に伴い光合成速度（source能）は上昇し、3）RuBPcaseのinitial activityと total activityも上昇したが、4）maximum activityは実験期間を通じて高く、ほぼ一定の値であった（佐藤らの本学会発表）。以上の結果から、生育初期では、このモデル植物はsink-limit状態にあり、塊根の肥大成長に伴ってsink能が増大し、sink-limitが解除されたことを示す。Sink-limit状態、及びsink-limitが解除された状態における葉中のRuBPcaseに結合していた阻害物質を分離し、精製されたRuBPcaseの活性に対する阻害効果を調べた結果、sink-limit状態の葉から得られた画分の阻害が非常に大きかった。以上の結果から、sink-limit条件下ではRuBPcaseに何らかの阻害物質が結合していることが明らかとなった。また、HPLCによるこの画分の解析の結果、この阻害物質は糖リン酸である可能性が示唆された。

本研究では、サツマイモのsink-limit条件下における光合成の低下は、RuBPcaseへの阻害物質の結合により、その活性が低下するためであることを示した。

3aC01

イネマイクロアレイプロジェクト：システムの確立と進捗状況

島谷善平[1]，矢崎潤史[2]，岸本直己[2]，藤井文子[2]，真保佳納子[1]，長田夕子[1]，橋本晶子[1]，太田智弥[2]，山本公子[1]，坂田克己[2]，佐々木卓治[2]，菊池尚志[2]（[1]農林水産先端技術研究所，[2]農業生物資源研究所）

我々は、Rice Genome Research Program（RGP）における大量cDNA解析の結果に基づき、約10000の独立ESTクローンを選抜してcDNAマイクロアレイを作製し、イネ遺伝子の発現解析を行うためのシステムを構築した（http://cdna01.dna.affrc.go.jp/RMOS/main.html）。マイクロアレイは1265のcDNAクローン（phase I）と8987クローン（phase II）から構成され、それぞれにインサート全長および遺伝子特異的領域（3'-Un Translated Region：3'-UTR）をスポットしたアレイを作製した。3'-UTRマイクロアレイは、インサート全長マイクロアレイに比べてシグナル強度が低くなるものの、より特異性の高いシグナルを検出できる特性を持つ。イネの異なる組織をターゲットサンプルとした発現解析により、本システムは機能未知遺伝子の機能解析に有力なツールとなることが示された。また、合成オリゴヌクレオチド（70mer）をプローブとしてスライドガラス上に固定したオリゴヌクレオチドについても現在検討を進めている。

プローブの配列デザインによって、より特異的なシグナルの検出が可能となること、そしてPCR等の行程を必要としない利便性から、オリゴヌクレオチドアレイは有用な技術として活用が期待ができる。

3aC02

cDNAマクロアレイデータの分布とデータ処理の実際

大林武[1]，佐々木結子[1]，堀越真喜子[1]，島田裕士[1]，増田建[1]，柴田大輔[2]，田畑哲之[2]，高宮建一郎[1]，太田啓之[1]（[1]東工大・生命理工，[2]かずさDNA研究所）

シロイヌナズナのゲノムシーケンスが終了し、高等植物においても大規模機能解析への流れが強くなっている。我々はシロイヌナズナのDNAアレイコンソシアム（JCAA）の一員として、かずさDNA研究所が発表したEST cloneを用いてマクロアレイメンブレンを作成している。cDNAマクロアレイは、すでに報告の多いマイクロアレイと同じく膨大なデータを得ることが出来、ゲノムワイドな発現解析が可能である。しかし、データが出た後の解析手法は有用なものが数多く発表されているが、解析を進める上で重要な生データの信頼性や特性に関するものは少なく、またマクロアレイを対象にしたものは無い。

本発表では、我々の用いている cDNA マクロアレイデータにおける、その信頼性の評価方法、及びその後の解析方法（基準を満たした数回分のデータセットをメジアンで標準化し対応のある分散分析を行う）について発表する。具体的には生データより得られる発現分布、各スポットの分散、さらに分散分析の結果とノザンブロットとの対応を紹介し、そこから生データの標準化方法、必要な繰返し実験回数、バックグラウンドの取り扱い等について提案する。

3aC03

シロイヌナズナのプロテオミクス：強疎水性膜蛋白質の網羅的解析

佐塚隆志[1]，気多澄江[2]，白武勝裕[2]，山木昭平[2]，柴田大輔[1]（[1]かずさDNA研究所，[2]名大・院・生命農学）

シロイヌナズナの全ゲノム配列決定が決定された現在、ゲノム生物学の立場から植物生命現象を解明するためには、網羅的蛋白質解析（プロテオミクス）が不可欠である。シロイヌナズナゲノム上には約25,500遺伝子が推定され、その翻訳産物の内、一回以上の膜貫通領域を含む蛋白質は約11,000(43%)、2回以上で約4600(18%)にも及ぶ。本研究では膜プロテオームに注目し、シロイヌナズナ地上部ホモジェネートからショ糖密度勾配超遠心法により得た液胞膜濃縮画分を用い、その強疎水性蛋白質をSDS-PAGE、ゲル内消化、逆相HPLCの組み合わせによって消化ペプチドを網羅的に分離した。その主なペプチドについてはアミノ酸配列決定を行い、63のペプチド内在配列を決定した。この配列をゲノムと対応付けたところ、37のペプチドタグ配列が34遺伝子に対応し、またゲノムの冗長性から26配列が60遺伝子に1対多対応した。この計94蛋白質は、50が1回-15回膜貫通型であり、既知液胞膜蛋白質の他、機能未知なトランスポーター/チャンネル、GTPase、仮想蛋白質などに分類された。またESTが得られていない仮想遺伝子も蛋白質レベルで同定された。

3aC04

Gene expression analysis of *Lotus japonicus* nodulation process using the micro-SAGE method

浅水恵理香[1]，佐藤修正[1]，田畑哲之[1]（[1]かずさDNA研）

In order to monitor the global gene expression pattern during the nodulation process in leguminous plants, we have initiated SAGE analysis. SAGE is a sequence-based method for genome-wide gene expression analysis. Position defined 10 base tags are generated and cloned into a vector after concatenation. The frequency of each tag in the sequence directly reflects the transcript abundance in a tissue. It can quantify and compare the expression level of different genes within a tissue, while cDNA array compares that of individual genes among experimental samples. Since SAGE does not need preexisting clones, it can identify new genes.

In this study, comparison of expression profiles was made among 3 distinct stages of nodulation process of a model legume, *Lotus japonicus*, by applying the micro-SAGE method[1]. Expression profiles of 7,600 transcripts represented by a total of 71,000 tags were analyzed.

(1) Velculescu, V. E. et al. (2000) Trends Genet. 16, 423-425

3aC05

モモ果実で発現するcDNA1,300クローンの解析

今井剛[1]，山本俊哉[1]，持田耕平[2]，松田長生[1]，林建樹[1]
([1]果樹研・遺伝育種，[2]東京農工大・農)

果実で発現している遺伝子群を網羅的に解析し，果実形質との関連を明らかにするため，モモ果実(幼果(#1)および成熟果(#5))のcDNAライブラリークローンの大量解析を行っている。

品種「あかつき」の果実よりcDNAライブラリーを作製した。500base以上のインサートを持つクローンについて5'側の部分配列を決定し，FastA/FastXにより登録配列とのホモロジーサーチを行ってcDNAクローンの機能を推定した。

現在までに#1由来約1,000，#5由来約300クローンの塩基配列を決定した。約半数が既知遺伝子との相同性を示した。#1と#5で重複して得られたクローンは少なく，ライブラリー内の重複を含め全体の10%未満であった。3%程度のクローンに2-6塩基を単位とする反復配列がみられ，一部は品種間、種間で多型を示しDNAマーカーとして有用であった。反復配列の多くは非翻訳領域中と推定されたが，ORF中にみられた4クローンでは，3ないし6塩基の反復単位であった。ORFをすべて含むクローンにおいて推定開始コドンの直前にAが3-4塩基続く傾向がややみられた。

現在，単離したクローンを用いたマイクロアレイ解析の準備をしている。果実発達に伴う発現量の変化についても報告する予定である。

3aC06

イネの完全長cDNAデータから推測される遺伝子制御機構の特徴

永田俊文[1]，佐藤浩二[1]，河合純[2]，カルニンチピエロ[2]，林崎良英[2]，大友泰裕[3]，村上和雄[3]，松原謙一[3]，菊池尚志[1] ([1]農業生物資源研究所・分子遺伝，[2]理研・GSC・遺伝子構造機能/生体分子機能，[3]国際科学振興財団)

イネ及び植物のシグナル伝達系の特徴を解明する目的で、イネ完全長cDNA配列データ（約1万6千）について、BLAST searchを用いて、動植物の既存の遺伝子の相同遺伝子を検索し、類似した遺伝子制御系による生命現象の調節機構の有無を調べた。

その結果植物のシグナル伝達系には（1）膜結合性レセプター（2）リガンド結合性レセプター（3）MAP kinase カスケード（4）calmodulin 系シグナル伝達系（5）G-protein系シグナル伝達系因子（6）細胞周期遺伝子が存在している一方で、動物において重要であり保存性の高い（1）サイトカイン受容体系シグナル伝達系（2）アポトーシスシグナル伝達系（3）発生誘導シグナル伝達系（4）細胞間クロストークシグナル伝達系（5）細胞骨格制御機構（6）アダプタータンパクネットワークが確認されなかった。そして、個々の転写因子についても動物に保存性の高いもので植物で確認されなかったもの（JAK1, Sos, bcl-2, ced-9, HES1, E1A, Grb2, p53, p21, Smad, Rb, EGR）や共通して確認された核内因子（E2F, myb, myc, jun）そして、植物特異的な構造のもの（TUBBY-like, CPP-like, E2F/DP, AP2/EREBP, NAC, WRKY, ARF, YABBY）の存在が明らかとなった。

3aC07

シロイヌナズナの細胞壁構築関連遺伝子ファミリーの解析

横山隆亮[1]，尾山美佳[1]，西谷和彦[1] ([1]東北大・院・生命科学)

植物の細胞壁は高分子多糖などから構成されるダイナミックな細胞構造であり、多数の遺伝子ファミリーにコードされる多様な酵素群によって細胞外で構築される。シロイヌナズナでは細胞壁構築に関与する遺伝子ファミリーが多数同定されているが、これら遺伝子ファミリー内の全遺伝子の発現様式の全貌を明らかにした例はほとんどない。その原因の一つは遺伝子ファミリー内の個々の遺伝子を区別して解析する難しさによるものであった。我々は遺伝子特異的オリゴDNAマイクロアレイ法とリアルタイムRT-PCR法を用いた発現解析を組合せることによって一度に多数の遺伝子の正確かつ定量的な発現解析を可能にした。解析の結果、同一遺伝子ファミリー内においても、独自の発現様式を示す遺伝子と、類似の発現様式を示す一群の遺伝子とが混在することが明らかになった。系統学的解析から、類似の発現様式を示す遺伝子群の多くはゲノム重複等により派生した遺伝子であることが示唆された。我々はこれらの遺伝子の上流領域に共通の保存された塩基配列が存在すること、そしてその共通配列がシス領域として共通の発現様式を促すことを示した。以上の結果をもとに、遺伝子ファミリーの発現様式の進化的多様性と共通性について議論する。

3aC08

DNAマイクロアレイシステムを用いたキチンオリゴマー応答性遺伝子の探索

秋本千春[1]，田中喜之[1]，矢崎潤史[1]，岸本直己[1]，菊池尚志[1]，澁谷直人[1]，南栄一[1] ([1]農業生物資源研究所)

キチンオリゴマーをイネ培養細胞に作用させると，一連の初期応答を経て遺伝子発現やファイトアレキシン生成等の防御応答が観察される．我々はこれまで，初期応答と防御応答に関連する遺伝子の発現が関連していることを明らかとした．ここでは，イネの膨大な遺伝情報が，キチンオリゴマーによってどのように変化するかについての網羅的な知見を得ることを目的として，1回の実験で膨大な量の遺伝子発現データを得られる画期的な技術であるマイクロアレイ技術を用いて検討を行ったので報告する．第1期イネゲノムプロジェクトにより集められた約4万クローンの中から選び出された8987クローンをプローブとして用い，キチンオリゴマー処理前後の培養細胞から抽出したmRNAを鋳型としてCy5にて蛍光標識した一本鎖cDNAを調整し，ハイブリダイゼーションを行った．その結果，241クローンがキチンオリゴマーによって変化することが明らかとなった．それぞれの遺伝子をその機能から分類したところ，1次代謝，2次代謝およびシグナルトランスダクションに関連する遺伝子の多くが誘導されるのに対し，翻訳に関連する遺伝子の多くは発現が抑制される傾向があることが明らかとなった．また，いくつかの興味深い遺伝子がキチンオリゴマーによって変化することがはじめて明らかとなったので報告する．

3aC09

シロイヌナズナTag-lineを用いた器官特異的発現遺伝子の解析

加藤友彦[1]，佐藤修正[1]，田畑哲之[1]（[1]かずさDNA研）

シロイヌナズナ全ゲノムの塩基配列決定により、さまざまな手法を用いた大規模な遺伝子の機能解析が進められている。シロイヌナズナでは多数のTag-lineから特定の遺伝子の破壊株を分離することが、遺伝子の機能解析を行ううえで重要な手法の1つになっている。我々は、植物遺伝子の包括的な機能解析にむけてT-DNA Tag-lineの大規模な作製を行ってきた。導入するT-DNAの中にはレポーター遺伝子としてGUS遺伝子を挿入しており、ジーン・エンハンサートラップ法による遺伝子の発現解析が可能である。T-DNAには*Ac/Ds*系トランスポゾンも含まれており、T-DNA挿入位置からさらにトランスポゾンを転移させ近傍の遺伝子を破壊することが可能になっている。このトランスポゾンの中にはルシフェラーゼ遺伝子が挿入されており、*Ds*の転移後ジーントラップ法による解析が可能である。これまでに50,000のT-DNA挿入ラインを作製しており、このうち20,000ラインについてはGUS染色による発現パターンの解析を終了した。GUS染色は各ラインの根・葉・花器官・種子などについて調べており、現在、根でGUSの発現が見られたラインについて解析を進めている。またトランスポゾン転移の基点となる141ラインを同定し、*Ds*が転移したラインでルシフェラーゼ遺伝子の発現を確認している。

3aC10

理研ゲノム科学総合研究センター(GSC)植物機能情報研究グループプロジェクトの全体計画

松井南[1]，篠崎一雄[1]（[1]理研 GSC 植物ゲノム機能情報）

理研GSC植物ゲノム機能情報研究グループでは、シロイヌナズナの大規模なトランスポゾンタグライン、アクティベーションタグラインの作製、完全長cDNAの作製と配列決定を行い、それらの機能データベース構築を行っています。また植物特異的タンパク質の3次元構造決定をタンパク質構造・機能研究グループと進めています。これらの計画について説明します。

3aC11

シロイヌナズナ完全長cDNAエンサイクロペディアの作製と遺伝子の機能・発現解析への利用

関原明[1,2]，鳴坂真理[1]，石田順子[1]，神谷麻子[1]，中嶋舞子[1]，槐亜希子[1]，大野陽子[2]，佐藤将一[1]，秋山顕治[1]，櫻井哲也[1]，藤田美紀[1]，楠城時彦[2]，篠崎和子[3]，Joseph Ecker[4]，Ronald W. Davis[5]，Athanasios Theologis[6]，村松正實[7]，林崎良英[7]，河合純[7]，Piero Carninci[7]，伊藤昌可[7]，石井善幸[7]，荒川貴博[7]，柴田一浩[7]，品川朗[7]，篠崎一雄[1,2]（[1]理研GSC・植物ゲノム，[2]理研・植物分子，[3]国際農研，[4]Salk Inst.，[5]Stanford Gen. Tech. Cent.，[6]PGEC，[7]理研GSC、遺伝子構造）

2000年にシロイヌナズナの全ゲノム配列が決定されたが、我々は数年前より、ポストシーケンシング時代において、遺伝子の機能解析において完全長cDNAが重要になると考え、シロイヌナズナ完全長cDNAの単離を進めてきた。これまでに、種々のストレス・ホルモン処理した植物体や種々の発生段階の植物体などを出発材料する19種類の完全長cDNAライブラリーを作製し、約15万個のcDNAクローンを単離した。それらをクラスタリングすると約15,000個の独立したcDNAグループに分類された。また、我々はシロイヌナズナ完全長cDNAの全長塩基配列決定も昨年度より開始し、これまでに約4700個のcDNAについて全長塩基配列を決定し、全長配列DataをGenBank Databaseに登録した。さらに、これまでに単離した完全長cDNAクローンを用いて完全長cDNAマイクロアレイを作製し、種々の条件や変異体における発現プロファイル解析を進めてきた。今回の発表ではシロイヌナズナ完全長cDNAクローンを用いて我々が進めている発現、機能解析の現状と今後の予定について報告する。

3aC12

シロイヌナズナトランスポゾンタグラインの挿入位置ハイスループット解析とデータベースの作製

黒森崇[1]，平山隆志[1,2]，伊藤卓也[2]，清末有希[1]，高部寛子[1]，水門佐保[2]，篠崎一雄[1,2]（[1]理研・GSC・植物ゲノム機能情報，[2]理研・筑波・植物分子）

シロイヌナズナのゲノム情報が充実してきた現状で、私達は機能ゲノム学的手法の一つとして、トランスポゾンを用いた変異株ラインの作製を行っている。トランスポゾンAc/Dsのシステムを利用し、これまでに数千ラインのシロイヌナズナ変異体を確立した。確立された各ラインについて、ゲノムDNAを抽出しトランスポゾン挿入部位の近傍配列をアダプターを用いたPCR法で増幅しその塩基配列を決定することで、各ラインにおけるトランスポゾンのゲノム上での挿入位置の同定を行っている。分注用ロボットを導入しオートメーション化を図ることで一連の作業の大量かつ迅速な解析を可能にした。これまでに配列を解析した約4000ラインについては、予測されるトランスポゾン挿入位置、そこから最も近い予想されるコーディング領域、そのコーディング領域のホモロジー検索の結果を併せたデータベースを作製し、共同研究用データベースとして既に公開を始めている。

3aC13

理研GSCアクティベーションタグラインから得られた優性および半優性突然変異体について

中澤美紀[1]，市川尚斉[1]，石川明苗[1]，小林裕子[1]，松井南[1]（[1]理研GSC・植物変異探索）

理研GSC植物ゲノム機能情報研究グループではシロイヌナズナを用いた網羅的な遺伝子変異を作成して植物遺伝子の機能解析をめざしている。このために植物変異探索研究チームでは大規模なアクティベーションタギングの作成を行っている。

アクティベーションタギング法では、エンハンサーを含むT-DNAのゲノム上への挿入により近傍の遺伝子を過剰発現させる。ノックアウト型の変異と異なり遺伝子過剰発現体においては、T1世代において表現形質が優性または半優性として現れることが期待される。私達はシロイヌナズナアクティベーションタグライン約10,000ラインについて作成中に観察したT1世代での表現形質を調べた。表現形質の観察は変異体の出現頻度を求める目的で行った。観察の指標とした形質は、1）ロゼット葉の形状、2）花茎の出現時期、3）托葉の形状、4）ロゼット葉および子葉の色、5）花の形態、5）背丈、6）頂芽優性等である。得られた変異体候補のいくつかについては、変異の安定性を調べる目的でT2世代において変異形質が遺伝するか確認を行った。変異体の出現頻度とT2における変異形質の確認および研究の進行状況について報告する。

3aC14

シロイヌナズナアクティベーションタギングライン作成中に観察された表現型質とT-DNA挿入部位のデータベースの作成

市川尚斉[1]，中澤美紀[1]，川島美香[1]，合田和史[1]，後藤有希子[1]，松井南[1]（[1]理研GSC・植物変異探索）

われわれはCaMV35Sエンハンサー配列を持つT-DNAをシロイヌナズナゲノム中に無作為に挿入を行い、網羅的な遺伝子過剰発現変異体を作成している。変異体作成中に、茎伸長、分枝、稔性、花形態、葉形態等の指標を用いて観察を行った。これら変異体候補については、変異を確認する目的で次世代へ回すと共にT-DNA挿入部位の塩基配列決定をプラスミドレスキュー法によって行っている。この情報を元にして、シロイヌナズナゲノム上のT-DNA挿入部位と、方向を同定し、挿入部位上下流10kb以内にある遺伝子の記載を行い、この遺伝子アノテーションリストと先の表現型を記載したデータベースを作成している。

3aC15

理研バイオリソースセンターより分譲を受けられるシロイヌナズナリソースについて

小林正智[1]（[1]理研・BRC）

平成13年春に理研筑波研究所にバイオリソースセンター（BRC）が設立され、植物リソースについては実験植物開発室が担当して業務を開始しました。BRCは主として日本で作成された生物資源を保存・分譲することにより研究への利用を促進し、生命科学の発展を加速することを目的としています。当面の間、BRCより分譲を行う植物リソースはシロイヌナズナを中心とした植物種子、植物遺伝子、及び植物培養細胞です。現在は逆遺伝学的アプローチに使用可能なリソース、すなわち理研ゲノム科学総合研究センター（GSC）で作成した変異体シロイヌナズナ種子（トランスポゾンタギングライン）やシロイヌナズナ完全長cDNAなどの試験的な分譲を行っております。今後順遺伝学的アプローチ（スクリーニング）に利用可能なリソース（アクティベーションタギングライン種子）についても分譲を予定しています。また宮城教育大学後藤教授の運営するシロイヌナズナ種子保存センター（SASSC）との連携も行っており、SASSCで分譲している野生株などの種子についても将来寄託を受ける予定です。なお現在平成14年度より理研外からのリソースの寄託依頼に応じるための準備を行っています。本発表ではこれらのリソースの性状やリソースを利用する際の注意点、分譲を受けるための手続について説明いたします。

3aD01

イネ26Sプロテアソームの遺伝子発現解析

高瀬智将[1,2]，柳川由紀[1,2]，梅田正明[3]，宇垣正志[4]，光原一郎[2,5]，大橋祐子[2,5]，橋本純治[2,5]，中川弘毅[1,2]（[1]千葉大・園芸，[2]CREST，[3]東大・分生研，[4]東大院・新領域創成，[5]生物研）

26Sプロテアソームは、ポリユビキチン化タンパク質などの基質を特異的に認識して分解する複合体プロテアーゼであり、調節サブユニットと活性サブユニットによって構成される。真核細胞が正常に増殖するためには26Sプロテアソームによるタンパク質分解調節が必須である。真核生物に保存されている26Sプロテアソームでも、その転写調節は生物種間で異なっている可能性がある。そこで、我々はイネ26Sプロテアソームの各サブユニット遺伝子の転写調節について研究を行った。

調節サブユニットの Rpn3 遺伝子と活性サブユニットのC2遺伝子をプローブとしたin situハイブリダイゼーションを行った結果、生育の盛んな組織および分化の初期段階にある組織において、この2つの遺伝子の発現が高いことがわかった。さらに、in vivoにおける26Sプロテアソーム遺伝子の転写調節を確認するため、調節サブユニットのRpn10遺伝子をイネに導入した形質転換体を作出し、比較した。その結果、導入したRpn10遺伝子の発現増加とともに、C2遺伝子のmRNA発現も増加していた。また、イネ培養細胞にプロテアソーム阻害剤を添加すると、Rpn10遺伝子とC2遺伝子の転写が促進した。プロテアソーム阻害剤を添加したとき、26Sプロテアソーム遺伝子以外にβ-チューブリン遺伝子も転写が促進することを見いだした。この阻害の程度はβ-チューブリンのアイソフォームによって異なっていた。

3aD02

タバコ培養細胞における糸状菌エリシターによるBタイプサイクリン遺伝子の転写抑制

鈴木馨[1]，中山裕子[1]，伊藤正樹[2]，進士秀明[1]（[1]産総研・分子細胞工学部門・遺伝子機能制御，[2]東大・院・理系・生物科学）

感染防御応答を誘導する糸状菌エリシターをタバコ培養細胞（XD6S株）に処理することによって，サイクリン遺伝子（*Ntcyc25*，*Nt-CYM*，*CycD3.2*）のmRNAレベルの急激な低下を引き起こすことをこれまでに見いだした。今回は，Bタイプサイクリン遺伝子のエリシターによる発現抑制の機構についてさらに解析を進めた結果について報告する。タバコにおいてM期特異的な発現を示すニチニチソウの*CYM*遺伝子のプロモーターにリポーター遺伝子としてルシフェラーゼ（*LUC*）遺伝子を接続した*CYM* promoter::*LUC*を導入したXD6S細胞のカルスにおいて，*Trichoderma viride*が生産するキシラナーゼ（TvX）をエリシターとして処理するとLUC活性の低下が見られた。これは，TvXに応答して*CYM*遺伝子の転写抑制が起こることを示している。また，*CYM*遺伝子プロモーター中にあってM期特異的な転写を活性化するMSA配列を介した転写活性についてもTvXによる抑制が見られた。さらに，MSAを介した転写を調節する転写因子遺伝子*Ntmyb*の発現レベルもTvXによって低下することを見いだした。

3aD03

Cell Cycle Arrest during Proteinaceous Elicitor-induced Hypersensitive Cell Death in Tobacco BY-2 Cells.

門田康弘[1]，斉藤涼子[1]，渡邊崇[1]，佐野俊夫[2]，長田敏行[2]，朽津和幸[1,3]（[1]東京理科大・理工・応用生物科学，[2]東京大・理・生物科学，[3]東京理科大・ゲノムセンター）

A proteinacious elicitor, cryptogein induced hypersensitive cell death in suspension-cultured tobacco BY-2 cells. The cell death was completely inhibited by an anion channel blocker and a protein kinase inhibitor, suggesting that ion channel cascade and protein phosphorylation play important roles in the regulation of the programmed cell death (PCD). The elicitor induced various rapid plasma membrane ion fluxes. Pharmacological studies suggested that plasma membrane Ca^{2+} channel(s) and anion (Cl^-) channel(s) are involved in initial cellular responses leading to PCD. The elicitor also inhibited cell growth, suggesting that cell cycle arrest is induced prior to PCD. To elucidate the relationship between cell cycle regulation and PCD, we synchronously cultured BY-2 cells. Cell cycle arrest at specific checkpoint(s) was observed. Possible roles of cell cycle regulation on PCD, as well as possible molecular mechanisms for the elicitor-induced cell cycle arrest will be discussed.

3aD04

脱分化過程におけるsnRNAレベルの変動とSRD2の役割

大谷美沙都[1]，杉山宗隆[1]（[1]東大院・理・植物園）

分化した細胞が増殖可能、再分化可能な状態へと変化する脱分化は、植物細胞の持つ分化全能性発現の最初期における重要な過程である。しかしながら脱分化のメカニズムについては、まだ不明な点が多い。私達は脱分化と分裂組織形成に関して温度感受性を示すシロイヌナズナ変異体*srd2*を材料として、分化全能性発現の分子レベルでの理解を目標に研究を進めているが、今回は特に脱分化についての解析結果を報告する。これまでに*SRD2*遺伝子を単離し、その推定産物がヒトのsnRNA転写活性化因子、SNAPcのサブユニット（SNAP50）と相同性を有していることを示した。このことからSRD2タンパク質がsnRNA転写に関与している可能性が推測された。胚軸外植片の脱分化過程におけるsnRNAレベルの変動を調べたところ、snRNA蓄積量が細胞増殖開始に先だって増大すること、この増大が*srd2*変異によって抑制されることが明らかとなった。また、脱分化過程において*SRD2* mRNAが一過的に発現することも分かった。これらの結果は、snRNAレベルの上昇が脱分化の重要な要素の一つであり、このsnRNA増加にSRD2が関与しているということを示している。さらに*SRD2*発現がオーキシン、サイトカイニンに応答して起こることを見いだした。これは脱分化における植物ホルモンの役割の少なくとも一端が、*SRD2*発現誘導にあることを示唆するものであり、きわめて興味深い。

3aD05

シロイヌナズナE2F/DP転写因子ファミリーの機能解析

小杉俊一[1,2]，大橋祐子[1,2]（[1]農業生物資源研，[2]CREST）

細胞周期のG1(G0)-S期進行の制御に重要な役割を果たすE2F転写因子は、シロイヌナズナに6つ存在し、E2Fとの2量体形成タンパク質であるDPは2つ存在する。我々はこれら8つのタンパク質について解析を行った。動物E2Fとほぼ全領域にわたって相同性を持つAtE2F1-3のDNA結合能は、DPaまたはDPbとのヘテロ2量体形成によって、いずれも同程度上昇した。AtE2F2は転写活性化能を示さなかったが、AtE2F1およびAtE2F3は、DPa依存的な転写活性化能を示した。GFP融合タンパク質を用いた解析の結果、これら5つのタンパク質は単独では核に局在しなかったが、AtE2F1とAtE2F3はDPaとの共発現時に核に移行した。これらの結果は、AtE2F1とAtE2F3のDPa特異的な転写活性化機能が、これらの2量体形成を介した核移行によって制御されていることを示す。この2量体形成依存的な核移行には、AtE2F3のN末に存在する核移行シグナル様配列と2量体形成ドメインに存在する核外移行シグナル様配列が重要な役割を果たした。一方、E2FのDNA結合ドメインのみと相同性を有するE2L1-3は、AtE2F1-3とは対照的に、DPとは2量体を形成せずに単量体でDNA（E2F結合配列）に結合し、E2Fによって活性化されるプロモーターを抑制する活性を持つ核タンパク質であった。以上の結果から、植物のE2Fによる細胞周期制御は動物のものとは幾分異なった機構となっていると考えられる。

3aD06

コムギ転写因子HBP-1a(17)の塩基配列認識領域の決定

合田名都子[1]，森田勇人[2]，飯哲夫[3]，岩淵雅樹[4]，林秀則[1]（[1]愛媛大院・理工・物資理，[2]愛媛大学遺伝子実験施設，[3]京都大院・理・植物，[4]岡山県生物科学総合研究所）

コムギのタンパク質HBP-1a(17)は、細胞周期S期におけるヒストン *H3*遺伝子の特異的発現の調節に関与するbZIP型の転写因子である。*H3*遺伝子のプロモーター領域には、type Iエレメントと呼ばれるS期特異的転写を調節するシスエレメントが存在し、HBP-1a(17)はtype Iエレメント中のヘキサマーモチーフモチーフ(CCACGTCA)に結合して転写を活性化する。本研究では、HBP-1a(17)がヘキサマーモチーフを特異的に認識する機構を明らかにすることを目的とし、ヘキサマーモチーフの選択的認識に必要な最小領域の決定を試みた。

HBP-1a(17) のbZIP ドメインのロイシンジッパー領域側と塩基性領域側の両端をそれぞれ欠損させた組換えHBP-1a(17)を作製し、gel retardation assayによりヘキサマーモチーフを含むDNAに対する結合能を調べた。その結果、ロイシンジッパー領域の中で、前の3つのロイシン残基を含む部分があればDNAへの結合能を保てることがわかった。また、塩基性領域は、そのN末端側にさらに10残基以上存在していないと、DNAへの結合を安定化できないことがわかった。以上の結果より、HBP-1a(17)のヘキサマーモチーフへの結合に必要な、アミノ酸71残基の最小領域を決定した。

3aD07

c-Myb様転写因子による細胞周期G2/M期転写制御

伊藤正樹[1]，荒木智史[2,3]，町田泰則[2]（[1]東京大・院・理系・生物科学，[2]名大院・理・生命科学，[3]石原産業株式会社）

真核生物における細胞周期進行の秩序の維持には、細胞周期中に起きる時期特異的な遺伝子発現が重要であると考えられている。動物、酵母、植物においてB-typeサイクリン遺伝子はいずれもG2/M期に特異的に転写されるが、そのメカニズムは異なっており、それぞれにおいて独自のメカニズムが存在している。高等植物におけるB-type サイクリン遺伝子のプロモーター領域にはAACGGをコアとする11塩基のコンセンサス配列が共通に存在し、この配列がG2/M期特異的プロモーター活性化に必要かつ十分な*cis* element (MSA element)として働く。この*cis* elementはB-typeサイクリン遺伝子ばかりではなく同時期に発現する遺伝子群を共通に制御する。この element に結合する 3 種類の c-Myb 様の転写因子（NtmybA1, NtmybA2, NtmybB）を同定した。NtmybA1、A2はMSA elementに結合する転写活性化因子であり、自身の遺伝子がG2/M期特異的に発現する。一方、NtmybBは恒常的に発現する競合的な転写抑制因子である。従って、B-typeサイクリン遺伝子などの一群のG2/M期遺伝子の転写は、NtmybA1、A2の周期依存的な活性変動により制御されていると考えられる。今回は、これら転写因子が受ける翻訳後修飾による活性制御、および自身の遺伝子のG2/M期特異的転写の制御機構を解析したので報告する。

3aD08

センダイヒメツリガネゴケの頂端細胞で発現するキネシン様タンパクAPI1の細胞内局在

日渡祐二[1]，藤田知道[1]，村田隆[1]，長谷部光泰[1,2]（[1]基生研・種分化第二，[2]総研大・生命科学）

ヒメツリガネゴケの頂端細胞は、自分自身である頂端細胞と植物体の組織や器官を構成する細胞に不等分裂する幹細胞である。我々は幹細胞の細胞分裂機構を明らかにする目的で、頂端細胞で発現するキネシン様タンパクAPI1を解析している。今回は、API1タンパクの細胞内局在を明らかにするために*GFP*融合遺伝子を用いた解析を行った。*API1*遺伝子終始コドンの直前に*GFP*遺伝子を相同組換えにより挿入し、API1-GFP融合タンパクを発現する形質転換体を作成した。この形質転換体についてGFP蛍光を観察したところ、分裂期の頂端細胞では形成されつつある細胞板周縁部にGFPシグナルが得られたことから、API1はフラグモプラストあるいは細胞板形成に関連する可能性が示唆された。一方、間期の細胞ではGFPシグナルは核に局在した。さらに、この細胞内局在を担うアミノ酸領域を調べるために、アミノ酸領域を一部欠失して発現する*API1*cDNAを作製し、構成的プロモーターを用いて欠失型API1-GFP融合タンパクとして発現させた。その結果、モータードメインに隣接するC末側領域を欠失させた場合に細胞板周縁部および核への局在性は失われたことから、API1の細胞内局在にはこのC末側領域が必要であることが示唆された。これらの結果をふまえて頂端細胞におけるAPI1タンパクの細胞内局在と機能を考察したい。

3aD09

タバコNQK1 MAPKKは細胞質分裂を正に制御する因子の一つである

征矢野敬[1]，西浜竜一[1]，石川雅樹[1]，町田泰則[1]（[1]名古屋大院・理）

真核生物に広く保存されるMAPK（mitogen-activated protein kinase）カスケードはMAPKKK（MAPK kinase kinase)、MAPKK（MAPKK)、MAPK によって構成され、様々な情報伝達に関与する。タバコのNPK1 MAPKKK は細胞質分裂を正に制御する因子の一つであり、キナーゼ不活性型のNPK1をタバコ細胞に過剰発現させることによって不完全な細胞壁を持った多核細胞が出現する。我々は、NPK1 の下流因子の候補として NQK1 MAPKK及びNRK1 MAPKを同定しており、これらは生化学的にNPK1と共にMAPKカスケードを構成でき、三つのプロテインキナーゼは細胞周期M期の後半に活性化されることを既に報告した。今回、我々はNQK1の生理学的機能を解析する目的でキナーゼ不活性型及び活性化型のNQK1を誘導系によってタバコ細胞に発現させた。その結果、キナーゼ不活性型NQK1の過剰発現によって多核細胞が出現し、活性化型NQK1によって内在性のNRK1が活性化された。こららの結果は、NQK1がNPK1と同様に細胞質分裂を正に制御する因子であり、且つNRK1の活性化因子として植物細胞内で機能することを示唆している。さらに活性化型NQK1を発現させた細胞では核や隔壁にいくつかの異常が観察された。これらの形質異常についても報告したい。

3aD10

CDKのリン酸化による細胞分裂の活性化機構の解析

下遠野明恵[1]，黄継栄[1]，梅田正明[1]，内宮博文[1]（[1]東大・分生研）

細胞周期の進行にはサイクリン依存性キナーゼ群（Cyclin-dependent kinases; CDKs）による厳密な制御が不可欠である。CDKは特定のスレオニン残基のリン酸化により活性化されるが、この反応を触媒するのがCDK活性化キナーゼ（CDK-activating kinase; CAK）である。

アラビドプシスには4種類のCAK相同遺伝子（*cak1At-cak4At*）が存在するが、Cak1Atは一次構造の上でも、基質特異性の点からも新規なタイプのCAKと位置付けられるのに対して、Cak2At, Cak3At, Cak4Atは動物や分裂酵母のCAKとの相同性が高い。そこで、これらのCAKの生化学的性質を解析したところ、Cak2Atが動物タイプのCAKであることを示唆する結果が得られた。一方、酵母を用いた遺伝学的解析の結果、Cak1AtがCak2Atの上流で機能する可能性が示唆された。そこで、Cak1Atの免疫沈降物および組み換えタンパク質を用いてリン酸化アッセイを行ったところ、Cak1AtがCak2AtのT-loop領域内のスレオニン残基を特異的にリン酸化することが明らかとなった。また、アラビドプシスのプロトプラストを用いて、CAK-GFP融合タンパク質を一過的に発現させたところ、Cak1At, Cak2Atとも核に局在することが示された。以上の結果はアラビドプシスにCAKを介したCDKのリン酸化カスケード（Cak1At→Cak2At→CDK）が存在することを示唆するものである。

3aD11

イネのCDK活性化キナーゼ（CAK）を制御するシグナル伝達機構の解析—CAKとサイクリンHを導入した形質転換体の解析—

山口雅利[1]，山村三郎[2]，梅田正明[1]，内宮博文[1]（[1]東京大・分生研，[2]財団法人岩手生物工学研究センター）

CDK活性化キナーゼ（CAK）は、細胞周期の制御において中心的な役割を果たしているサイクリン依存性キナーゼ（CDK）をリン酸化することで、その活性を正に制御している。我々は、イネのR2がCAKとして機能すること、またサイクリンH（Os;CycH）がR2と結合しキナーゼ活性を増大させることを報告した。そこで、CAKがどのような上流のシグナルにより制御されているかを解析するため、グルココルチコイド転写誘導系を用いてR2及びOs;CycHを導入した形質転換タバコを作成した。葉切片を用いてR2の発現を誘導したところ、オーキシンのみを含む培地上でカルスを形成することが明らかになった。誘導されたカルスの生育は、R2の発現量の増加やOs;CycHとの共発現により上昇した。これらの結果から、カルスの生育速度はR2の活性に依存していることが示唆された。通常、タバコの葉切片からカルスを誘導するにはオーキシンとサイトカイニンの両者が必要である。本実験系では、葉切片中でのCAK活性の上昇により、細胞分裂に関与するサイトカイニンのシグナル経路が相補されたと考えられる。R2及びOs;CycHがサイトカイニンなどのホルモンにより発現または活性レベルで制御されているかどうか検討を行っており、これらの結果ににについても併せて報告する。

3aD12

CDKBとサイクリンBによるM期の実現機構の解析

李浄瓊[1]，橋本純冶[2]，平井篤志[3]，梅田正明[1]，内宮博文[1]（[1]東大・分生研，[2]農水省・生物研，[3]東大・農）

細胞周期において中心的な役割を果たしているのは、サイクリン依存性キナーゼ（cyclin-dependent kinase; CDK）と呼ばれるセリン・スレオニンキナーゼの一種である。これまでにイネでは3種類のCDK（CDKA;1, CDKA;2, CDKB2;1）が同定されており、中でもCDKB2;1はM期特異的に発現して分裂装置の制御に関わっていると考えられている。そこでCDKB2;1と複合体を形成するサイクリンを同定するため、イネの各種サイクリンを用いて*in vitro*結合実験を行なった結果、B2タイプのサイクリンであるCycB2;1とCycB2;2がCDKB2;1と特異的に結合することが明らかになった。次に昆虫細胞を用いてCDKB2;1とCycB2を発現させ、そのキナーゼ活性を調べたところ、CDKB2;1とCycB2;1（またはCycB2;2）の複合体が単量体のCDKB2;1より高いキナーゼ活性をもつことが明らかになった。現在CDKB2;1とCycB2;2のGFP融合タンパク質をタバコBY-2細胞で発現させ、M期の進行に伴なう細胞内局在の変化を詳細に解析している。またCycB2;2を過剰発現する形質転換イネの表現型についても合わせて報告する。

3aD13

G2/M期の進行に関わるCDKBとサイクリンDの機能的役割

河野淳[1]，李浄瓊[1]，梅田正明[1]，内宮博文[1]（[1]東大・分生研）

細胞周期の中でもG2-M期は様々な植物特有な現象が起こる時期である。そこで我々はG2/M期特異的に発現するサイクリン依存性キナーゼCDKB2に注目し、そのM期の実現機構における役割について解析を進めている。

アラビドプシスのCDKB2（CDKB2;1）と相互作用する因子を単離する目的で酵母を用いてtwo-hybridスクリーニングを行ったところ、サイクリンDの一種であるCycD4が複数個単離された。GST pull-downアッセイにおいてもCycD4がCDKB2と特異的に結合することが確認された。そこで、昆虫細胞の発現系を用いてCDKB2のキナーゼ活性を調べたところ、CDKB2のみを発現した場合に比べ、CDKB2とCycD4を共発現させると顕著なキナーゼ活性の増大が明らかになった。これらの結果は、CDKB2とCycD4が活性型の複合体を形成することを示している。サイクリンDは主にG1-S期において外的、内的シグナルに応答して細胞周期を制御すると考えられているが、本研究の結果は植物のある種のサイクリンDはG2/M期の進行にも働く可能性を示唆している。

3aF01

シロイヌナズナ細胞死突然変異体lin1の解析

石川敦司[1]，田中秀明[1]，中井正人[2]，旭正[1]（[1]福井県立大・生物資源，[2]大阪大・蛋白質研究所）

植物は種々の病原微生物の攻撃に対して、様々な防御機構を備えている。その中でも、感染部位における過敏感細胞死は、植物の防御応答機構発現過程において重要な役割を担っていると考えられている。しかし、過敏感細胞死発現の分子機構については未だ不明な点が多い。われわれは、過敏感細胞死の発現機構を明らかにするために、病原微生物非存在下で細胞死を発現するシロイヌナズナの突然変異体（*lin*: lesion initiation mutant）をいくつか単離してきている。そのうち、*lin1*変異体は、短日条件下で葉に細胞死を発現したが、長日条件下ではその発現が抑制されていた。また*lin1*変異体では、細胞死の発現に伴い、葉の細胞においてカロースや自家蛍光物質の蓄積が見られるとともに、防御遺伝子（*PR-1*）の発現も誘導されていた。これらの結果から、*lin1*変異体における細胞死の発現は、植物の抵抗性反応で誘導される過敏感細胞死と同様な機能を有していると考えられた。*lin1*変異体は劣性突然変異体であることから、LIN1は野生株において、細胞死発現を抑制していると予想される。現在、*LIN1*遺伝子のクローニングを行っている。

3aF02

AtAPG9破壊株では老化、抽台が促進される

花岡秀樹[1,2]，野田健司[1,2]，吉本光希[1]，白野由美子[3,4]，加藤友彦[5]，林浩昭[6]，柴田大輔[3,5]，田畑哲之[5]，大隅良典[1,2]（[1]基生研，[2]総研大，[3]三井業際植物，[4]New Jersey大，[5]かずさDNA研，[6]東大院・農・応生化）

オートファジー（自食作用）とは、栄養飢餓等に伴い、細胞質成分が二重膜の構造体、オートファゴソームによって液胞へと輸送され、分解を受けるという真核生物に普遍的に存在する現象である。これまでの解析からシロイヌナズナのゲノム上には、酵母においてオートファジーに必須とされるAPG遺伝子（autophagy）15個のうち12個についてホモローグが存在することが明らかとなった。

高等植物におけるオートファジーの生理的機能を明らかにするため、ゲノム上に1コピーとして存在するAtAPG9遺伝子の破壊株、atapg9-1の表現型を解析した。atapg9-1は窒素源欠乏、および炭素源欠乏の両条件下において、葉のクロロシスが野生型株よりも早く誘導された。通常の栄養条件下においてもatapg9-1では抽台や老化が促進されることが観察された。これらの表現型はAtAPG9遺伝子を破壊株に導入することによって回復した。以上の結果から栄養飢餓応答や老化にオートファジーが果たす役割について議論したい。

また、AtAPG9は99 kDaの複数回膜貫通型タンパク質でありオートファジーに重要な膜構造体に局在すると予想される。現在、AtAPG9を含むいくつかのAtAPGタンパク質の細胞内局在について解析中でありその結果についても合わせて報告する。

3aF03

シロイヌナズナBax Inhibitor-1（AtBI-1）遺伝子による動物Bax誘導性細胞死の制御機構

川合真紀[1]，内宮博文[1]（[1]東大・分生研）

シロイヌナズナBax Inhibitor-1（AtBI-1）遺伝子は酵母におけるBax誘導性細胞死を抑制する因子として、酵母を用いた機能的スクリーニングにより単離された（Kawai et al., FEBS Lett 1999）。植物細胞内における両因子のクロストークを解析するため、動物のBaxをDEX（dexamethasone）処理によって発現誘導する形質転換シロイヌナズナを作出した。この植物はDEX処理後、細胞の収縮、DNAのラダー化、イオンの漏れ出しを引き起こし、全身が白色化して死に至った。この現象は、Baxタンパク質のTM領域を欠失した分子種を発現させた時には起きない事から、Baxタンパク質の膜への局在が必要であると予想される。また、35Sプロモーターに連結したAtBI-GFPをさらに導入し、BaxとAtBI-1両方を有する植物体を得たところ、これらの植物では細胞死が抑制された（Kawai et al., PNAS 2001）。さらに、酵母を用いた解析から細胞死の抑制には、AtBI-1タンパク質のC末側に存在するcoiled-coil構造領域が必須であった。これらの結果は、植物内においてAtBI-1が動物のBax誘導性細胞死の抑制因子として作用し、生物種を越えたクロストークを示すものである。

3aF04

過敏感細胞死にカスペース様活性が寄与する可能性について

光原一朗[1,2]，吉秋斉[3]，後藤洋子[1]，三浦正幸[4]，大橋祐子[1,2]（[1]農業生物資源研究所・分子遺伝研究グループ，[2]科学技術振興事業団・CREST，[3]石川県農業研究センター，[4]理化学研究所）

近年、植物においてもプログラム細胞死の機構解析が注目を集めている。動物においては、Bcl-2やBcl-xL, Ced-9といった細胞死抑制タンパク質や、Bax, Bidの様な細胞死促進タンパク質が関与する細胞死決定機構が存在し、その下流でカスパーゼと呼ばれるシステインプロテアーゼが細胞死を実行していると考えられている。我々は、動物由来の細胞死抑制遺伝子*bcl-xL*, *ced-9*をタバコ植物に過剰発現させると、UVやパラコート処理による細胞死及びTMV感染に伴う過敏感細胞死が抑制されることを既に報告した。植物においても、動物と同様の細胞死実行過程が存在する可能性を調べるために、タバコを用いてTMV感染に伴う過敏感細胞死の過程におけるカスペース様活性を測定したところ、カスペース1様の活性が一過的に上昇することか明らかになった。また、カスペースの特異的な阻害剤はこの過敏感細胞死を抑制した。興味深いことに、動物の細胞死抑制タンパク質であるBcl-xLを高発現している植物では、このHRに伴うカスペース様活性の上昇も抑制されていた。これらの結果は、植物においても動物と同様の細胞死決定・実行機構が少なくとも一部は存在している可能性を示唆している。

3aF05

管状要素分化時の核分解に関与するヌクレアーゼの探索と機能解析

井藤純[1]，福田裕穂[1]（[1]東京大院・理・生物科学）

道管・仮道管を構成する管状要素は厳密に制御されたプログラム細胞死を経て、最終的に中空の死細胞へと分化する。これまでに、ヒャクニチソウ管状要素分化系を用いた研究により、その自己分解過程では、液胞の崩壊を引き金として細胞死プログラムが進行すること、また、それに伴い加水分解酵素の活性が一過的に上昇すること、等が明らかとなっている。私たちは、自己分解過程で起こる事象の一つである核分解に着目し、それに関与すると予想されるDNaseの探索を試みた。in gel assayの結果、ヒャクニチソウ管状要素分化過程では、少なくとも、Zn^{2+}要求性ヌクレアーゼ2種類、Ca^{2+}/Mg^{2+}要求性ヌクレアーゼ3種類が、分化の進行に伴って活性化されていることがわかった。また、これらのヌクレアーゼの内、分子量43 kDaのZn^{2+}要求性ヌクレアーゼのみが核DNA分解能を所有していることがわかった。そこで、分子量43 kDaのZn^{2+}要求性ヌクレアーゼをコードする遺伝子、*ZEN1*の機能を探るため、*ZEN1*アンチセンス遺伝子をヒャクニチソウの単離葉肉細胞へ導入したところ、*ZEN1*アンチセンス遺伝子を導入した細胞では核DNAの分解が抑制されていることがわかった。これらのことから、ZEN1が管状要素自己分解時の核分解の遂行に大きく寄与していることが示唆された。

3aF06

高等植物のプログラム細胞死における液胞プロセシング酵素の機能

黒柳美和[1]，山田健志[1]，西村幹夫[2]，西村いくこ[1]（[1]京大院・理，[2]基生研・細胞機構）

動物の細胞死の鍵酵素であるカスパーゼ様活性が植物でも確認されているが、その実体はわかっていない。その実体を明らかにすることを目的として、我々はシャジクモを用いて細胞分画し、各画分のカスパーゼ様活性の測定を行った。その結果、カスパーゼ様活性が液胞画分に顕著にみられ、植物におけるカスパーゼ様活性は細胞質ではなく液胞にあることがわかった。液胞に局在する液胞プロセシング酵素（VPE）の活性が同様に検出され、カスパーゼ1の阻害剤でVPE活性は抑制されたことから、VPEに着目した。VPEは自己触媒的にプロ型前駆体から活性型に変換され、標的タンパク質の成熟化に関与するシステインプロテイナーゼである。カスパーゼ1の阻害剤を用いたインヒビターブロット法でカスパーゼ様活性の実体を確認したところ、発現させたVPEは阻害剤と特異的に結合していた。以上の結果から、VPEがカスパーゼ1の機能ホモログの一つであることと植物細胞死における液胞の関与が証明された。植物体の様々な細胞死の局面においてもVPEの発現が誘導されることがわかっている。植物細胞はVPEによって活性化された加水分解酵素が液胞の崩壊と伴に細胞質へ放出され、オルガネラが分解されることで死に至ることが考えられた。本研究において、植物にはVPEを介した液胞における細胞死機構が存在する可能性が示唆されたので報告する。

3aF07

ナタネ葉肉プロトプラストのアポトーシス

渡辺正巳[1]，瀬戸口大輔[1]，上原浩一[1]，大塚和佳子[1]，渡邉幸雄[1]（[1]千葉大・園芸）

During culture, Brassica napus leaf protoplasts become swollen, and cell division is blocked. Microscopic and biochemical assays for viability reveal that the protoplasts gradually lose viability during the time in culture, and many die. The process through which death occurs was analyzed by both morphological and biochemical approaches. Propidium iodide, DAPI staining and ultrastructural examination of nuclei with transmission electron microscopy all indicated that chromatin condensation occurred during culture. Flow cytometry analysis showed nuclear DNA fragmentation in the cultured leaf protoplasts. This was confirmed by agarose gel electrophoresis which exposed DNA laddering through staining with ethidium bromide. Free 3'-OH termini of nuclear DNA fragments were labeled with DIG-dUTP catalyzed by TdT, and these were used as probes for Southern hybridization. This method (TUNEL on membrane) allowed visualization of DNA fragments with 3'-OH termini on a nylon membrane.

3aF08

Accumulation and Degradation of Polyamines Induce Hypersensitive Cell Death during HR

依田寛[1]，山口夕[1]，小泉望[1]，佐野浩[1]（[1]奈良先端大・遺伝子教育研究センター）

Screening early responding genes during hypersensitive response (HR) upon TMV infection, we identified an ornithine decarboxylase (ODC) gene. Subsequent analyses showed that other polyamine biosynthesis genes were also up-regulated, resulting in polyamine accumulation in apoplast. Treatment of tobacco leaves with an ODC inhibitor (DFMO) resulted in reduction of HR. When BY2 cells were treated with cryptogein, an elicitor for HR, programmed cell death (PCD) occurred. However DFMO inhibited cryptogein-induced cell death. Polyamines accumulated in apoplast of BY2 cells treated with cryptogein, but not in the presence of DFMO. Further analyses revealed that H2O2 production occurred during elicitation. The production was suppressed by DFMO, indicating polyamines to be the source of H2O2. Since polyamine oxidase activity was shown to increase in apoplast during HR and it generates H2O2, present results suggest that one of biochemical events in HR is to produce polyamines, of which degradation induces H2O2, resulting in PCD.

3aF09

Expression Analysis of tbzF Encoding a bZIP-Type Transcription Factor

梁勝煥[1]，山口夕[1]，小泉望[1]，草野友延[2]，佐野浩[1]（[1]奈良先端大・遺伝子教育研究センター，[2]東北大学院・生命科学研究科）

Transcripts of tbzF accumulate in senescing leaves and in flowers of tobacco plants. To examine whether or not tbzF is differentially regulated responding to physiological conditions, we isolated a 1740 bp promoter region, fused to the B-glucuronidase (GUS) gene, and introduced into tobacco plants. Resulting transgenic plants exhibited GUS activity in the stomatal guard cells of senescing leaves and in flower buds, and also in ABA- and ethylene-treated young leaves. To identify cis-acting regions, four deletion constructs were transformed into tobacco plants. Results indicated the 500 bp between -1220 and -720 to be responsible for senescence-associated expression, and the 500 bp between -720 and -220 for flower-specific expression. These results indicate that the cis-element for the senescence response is located on a different region from that for flower development.

3aF10

温度依存型細胞死を発現する種間雑種タバコ培養細胞の致死反応

三坂裕子[1]，井上雅好[1]，三野真布[1]（[1]京都府立大学・農）

我々はこれまで、雑種致死するタバコ種間F_1雑種（*Nicotiana gossei* Domin x *N.tabacum*）を用い、組織での細胞死進行過程を解析すると共にその発現が26℃で進行し、36℃では抑制されることを明らかにした。本報告では細胞レベルにおける詳細な研究が可能となる培養細胞を用いた結果について述べる。

実験に用いた培養細胞は、下胚軸および根に由来し、細胞選抜操作によって安定して増殖する系とした。これらの細胞系は、F_1雑種幼植物体が示す反応と同様に36℃で正常に増殖し、26℃では速やかに致死することを認めた。即ち、細胞は36℃から26℃に移すと3時間以内にその約半数が死に、その後も生存細胞率は低減し続けた。また、細胞死の進行には植物体同様の褐変物質が蓄積すると同時に、核DNAの継続的な分解を伴うことを確認した。種々の代謝阻害剤を培地に添加し、細胞を26℃で培養したところ、シクロヘキシミドが致死発現を効果的に阻害することを認めた。更に、致死反応の進行は嫌気的条件で著しく阻害されることも分かった。得られた結果をもとに、雑種培養細胞の細胞死の特性について考察する。

3aF11

タバコ種間雑種致死過程における活性酸素の動態

三野真布[1]，前川賢司[1]，小川健一[2]，三坂裕子[1]，井上雅好[1]（[1]京都府立大学・農，[2]岡山県生物科学総合研究所）

タバコ種間F_1雑種（*Nicotiana gossei* Domin X *N. tabacum*）は種子発芽後、下胚軸基部組織の褐変化を皮切りに細胞死が全身的に進行する雑種致死現象を示す。この致死反応は26℃で進行し、36℃で抑制される。我々は、雑種致死における細胞死の進行過程に活性酸素が関係する可能性を認め、その動態を調査している。発芽後3日目のタバコ幼植物体をNBTで処理すると、下胚軸基部にフォルマザンの生成が認められた。そこで、この部分に生成する活性酸素量を測定した。その結果、26℃では、発芽後2日目で雑種において活性酸素が一過的に増大するが、36℃では増大しないことを認めた。また、NADP(H) oxidaseの阻害剤であるDPIを処理すると褐変化の進行が強く抑制されることを確認している。幼植物体と同様に温度依存的致死発現する培養細胞においても、一過的な活性酸素量の増大が致死反応の開始直前にみられること、また、致死する温度条件下でも気中酸素濃度を低下させれば細胞死が抑制されることからも、活性酸素生成が細胞死の生起と進行に関与することが確認された。

3aG01

H1遺伝子はアラビドプシスの正常な生育に必須である

草場新之助[1]，Stephen Jackson[2]（[1]近畿中国四国農業研究センター，[2]Horticulture Research International）

A T-DNA tagged Arabidopsis H1 mutant shows semi-dwarf stature with no effect on flowering time. We isolated flanking region of T-DNA by Inverse PCR. An isolated fragment showed homology to genes encoding exostosis related protein isolated from human and rat, and no homology to plant genes of known function. Sequence analysis revealed that the T-DNA fragment was inserted at the junction between intron 3 and exon 4. Southern blot analysis showed that 1 copy of T-DNA was inserted in H1 mutant genome. Complementation experiment revealed that the native H1 gene and promoter restored the morphology of H1 mutant. Northern blot analysis revealed that no accumulation of H1 transcript was observed in H1 mutant. Together with these results, H1 gene is essential for normal growth of Arabidopsis. We also present some growth traits of H1 mutant in respect to the response to some plant hormones.

3aG02

Disruption of *OsEMF1* Gene Leads to Ectopic Expression of MADS-box Genes Resulting in Abnormal Floral Morphogenesis, Dwarfism and Early Flowering.

山崎宗郎[1], Ganesh Kumar Agrawal[1], 廣近洋彦[1] ([1]農業生物資源研究所)

The retrotransposon-induced rice mutant showing stripe leaves, abnormal floral morphogenesis and dwarfism with upright shape, was identified. Considering the pleiotropism, the causative gene is thought to play a critical role in rice development. To understand the function of the gene and to unravel unknown genetic regulation implicated in rice development, the causative gene was cloned and characterised. It was identified to be *OsEMF1* that shows relatively low similarity to *Arabidopsis EMBRYONIC FLOWER1* (*EMF1*). The encoded protein carries an ATP/GTP binding motif and showed to be localised in nuclei. The transcription of *OsEMF1* is auto-regulated, suggesting the involvement in transcriptional regulation of other genes. *OsMADS1* was identified as a gene up-regulated in the mutant by cDNA subtraction. Other MADS-box genes are also ectopically expressed in the mutant. Possible role of *OsEMF1* in rice development and the differences of mutant phenotypes between two species are discussed.

3aG03

シロイヌナズナL1層特異的ホメオボックス遺伝子の機能解析

阿部光知[1], 高橋卓[2], 米田好文[2] ([1]京大院・理, [2]北大院・理)

被子植物の茎頂分裂組織は厳密な層構造を持ち、表皮細胞は最外層のL1層に由来することがこれまでに報告されている。近年になり、細胞層に特異的に発現するホメオボックス遺伝子の存在が報告されてきたことから、各層が分子レベルでの制御機構に基づいて明確に区別されている事が予想される。シロイヌナズナの *PDF2*、*ATML1*遺伝子はGL2クラスのホメオドメイン蛋白質をコードし、胚、茎頂分裂組織のL1層で特異的に発現している。HD-GL2クラスの遺伝子が同様の発現パターンを示すことはトウモロコシにおいても報告されており、HD-GL2ファミリーが表皮細胞の分化に関与している可能性が示唆されてきた。本発表では、これらホメオボックス遺伝子のL1層における機能を明らかにするため我々が作製した形質転換植物について、その形態学的、分子遺伝学的解析結果を報告するとともに、*PDF2*、*ATML1*のT-DNA挿入変異体の単離についても紹介する。

3aG04

イネのシュート形態形成に異常を来す*shoot organization 1* の原因遺伝子の単離

向畑元博[1], 芦苅基行[1], 伊藤純一[2], 北野英己[3], 長戸康郎[2], 松岡信[1] ([1]名大・生物分子応答センター, [2]東大・農学生命科学, [3]名大・生命農学)

SAMは植物の一生にわたって未分化状態を保ちながら一方で地上器官を継続的に分化する組織であることから、植物の形態形成を研究する上で最も重要な組織の1つであると考えられている。実際、SAMの未分化・分化領域のバランスはSAMから発生する側生器官の形態形成に極めて重要であり、このバランスが乱れたシロイヌナズナの幾つかの変異体においては、葉や花の形態が異常になることが観察されている。イネ突然変異体 *shoot organization* (*sho*)もこのバランスが異常になる変異体であり、3つの独立な遺伝子座(*sho1?3*)が得られている。これらの変異体は栄養生長前期に異常な葉序、葉間期の短縮、葉縁部の欠失した糸状の葉、扁平な形態のSAMという共通した特徴を示す。*sho* の原因遺伝子の単離とその機能解析により、①SAMの形態の変化がどのように葉原基の分化様式に影響を及ぼしているのか、②葉の中心部?葉縁部方向の軸の確立がいつどのように引き起こされるのかといった新たな知見を得ることが期待される。

今回我々は、*SHO1* 遺伝子のマップベースクローニングによる単離に成功し、本遺伝子がショウジョウバエのDicerと名付けられたpost transcriptional gene silencing (PTGS)に関与するタンパク質と類似のタンパク質をコードすることを見出した。本講演では、SAMからの側生器官の形態形成におけるPTGSの関連について考察する。

3aG05

シロイヌナズナ側芽での休眠機構に関与する遺伝子群の発現解析

立松圭[1], 神谷勇治[1], 南原英司[1] ([1]理研・植物科学研究センター)

頂芽は側芽の生長を阻害することが多くの植物種で知られているが、そのメカニズムは明らかではない。我々は芽の休眠機構を解析するために、シロイヌナズナ休眠側芽での遺伝子群の発現解析を行っている。最初に、アラスカエンドウ腋芽の休眠特異的遺伝子 *PsAD1* と *PsDRM1*のシロイヌナズナでの相同遺伝子の発現をRT-PCR法で調べた。その結果、包葉の脇に生じる側芽で、*AtDRM1*の発現は休眠芽で高く、その成長とともに抑制されていた。一方、*AtAD1*はその成長に伴い発現が誘導されている。現在、この2つの遺伝子のプロモーター領域と*GUS*の融合遺伝子をシロイヌナズナに導入した形質転換体植物を作成し、その空間的発現様式を組織化学的に調べている。さらに、DNAチップを用いて、ロゼット葉の脇に生じる側芽での遺伝子群の発現様式を調べた。約8000個の遺伝子からなるチップ上には*AtDRM1*が存在し、その発現は、RT-PCR法の結果と同様、その側芽が成長するにつれ抑制されていた。現在チップで得られた結果を基に、側芽の成長に伴ってその発現が変化する遺伝子群に関して、側芽とその周辺の各組織における発現様式を*in situ*ハイブリダイゼーション法を用いて調べるところである。

3aG06

イネ*LFY*相同遺伝子*RFL*と*LFY*の機能分化

中條篤史[1]，島本功[1]，経塚淳子[1]（[1]奈良先端大・バイオ）

イネ*RFL*はシロイヌナズナ*LFY*の相同遺伝子である。*LFY*は、花芽の分化、開花日数の制御に関与する遺伝子であるが、*RFL*の機能はわかっていない。

RFL が *LFY* と同様の機能を保持するかを調べるために、シロイヌナズナ*lfy*変異体および野生型植物に*LFY*プロモーター*::RFL*を導入し、表現型を観察した。その結果、*lfy*変異株は花弁とおしべを分化しないが、*LFY::RFL*の導入によりおしべを回復した。このことから*RFL*は*LFY*の機能を部分的に保持していることが示めされた。さらに形質転換体では葉がカールし、花弁とおしべの長さが減少し、胚珠がめしべ化した。葉がカールする機構の1つはおしべとめしべの分化に重要である*AGOMOUS*（*AG*）遺伝子が葉で異所的に発現することである。そこで*LFY::RFL*植物のカール葉で花のホメオティック遺伝子の発現を調べたところ、*AG*と*APETALA1*（*AP1*）mRNAの異所的な発現が見られた。野生型植物の正常な*LFY*遺伝子は花芽で*AG*、*AP1*mRNAの転写活性化を起こすことができるが、葉ではそれをできない。これらのことからLFYとRFLには転写因子としての機能に部分的な違いがあると示唆された。このような違いが起こる機構について考察する。

3aG07

イネ穂の分枝に関わる*LAX*遺伝子の単離と機能解析

小松契史[1]，岡本浩伸[1]，前川雅彦[2]，島本功[1]，経塚淳子[1,3]（[1]奈良先端大・バイオ，[2]岡山大・資生研，[3]CREST）

植物の地上部は、茎頂分裂組織から繰り返し分化する側生器官が積み重なることにより形作られる。単子葉植物であるイネの穂も、枝梗（枝分かれ）や頴花（花）などの側生器官の積み重なりにより形作られる。

イネ穂分枝の変異体として、*lax* 変異体が報告されている。弱い変異を示す*lax-1*変異体では、枝梗分化と枝梗分裂組織の頂端頴花への転換は起こるが、側生の頴花は分化しない。強い変異を示す*lax-2*変異体は、1次枝梗分化すら見せず、結果として枝分かれのほとんどない形を見せる。このように、*LAX*遺伝子はイネの側生器官分化に重要な役割を果たしている。

マップベースクローニング法に基づき、*lax* 突然変異体の原因遺伝子を決定した。*LAX*遺伝子は、bHLH（basic helix-loop-helix）ドメインを含む215アミノ酸からなるタンパク質をコードしており、転写因子として機能すると予測された。また、bHLH以外の領域では、既知のタンパク質との相同性を確認できなかった。*in situ* hybridization法による発現解析の結果、LAXmRNAは、分裂組織と側生器官形成予定領域の境目で層状に発現していた。本大会では、分枝におけるLAXの役割を考察したい。

3aG08

シロイヌナズナの花成時期に関わるジンクフィンガータンパク質ZIMの機能解析

四方雅仁[1]，松田優子[1]，安藤侯平[1]，竹村美保[1]，横田明穂[1]，河内孝之[1]（[1]奈良先端大・バイオ）

花芽特異的低発現性遺伝子として単離された*ZIM*は、ジンクフィンガータンパク質をコードしており、転写因子として働くことが予想された。これまでに、ZIMは核に局在し、転写活性化能を持つことが確かめられた。さらに、ゲルシフトアッセイにより、ZIMがジンクフィンガーを介してDNAに結合することが示唆された。ZIMの機能を推測するため、変異体および過剰発現株を用いた解析を行っている。*ZIM*にT-DNAが挿入された変異体*zim-1*では、短日のみで花成時期が遅延し、ジベレリン経路の欠損が示唆された。一方、過剰発現株では短日、長日ともに花成時期が早化した。栄養生長期の茎頂で*ZIM*が発現することも含めると、ZIMが花成に関わっていると考えられる。また、過剰発現株では細胞伸長を原因とする胚軸や葉柄の伸長も認められ、このことからもZIMとジベレリンとの関与が示唆される。さらに、ZIMの標的遺伝子を同定するため、シロイヌナズナの均一化cDNAライブラリー由来のマイクロアレイを用いて、野生型と*ZIM*過剰発現株における遺伝子発現パターンを比較した。その結果、染色体上で*ZIM*の隣の遺伝子であり、機能未知のタンパク質をコードしているAt4g24460の発現が上昇していた。*ZIM*の下流に働く遺伝子群をさらに解析することにより、ZIMの植物体における役割を明らかにすることができると考えている。

3aG09

シロイヌナズナのMADS-box遺伝子*AGL24*の機能解析

竹村美保[1]，藤田秀知[1]，落合春奈[1]，横田明穂[1]，河内孝之[1]，加藤友彦[2]，佐藤修正[2]，田畑哲之[2]，関原明[3]，小林正智[3]，篠崎和雄[3]（[1]奈良先端大・バイオ，[2]かずさDNA研究所，[3]理化学研究所）

我々はこれまでにシロイヌナズナの分裂組織で発現する受容体型キナーゼ遺伝子*IMK3*と相互作用するものとして、MADS-box 遺伝子 *AGL24* を単離した。MADS-box 遺伝子は、転写因子であり、植物の発生において重要な働きをしているものと考えられている。MADS-box 遺伝子群は、シロイヌナズナのゲノム中で大きな遺伝子ファミリーを形成しており、*AGL24* は花成に関わる *SVP* 遺伝子に進化的に最も近い。また、発現解析の結果、*AGL24* は花成前後の茎頂で発現していることが明らかとなり、花成に関与している可能性が示唆された。そこで、*AGL24* の機能を明らかにするために、様々な形質転換体植物の解析を行っている。これまでに、数十ラインの *AGL24* 過剰発現株が得られ、それらのほとんどは、早咲き、萼の葉様化、花の中に二次花の形成などの表現型を示した。*AGL24* 遺伝子の発現を調べた結果、発現量と表現型の強さに比例関係が見られた。また、花器官の表現型は *ap1* 変異体と類似しており、実際、過剰発現植物において *AP1* 遺伝子の発現が抑制されていた。一方、遺伝子破壊株は2系統得られているが、花器官で顕著な表現型は見られなかった。また、長日条件下では野生型と変わりないが、短日条件下では早咲きとなった。以上のことから、*AGL24* が花成あるいは花器官形成に機能することが示唆された。

3aG10

リンゴAFL1, AFL2遺伝子構造の解析

和田雅人[1], 古藤田信博[1], 別所英男[1] ([1]農研機構・果樹研・リンゴ)

リンゴのLEAFYホモログであるAFL1とAFL2は互いに90%の相同性を有しているが、発現時期および部位が異なっている。我々はこれまでの報告のようにリンゴの花成メカニズムを理解するため、この2つの遺伝子の機能解明を試みてきた。花芽特異的な発現はAFL1だが、アラビドプシスで過剰に発現させるとAFL2が特に強い花芽形成能を示した。2つの遺伝子をキメラにした場合、この花芽形成能はAFL2の遺伝子の一部に特定化されることが示唆された(福岡 2001)。

そこでこれら2つの遺伝子のゲノム構造を比較しそれらの機能を考察した。2つの遺伝子の共通部位をプローブとし、リンゴゲノムライブラリー約50万をスクリーニングし、13個のポジティブクローンを得た。AFL1, 2それぞれの全長、5'上流を含むクローンの他どちらでもない3個のクローンも得られた。AFL1, 2伴に3つのエキソンからなり、他の植物のLEAFYファミリーと相似だった。このAFL1, 2のゲノムの構造、特に5'上流配列を比較、解析したので報告する。

3aG11

植物の非典型ホメオドメインタンパク質のタンパク質-タンパク質相互作用の解析

長崎宏[1], 松岡信[1] ([1]名古屋大学・生物分子応答研究センター)

近年、動物や植物において60アミノ酸残基からなる典型的なホメオドメインタンパク質より1-数アミノ酸残基多いホメオドメインを持つホメオドメインタンパク質がいくつか単離・同定されてきている。それらの非典型ホメオドメインタンパク質のうち、動物・植物に共通して存在するTALE super familyに属する一群のタンパク質はTALEホメオドメインタンパク質同士で相互作用し機能することが最近の我々や他のグループの研究により明らかにされた。

今回、我々はホメオドメインタンパク質のうちアラビドプシスのWUSCHELに見られる2+4 type (余分なアミノ酸残基がloopに2、turnに4) ホメオドメインタンパク質と1+4 type (loop に1、turnに4) ホメオドメインタンパク質がホモ及びヘテロ二量体を形成することを酵母Two-hybrid法により確認した。また、これらのホメオボックス遺伝子は生殖生長期の茎頂分裂組織において選択的に発現していることから、*in planta*においてもヘテロダイマーを形成することが予想された。現在、これらのタンパク質の二量体が果たす役割について形質転換イネを用いた解析を進めている。

3aG12

頂芽切除後にエンドウの茎で発現する*PsIPT5*の解析

田中美名[1], 武井兼太郎[2], 榊原均[2], 森仁志[1] ([1]名古屋大・院生命農学, [2]理研・植物科学研究センター)

頂芽優勢は、オーキシンによる腋芽の生長抑制とサイトカイニンによる腋芽の生長促進のバランスにより、調節されていると考えられている。頂芽で作られたオーキシンは、茎を求底的に極性移動をするが、腋芽には供給されない。このことは、オーキシンの作用部位が、腋芽付近の茎組織にあることを示唆している。そこで、エンドウの頂芽切除前の第2節と、頂芽切除3時間後の第2節における遺伝子発現の違いをsubtraction法を用いて調べた。その結果、頂芽切除後に特異的に発現する遺伝子として、サイトカイニン生合成の鍵となるisopentenyl transferase (PsIPT5)が同定された。ノーザン解析の結果、第2節の上部1cmで頂芽を切除するとPsIPT5は1時間後から第2節で発現していることが明らかになった。オーキシンの求底的移動速度は約1cm/hrであり、PsIPT5の発現がオーキシンによって抑制されていたことを示唆している。また、この茎組織のサイトカイニン含量を測定した結果、頂芽切除前と比べ、切除3時間後に顕著に増加し、PsIPT5の発現と一致していた。このことはサイトカイニンが茎で合成されていることを示唆している。我々は、頂芽優勢におけるオーキシンの役割は、茎のIPTの発現を抑制することであり、頂芽切除後には、茎で合成されたサイトカイニンによって、腋芽の生長が促進されるという機構を提唱したい。

3aG13

マクロアレイ解析によるエンドウ休眠腋芽で特異的に発現する遺伝子群の解析

石綿愛子[1], 大森弘子[1], 森仁志[1] ([1]名古屋大・院生命農学)

腋芽は優先的に成長する頂芽によって成長が抑制され休眠しているが、頂芽が切除されると腋芽は成長を開始し、頂芽としての役割を担う。腋芽休眠の分子機構を理解するために、休眠腋芽で特異的に発現する遺伝子としてPsAD1を同定し解析してきた。PsAD1は休眠腋芽特異的に多量に発現する遺伝子であり、頂芽切除後その発現は直ちに減少し始めるが、完全に消失するまで12時間以上かかる。腋芽の休眠を理解するためには、さらに早く応答する遺伝子を解析する必要があると考え、subtraction法を用いて休眠腋芽特異的に発現する遺伝子のcDNAを多数単離し、その約200の遺伝子群について、マクロアレイ解析を行った。その結果、頂芽を第2節の上部1cmで切除すると、0-3時間後に約30の遺伝子、3-6時間後に約70の遺伝子の発現量が急激に減少することが明らかになった。その中にはオーキシンによって発現が抑制される遺伝子や、ABAによって誘導される遺伝子などが複数含まれていた。休眠腋芽は細胞周期がG1期で抑制されているが、頂芽切除3時間後にはサイクリンD3やPCNAが発現し、細胞周期が再開される。これらのことは頂芽切除3時間後には、頂芽切除のシグナルが腋芽に伝達されて休眠が解除され、腋芽では様々な分子レベルでの急激な変化が起こっていることを意味している。

3aG14

ABA関連遺伝子と腋芽の休眠との関係

中湖綾[1]，森仁志[1]（[1]名古屋大・院生命農学）

エンドウの腋芽は優先的に成長する頂芽によって成長が抑制され、休眠状態になっている。これまでに休眠腋芽で特異的に発現する遺伝子にはABAで誘導される遺伝子が多いことを明らかにした。そこでABAのシグナル伝達に関わるABI3のホモログPsABI3の腋芽における発現を解析した。その結果PsABI3は休眠腋芽で発現しているが、頂芽切除後は減少することが明らかになった。腋芽には4つの芽があり、頂芽切除後、一番大きな芽（主芽）が、他の芽（副芽）の成長を抑制して成長する。頂芽切除4日後の副芽は成長が抑制されている。この状態の副芽ではPsABI3が再び発現した。これらのことは腋芽の休眠がABAを介して制御されていることを支持している。次にABA生合成のネオザンチン開裂酵素の遺伝子PsNCED1-4のcDNAを単離し、その発現を解析した。PsNCED2, 3は登熟後期の種子や休眠腋芽で発現していたが、PsNCED4は休眠腋芽では発現せず、葉腋でのみ発現していた。PsNECD1は調べた限りにおいては発現が認められなかった。一方、PsNCED2, 3は頂芽切除後発現が減少するが、副芽においては成長の抑制に伴って再び増加し、休眠と相関していた。しかし、成長を続ける主芽においてもPsNCED2, 3の発現は認められ、矛盾した結果となった。主芽ではPsABI3が発現していないのでABAのシグナルが伝達されないか、ABAが速やかに分解されている可能性が示唆される。

3aI01

リン酸はイネ細胞におけるカルシウムイオン吸収およびα-アミラーゼII-4分泌を促進する

浅妻悟[1]，南條洋平[1]，堀秀隆[1]，三ツ井敏明[1]（[1]新潟大院・自然科学）

リン酸は、高等植物において酵素活性の調節を介して様々な細胞内プロセスに影響を及ぼすことが知られている。これまでの研究から、イネ細胞におけるCa^{2+}吸収およびα-アミラーゼII-4の分泌は糖によって抑制されることを明らかにした。本報告においては、イネ培養細胞における糖制御型のCa^{2+}吸収およびα-アミラーゼII-4分泌に及ぼすリン酸の影響について報告する。糖存在下においてイネ細胞にリン酸を添加するとCa^{2+}吸収が促進された。X線マイクロアナライザーによってCa^{2+}の集積部位を解析したところ、イネ細胞クラスターの外側の細胞層でCa^{2+}の蓄積が観察され、またこの蓄積はリン酸を除くことによって可逆的に消滅することが分かった。糖制御型α-アミラーゼII-4分泌に及ぼすリン酸の影響を調べたところ、リン酸添加によってα-アミラーゼII-4分泌が著しく上昇し、またその発現部位はCa^{2+}吸収部位と一致することが見いだされた。加えて、リン酸添加によってミクロソームにおけるCa^{2+}吸収およびα-アミラーゼII-4の発現量も増加することが分かった。しかし、リン酸添加はα-アミラーゼII-4のmRNAレベルを上昇させなかった。以上の結果から、リン酸はCa^{2+}の分泌に関与する膜系への吸収を介してα-アミラーゼII-4分泌の翻訳以降の過程を促進するものと考えられた。

3aI02

イネ細胞におけるゴルジ膜結合型PNA認識糖タンパク質の同定とキャラクタライゼーション

三上暁[1]，三ツ井敏明[1]，堀秀隆[1]（[1]新潟大学大学院自然科学研究科）

我々はイネゴルジ膜結合型PNA認識糖タンパク質のキャラクタライゼーションおよびその同定を試みた。その結果は以下のとおりである。(1)PNA認識糖タンパク質は細胞増殖期において活発に発現していたが、糖の枯渇によって細胞増殖が停止し、αアミラーゼの分泌が活発におこるとその発現は減少した。(2)生化学的手法、および電子顕微鏡を用いた研究からPNA認識部位はゴルジ膜内腔側に位置していた。(3)糖タンパク質は二次元電気泳動(NEPHGE/SDS-PAGE)を用いて分離され、それらの等電点はアルカリ性(pH10以上)を示した。(4)二次元ゲルで検出された主なPNA-認識糖タンパク質(11スポット)は, O-またはN-結合型糖鎖と親和性をもつレクチン、それぞれSBA、Con Aによっても認識された。(5)MALDI-TOF MSとEdman法による解析からPNA認識糖タンパク質の一つは、60S ribosomal protein L21 (RL21)であった。RL21は、N-グリコシル化およびO-グリコシル化される配列であるAsn-Xaa-Ser/Thr と Xaa-Thr-Pro-Xaa-Proを両方持ち合わせていた。

3aI03

イネα-グロブリン(2Sアルブミン 種子貯蔵タンパク質)のジシステインを含むアルファヘリックスはGFPを球状のタンパク顆粒にターゲットする

川越靖[1]，柿野瑞枝[2]，小川雅広[2]，高岩文雄[1]（[1]農業生物資源研究所・新生物資源創出，[2]山口県立大・生活科学）

To express high levels of recombinant proteins in rice endosperm, we need to understand molecular mechanisms involved in intracellular trafficking of seed storage proteins to protein bodies (PB-I and PB-II). We chose rice α-globulin (2S albumin seed storage protein) as a model to identify signals in the protein necessary for targeting to PB. A series of α-globulin-GFP fusion proteins were expressed in transgenic rice under the control of α-globulin promoter. Intracellular localization of the fusion proteins in developing endosperm was analyzed by confocal microscopy. GFP fused to the N-terminal region (G21-Q111) was targeted to spherical PB. Amino acid residues sufficient for similar localization were narrowed to R68-Q111, and then to L72-S86, which includes invariable dicysteine residues C78-C79. The region L72-S86 is predicted to form an α-helix based on structural information of sunflower 2S albumin SFA-8. Possible colocalization of GFP with either glutelins or prolamins is being analyzed by immunocytochemistry.

3aI04

葉緑体チラコイド膜ΔpH依存性タンパク質膜透過系におけるTha4、cpTatC-Hcf106複合体の集合と解離

森宏樹[1]，Kenneth Cline[1]（[1]Hort Sci Dept, Univ of Florida）

葉緑体チラコイド膜のΔpH依存性タンパク質膜透過系は、チラコイド膜のプロトン勾配を唯一のエネルギー源とし、高次構造を保持したままの前駆体タンパク質を膜透過させることができる。これまでに、三つのチラコイド膜内在性のタンパク質Hcf106、Tha4、cpTatCが装置成分として同定されている。我々はBlue Native gelなどの手法を使いcpTatCとHcf106が前駆体タンパク質の受容体となる700-kDa複合体の成分であること、そしてTha4は他二つの成分と相互作用していないことを示している。本研究では、化学架橋と免疫沈殿によりTha4とcpTatC-Hcf106複合体が前駆体タンパク質の膜透過過程で一時的に集合するかどうかを調べた。その結果、Tha4　とcpTatC、Hcf106間の相互作用は前駆体タンパク質の膜透過条件下（機能的な前駆体タンパク質とチラコイド膜のプロトン勾配存在下）でのみ検出された。さらに前駆体タンパク質の膜透過条件後に前駆体タンパク質を除去するとTha4とcpTatC、Hcf106間の相互作用は検出されなかった。これらの結果はTha4が前駆体タンパク質の膜透過時にcpTatC-Hcf106複合体と集合し、前駆体タンパク質の膜透過終了後解離することを示唆している。

3aI05

葉緑体におけるチラコイド膜への蛋白質輸送に関与するcpFtsYの解析

朝倉由香里[1]，広橋利哉[1]，菊地真吾[1]，Susan Belcher[2]，Erin Osborne[2]，Alice Barkan[2]，中井正人[1]（[1]阪大・蛋白研，[2]オレゴン大）

葉緑体のチラコイドへの蛋白質輸送経路は、1)Sec依存性、2)SRP（signal recognition particle）依存性、3)△pH依存性、4)自発的が知られている。この中で、集光性複合体蛋白質(LHCP)のチラコイド膜への挿入に関わるSRP依存性経路では、cpSRP43、54、SRPレセプターのcpFtsYの関与が示唆されている。本研究はトウモロコシを材料に、葉緑体形成過程におけるcpFtsYの役割の解明を目的とした。明所で生育させた幼植物のcpFtsY発現量は、根では認められず、緑葉に多かった。葉緑体をサブオルガネラ分画すると、cpFtsYはチラコイド膜に表在していた。一方、暗所で生育させた黄化葉のエチオプラストでは、プロラメラボディとストロマ画分に局在していた。Blue Native電気泳動法によりモノマーサイズの約30と60KD付近にスポットが確認され、cpFtsYが複合体（あるいはダイマー）を形成している可能性が示唆された。次にトウモロコシ*Mu*挿入変異株ライブラリーからcpFtsYの遺伝子座に挿入変異を有する*csr1*変異株(*chloroplast SRP receptor*)を単離した。*csr1*変異株の葉は黄緑色を呈し、播種後13日で枯死した。変異株ではcpFtsYが発現しておらず、LHCPやRubisco Lサブユニット等の蛋白質の減少が確認できた。

3aI06

トウモロコシ葉緑体包膜における蛋白質輸送制御機構の解析

加藤彩[1]，広橋利哉[1]，菊地真吾[1]，中井正人[1]（[1]阪大・蛋白研）

葉緑体を構成する蛋白質の多くは核コードで、サイトゾルでN末端に局在化のためのトランジット配列を持つ前駆体として合成される。前駆体蛋白質は蛋白質輸送装置複合体Toc、Ticを通って葉緑体内へと輸送された後、成熟体に変換される。この際、ATPの加水分解によるエネルギーが必要とされる。従来、光照射下で葉緑体内での光リン酸化反応でATPが産生されるか、暗所においてもATPが外から供給されれば、前駆体包膜透過は同様に起こり、光による制御は受けないと考えられていた。しかし、我々の最近の研究により、ある種の前駆体は暗所では葉緑体ストロマへ効率良く輸送されるが、光照射下では内包膜を通過せず膜間部に前駆体として蓄積する場合があることが明らかとなった。今回、この光照射による輸送特性の変化が葉緑体の光化学系と関連しているかどうかを、光化学系電子伝達阻害剤を用いて解析した。その結果、用いる電子伝達阻害剤の種類によっては、光照射下においても、前駆体が膜間部に蓄積されずにストロマまで輸送されることが判明した。さらに、暗所で生育させた黄化葉から単離したエチオプラストを用いて、光照射、暗所条件下での輸送実験を行った。すると、光照射の有無に関わらずエチオプラスト内に輸送された。これらの結果は、光照射に伴い光化学系の電子伝達反応が駆動されることが、前駆体蛋白質の包膜透過の特性を変化させている可能性を示している。

3aI07

葉緑体外包膜における蛋白質輸送装置複合体の解析

菊地真吾[1]，広橋利哉[1]，中井正人[1]（[1]阪大・蛋白研）

高等植物葉緑体を構成する蛋白質の大部分は核ゲノムにコードされており、サイトゾルで葉緑体行きの局在化シグナルが付加された前駆体として合成されたのち、葉緑体へ輸送される。この輸送には葉緑体外包膜および内包膜に存在する蛋白質輸送装置、Toc、Tic複合体が関与している。

本研究では、エンドウおよびアラビドプシスを材料に、葉緑体包膜の蛋白質輸送装置複合体の形成様式を検討するため、膜蛋白質複合体の解析に有効であるBlue-Native電気泳動を用いて以下の実験を行った。まず、エンドウより単離した葉緑体を界面活性剤により可溶化し、一次元めをBlue-Native電気泳動、二次元めをSDS電気泳動で分離した後、ウエスタン解析を行った。その結果、分子サイズ700-800Kに泳動される位置に、Toc34, Toc75, Toc159のいずれをも含むバンドが検出され、これがToc複合体であることが示された。次にアラビドプシスより単離した葉緑体をBlue-Native電気泳動で分離したところ、エンドウと同じく700-800Kに泳動される位置に、Toc75, Toc159を含むバンドが検出された。現在、上でみられたToc複合体がエチオプラストや根のプラスチドにおいては、どのような分子サイズと分子構成をしているのかを解析中である。

3aI08

単細胞緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* のarylsulfataseの細胞外分泌機構

中前伊公子[1]，粥川真巳[1]，鍵和田聡[1]（[1]奈良女子大・理）

細胞内蛋白質輸送は真核細胞に普遍的な現象のひとつであるが、動物細胞と植物細胞では、細胞骨格への依存性や薬剤への感受性など、いくつかの明確な相違点がある。今回我々は緑藻類 *Chlamydomonas reinhardtii* での蛋白質輸送機構を調べるために、硫酸イオン欠乏条件下で細胞外に分泌される酵素であるarylsulfatase（ARS）の分泌に対する各種薬剤の影響を調べた。

ARSの分泌は、すでに報告されているように、誘導後3時間で検出され、約20時間でピークに達した。分泌されたARSはEndo Hには耐性であったがPNGase Fには感受性であった。エンドソーム酸性化の阻害剤であるmonensinと微小管重合阻害剤であるoryzalinは濃度依存的にARS分泌を阻害したが、アクチンフィラメント重合阻害剤であるcytochalasinBは影響を与えなかった。ゴルジ体からの被覆小胞形成を阻害する作用を持ったBrefeldin Aは、動物細胞では5-10 ug/ml、高等植物細胞では10-100 ug/mlでその影響が見られるが、C. reinhardriiでは1.0 ug/mlでおよそ20分以内にARSの分泌が阻害された。これらの結果から、*C. reinhardtii* の蛋白質輸送は動物細胞と類似のメカニズムによると考えれる。

3aI09

単細胞緑藻に*Botryococcus braunii*の膜小胞被覆蛋白質の遺伝子配列決定と細胞内局在解析

政池由佳[1]，杉田小百合[1]，加藤咲子[1]，野口哲子[1]，鍵和田聡[1]（[1]奈良女子大・理）

真核細胞での蛋白質輸送を担う輸送小胞は被覆を構成する蛋白質の種類によって、クラスリン被覆小胞・COPI小胞・COPII小胞などに分類されているが、その明確な機能分担は不明な点も多い。これらの問題に対してより深い知見を得るため、我々は発達したゴルジ体を持ち、膜構造の形態的観察に優れた単細胞緑藻を使って、形態学的・分子生物学的研究を進めている。

今回、*Botryococcus braunii*から、COPIおよびクラスリン被覆小胞という2つの異なる膜小胞の被覆を構成する蛋白質をコードすると考えられるβ-COP相同遺伝子とAP19相同遺伝子の同定を試みた。β-COP、AP19それぞれに特異的なプライマーを使用したRT-PCRにより、β-COPでは2838bp、AP19では1189bpの増幅産物を得、それらの塩基配列を決定して相同性検索を行ったところ、これまでに報告されている様々な種のβ-COPおよびAP19相同遺伝子と高い相同性（?66%）を示した。次に、大腸菌に発現させた融合蛋白質を抗原として作製したポリクローナル抗体を用い、急速凍結置換法で固定した細胞でのこれらの蛋白質の細胞内局在を免疫電子顕微鏡法により解析した。その結果、β-COP蛋白質のゴルジ体近傍への局在を示唆する結果を得ることができた。

3aI10

微細緑藻*Nannochloris bacillaris*における*rbcS*遺伝子の同定と染色体マッピング

山崎誠和[1]，山本真紀[2]，河野重行[1,2]（[1]東大・院・新領域・先端生命，[2]東大・院・理・生物）

RuBisCoは，光合成の暗反応において炭酸固定を行う酵素で，大小2つのサブユニットからなり，それぞれ*rbcL*と*rbcS*にコードされている．*rbcS*は紅藻やそれが2次共生した藻類では葉緑体ゲノムに，緑藻綱や高等植物では核ゲノムにコードされている．核ゲノムにコードされたRbcSタンパク質は，葉緑体胞膜透過装置を通って葉緑体に輸送される．今回，トレボウクシア藻綱に属する微細緑藻*Nannochloris bacillaris*で，互いに相同性の高い3つの *rbcS*（*nb-rbcSA1*，*nb-rbcSA2*，*nb-rbcSB*）を単離した．パルスフィールドゲル電気泳動とゲノミックサザン解析によって，これらの遺伝子が全て異なる染色体にコードされていることを確認した．トランジット配列を比較したところ，*nb-rbcSA1*は*nb-rbcSA2*と90%もの相同性を示したが，*nb-rbcS B*とでは48%しかなかった．各遺伝子のプロモーター領域は互いに異なり，TATA配列などは確認できなかった．明条件下では全ての遺伝子が発現していたが，暗条件下では*nb-rbcS A1*のみが発現を完全に抑制されていた．

3aI11

3aI12

*VES1*および*VES2*遺伝子は､小胞体における特定タンパク質の分別と凝集に関与する

難波千営子[1]，林誠[1]，西村いくこ[2]，西村幹夫[1]（[1]基生研・細胞生物，[2]京都大・理学研究科）

【目的】　種子貯蔵タンパク質は、粗面小胞体で合成後、他のタンパク質と分別され、凝集体を形成する。我々は、小胞体における貯蔵タンパク質の分別および凝集機構を明らかにするために、貯蔵タンパク質2Sアルブミンの一部とphosphinotricin acetyltransferaseを含む融合タンパク質をシロイヌナズナに発現させた。この形質転換体は、融合タンパク質をPAC様小胞に特異的に蓄積するにも関わらず、phosphinotricin（PPT）に対して野生株と同様に高い感受性を示した。そこで、この形質転換体を親株にして、PPT耐性突然変異体の単離を行い、以下の結果を得た。

【結果】　現在、4系統のPPT耐性突然変異体を単離することに成功している。遺伝的な解析の結果、2つの異なる遺伝子に変異を持つグループに分類された。そこで、それぞれの遺伝子を*ves1*および*ves2*と呼ぶことにした。*ves1*および*ves2*突然変異体は、親株と異なりPAC様小胞を持たず、融合タンパク質をペルオキシソームに蓄積していた。現在、*ves1*および*ves2*突然変異体におけるタンパク質輸送活性を、GFP融合タンパク質を用いて解析中である。これらの結果をもとに、小胞体におけるタンパク質の分別および凝集機構について考察する。

3aJ01

マメ科ファイトアレキシン合成系の2,7,4'-trihydroxyisoflavanone 4'-*O*-methyltransferase cDNAのクローニング

明石智義[1]，澤田有司[1]，青木俊夫[1]，綾部真一[1]（[1]日本大・生物資源・応用生物）

マメ科メチル化ファイトアレキシン前駆体の formononetinは，イソフラボン骨格合成酵素の反応生成物2,7,4'-trihydroxyisoflavanone（2HI）の4'位のメチル化と続く脱水反応により生合成される[1]．しかし2HI 4'-*O*-methyltransferase（4'-OMT）は未同定である．*In vitro*ではisoflavone 7-OMT活性を示すタンパク質が，細胞内では2HI 4'-OMTである可能性も指摘されている[2]．今回，発現ライブラリーの酵素活性を指標にしてカンゾウ（*Glycyrrhiza echinata*）2HI 4'-OMT cDNAをクローニングした．cDNAの機能発現ライブラリーを複数の画分に分け，酵素液の調製とアッセイを行い，2HI 4'-OMTクローンを含む画分を同定した．さらに分画とアッセイを繰り返し，最終的に2HI 4'-OMT活性を示す単一クローンを選抜した．pET28a/BL21(DE3)系で発現したタンパク質は2HIの4'-位へメチル基を転移し，イソフラボンdaidzeinに対する活性は示さなかった．一方，既知配列情報をもとにisoflavone 7-OMT homolog cDNAをクローニングしたところ，pET28a/BL21(DE3)系で発現したタンパク質は2HIに対する活性は示さなかった．以上より2HI 4'-OMTとisoflavone 7-OMTが別タンパク質であり，前者がformononetin合成系のOMTの本体であることがわかった．[1] Akashi T et al.（2000）*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 64, 2279. [2] Zubieta C et al.（2001）*Nature Struct. Biol.*, 8, 271.

3aJ02

ムラサキ培養細胞におけるエリシター誘導性cytochrome P450 遺伝子のクローニングとその機能解析

松野倫代[1]，水上元[1]（[1]名古屋市立大院・薬，[2]The Biotechnology Lab., Univ. of British Columbia）

Rosmarinic acidは、ムラサキ科やシソ科植物に多く含まれるポリフェノール化合物で、その高い抗酸化活性に基づくLDLの酸化防止作用や抗アレルギー作用が報告されている。ムラサキの培養細胞においてrosmarinic acidの生成がエリシター添加によって一過的に誘導されることを利用して、rosmarinic acid 生合成に関与する遺伝子の単離、同定を試みた。

ディファレンシャルディスプレイ法を用いて、酵母エキスを添加した培養細胞からcytochrome P450をコードする遺伝子のcDNAを単離し、その推定アミノ酸配列に基づいてCYP98A6と命名した。酵母での発現系によって得られたCYP98A6は、NADPH存在下でrosmarinic acidの生合成前駆物質である 2-*O*-(4-coumaroyl)-3-(4-hydroxyphenyl)lactic acidのcoumaroyl 基の3位に水酸基を導入する反応を触媒した。*CYP98A6*の発現は、酵母エキスやmethyl jasmonateの添加によって著しく誘導され、その発現パターンはrosmarinic acid生成量の増加とよく対応していた。これらの結果は、CYP98A6がrosmarinic acid 生合成の制御に重要な役割を果たしていることを示している。

3aJ03

カーネーションにおける transposable element *dTdic1* family の構造と転移様式

伊藤佳央[1]，吉田洋之[2]，山口雅篤[3]，小関良宏[1]（[1]農工・工・生命工，[2]JT・植開研，[3]南九大・園芸・食工）

花色の主要素として知られるアントシアニンは橙色から青色までの幅広い花色を作り出している。カーネーションの花色は色彩豊かであると同時に、多くの易変性変異をもつ植物である。我々はカーネーションにおいてAc/Ds typeのトランスポゾンdTdic1がアントシアニン合成酵素遺伝子であるCHI、DFR遺伝子のエクソン領域に挿入することによって酵素遺伝子の発現を著しく低下させ、これによって花色の多様性が生じることを見い出した。このdTdic1はカーネーションゲノム内に約20-30コピー存在する。Tdic familyの自律性因子には、既知であるAc/Ds typeの転移酵素と相同性を有するORFが見い出された。これまでトランスポゾンはイントロンやプロモーター領域に挿入しやすいとされてきた。しかしTdic familyの多くがエクソンに挿入するといった既知であるトランスポゾンとは異なる特性をもつことを見い出した。

3aJ04

ムラサキ培養細胞の色素高生産株で強く発現しているα,β-不飽和カルボニル還元酵素遺伝子のcDNAクローニングと解析

山村良美[1]，矢崎一史[2]，水上元[1]（[1]名市大院・薬，[2]京大院・生命科学）

我々は、ムラサキ培養細胞にみられるシコニン生合成能の変異を分子レベルで明らかにすることを目的として、シコニン生産株と非生産株のトランスクリプトームを蛍光ディファレンシャルディスプレイ法を用いて比較した。その結果、色素高生産株で強く発現している4つのcDNAクローン（*LEPS1?4*）を単離し、その機能解析を行っている。今回はLEPS1についての解析結果を報告する。

*LEPS1*は、366アミノ酸残基からなるORFを含み、その塩基配列は暗黒下で発現が誘導される遺伝子として単離された*LEDI5b*と全く同一であった。ホモロジー検索の結果、LEPS1の推定アミノ酸配列は種々の植物の12-oxophytodienoate（OPDA）reductaseなどと高い相同性を示した。そこで、MBPとの融合タンパク質（MBP-LEPS1）を大腸菌で大量発現させ、アフィニティークロマトグラフィーで精製後、Factor Xaで切断して得た組換え酵素標品を用いて様々な基質に対する酵素活性を測定した。その結果、LEPS1（LEDI5b）は*N*-ethylmaleimideや2-cyclohexen-1-oneなどのα,β-不飽和ケトンのオレフィンは還元するが、ジャスモン酸生合成の中間体であるOPDAに対しては活性を示さなかった。ムラサキ培養細胞にはLEPS1ホモローグ（LEDI5a、LEDI5c）が存在しているので、現在これらの酵素活性を検討中である。

3aJ05

Relationship between bulb pigmentation and the expression of genes involved in anthosyanin biosynthesis in red onion

大矢武志[1]，福世妙子[2]，北宜裕[1]（[1]神奈川県農業総合研究所，[2]神奈川大学理学部応用生物科学科）

We have already reported that anthocyanin pigmentation in red onion bulb is specifically induced when the leaves are exposed to light, followed by synergetic expression of chalcone synthase (CHS), flavanone 3-hydroxylase (F3H), dihydroflavonol 4-reductase (DFR), and anthocyanidin synthase (ANS).

In this study, we have cloned five different kinds of myb-like genes from red onion by RT-PCR and determined the relationship between bulb pigmentation and genes involved in anthocyanin biosynthesis by real-time PCR. As we have also recognized that methyl jasmonate can induce bulb pigmentation, relationship between bulb pigmentation and expression of the above genes will be discussed.

3aJ06

ソバの栄養成長器官のルチン含量とその分解活性

鈴木達郎[1]，本田裕[1]，六笠裕治[1]（[1]独立行政法人北海道農業研究センター畑作研究部遺伝資源利用研究室）

ルチンは植物に広く分布するフラボノイドの一種で、フツウソバ(*Fagopyrum esculentum*)，ダッタンソバ(*Fagopyrum tataricum*)の子実、葉、幼植物の主要なフラボノイドである。ルチンは植物に抗酸化能等の機能を与える可能性が示唆されているが、実際の機能は完全には解明されていない。そこで我々は、機能解明のための基礎的な知見を得る目的で、ソバの各器官、成長ステージのルチン含量、分解活性の消長に注目している。今回は発芽過程の幼植物・栄養成長期の葉を材料に、ルチン含量・分解活性を調査した。発芽過程の個体あたりのルチン含量は、フツウソバ・ダッタンソバとも発芽2日目から増加を始め、6日目で乾燥重gあたりそれぞれ11 mg（発芽0日の300倍)，26 mg（発芽0日の1.4倍）となった。分解活性は、フツウソバの発芽過程ではほとんど検出できなかったが、ダッタンソバでは発芽2-4日目に急激に減少した。栄養成長期の葉のルチン含量は、フツウソバ・ダッタンソバとも展開前の若い葉で最も多く（乾燥重gあたり110 mg)、葉の成長とともに減少する傾向にあった。(ダッタンソバ：種子にフツウソバの100倍近いルチンと100倍近い分解活性を含む)

3aJ07

ヨウシュヤマゴボウにおけるフラボノイド合成

中村百合子[1]，作田正明[1]（[1]お茶の水大・院・ライフサイエンス）

高等植物の花色、紅葉などの赤色は、その多くがアントシアニンにより発色されているのに対し、ナデシコ科およびザクロソウ科を除くナデシコ目の植物では、その赤色はベタシアニンにより発色されている。またさらに、植物界における両者の分布は互いに排他的であり、同一植物に両赤色色素が共存する例は報告されていない。

本研究では、ナデシコ目植物のフラボノイド合成に着目して、生理学的側面からその特性の解析を試みた。ナデシコ目植物であるヨウシュヤマゴボウの培養細胞を材料として、培養条件等がフラボノイド合成に及ぼす影響について、特にフラボノイド合成系の鍵酵素であるCHSの発現に注目して検討行った。RT-PCRおよびノーザンハイブリダイゼーションによる解析の結果、ヨウシュヤマゴボウの培養細胞では光によりCHSの発現が誘導されること、さらにこの誘導は培地成分により影響を受けることが示唆された。現在、さらにフェニルプロパノイド合成系の鍵酵素であるPAL、アントシアニン合成系の最終段階に位置する酵素であるDFR、ANSのhomologue等の発現についても解析を進めており、この結果も併せて報告する。

3aJ08

青色デルフィニウム花弁の発色機構

吉田久美[1]，寺倉香奈里[2]，川野裕子[2]，外山友紀[2]，亀田清[2]，近藤忠雄[3]（[1]名古屋大院・人間情報，[2]椙山大・生活科学，[3]名古屋大院・生命農学）

目的

通常の花弁組織では、色素アントシアニンは表層細胞の液胞内に均一に溶解している。しかし、青色デルフィニウム（*Delphinium hybridum*）花弁では、表層細胞の液胞内に繊維状の青色不溶物が存在し、液胞液は無色であった。本研究は、デルフィニウム花弁の青色発色機構の解明を目指し、表層着色細胞の単離と液胞内容物の同定、定量、ならびに液胞pHの精密測定を行なった。

方法及び結果

花弁にマセロザイムY-23とセルラーゼRS を作用させプロトプラスト化した。プロトプラスト懸濁液を、パーコールを用いた密度勾配遠心法で精製して、95%以上の純度で着色細胞を得た。水を加えて細胞を破裂させた後、ショ糖-マンニトール水溶液による密度勾配遠心により、青色の繊維状物を単離した。これに硝酸を加えて溶解し、HPLCにより色素シアノデルフィン[1]を、原子吸光法によりAl^{3+}を定量した。液胞pHは、細胞内微小電極法で測定した。液胞内のシアノデルフィン濃度は約$4x10^{-3}$M、Al^{3+}は色素に対して約2当量含まれることがわかった。液胞pHは5.0 (SD=0.21, n=29) であった。この条件でアントシアニンとAl^{3+}を混合することにより、花弁と同じ青色を再現できた。現在、繊維状物質の分析を進めている。

[1] Kondo, T. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **32**, 6375-6378 (1991).

3aJ09

リンドウ花弁に由来するアントシアニンのB環特異的糖転移酵素--酵素学的性質の解明と本酵素遺伝子のクローニング

水谷（福知）正子[1]，福井祐子[1]，中尾正弘[1]，榊原（米倉）圭子[1,2]，勝元幸久[1]，田中良和[1]，長谷俊治[3]，奥原宏明[3]（[1]サントリー基礎研究所，[2]理研植物科学センター，[3]阪大・タンパク研）

アントシアニンは植物体内において様々に配糖化やアシル化された状態で蓄積し、このことが花色の多様性の一因となっている。なかでも青色色素の基本骨格であるデルフィニジンについては、B環の配糖化とそれに続くアシル化が色素の安定化と青色化に大きく寄与していることが知られている。我々はデルフィニジン3-グルコシル-5-カフェオイルグルコシル-3'-カフェオイルグルコシドを主要色素として含有するリンドウ青色品種の花弁から、B環の3'位の水酸基にグルコースを付加する3'位糖転移酵素（3'GT）を精製した。精製タンパク質の内部アミノ酸配列に基づき、本酵素をコードするcDNAを単離した。アミノ酸配列のホモロジー検索の結果、リンドウ由来の3'GTは、植物の糖転移酵素のうち、フラボノイドの7位糖転移酵素と同じサブファミリーに属していた。cDNAを大腸菌で発現させて得られる組み換え体酵素を用いた解析から、リンドウ3'GTは、糖供与体としてUDP-グルコース、糖受容体としては本来の基質と考えられるデルフィニジン-3, 5-ジグルコシドに対する選択性が高いことが明らかとなった。さらに、本cDNAをペチュニアで発現させた結果からもリンドウ3'GTがデルフィニジン-3, 5-ジグルコシドに対する高い選択性をもつことが示唆された。

3aJ10

園芸植物のフラボノイド合成遺伝子のクローニングと解析

戸上純一[1]，中村典子[1]，水谷正子[1]，榊原圭子[2]，鈴木賢一[1]，田村美穂子[1]，久住高章[1]，田中良和[1]（[1]サントリー基礎研究所，[2]理研・植物科学センター）

花の色は園芸植物にとって商業上重要な形質である。その主要成分であるフラボノイドの生合成に関与する遺伝子の発現を遺伝子組換の手法をもちいて制御することにより、花の色を変えることができる。

フラボノイド3',5'-水酸化酵素（F3'5'H）cDNAをバーベナ（2種）、ラベンダー、チョウマメ、ゼラニウムから、フラボノイド3'-水酸化酵素cDNAをバーベナ、リンドウから、ジヒドロフラボノール4-還元酵素cDNAをバーベナ、ゼラニウムからクローニングした。それぞれの酵素のアミノ酸配列は種を超えてよく保存されていた。また、これらのアミノ酸配列の比較に基づく系統関係は、従来の分類とよく一致した。これらのF3'5'H遺伝子を酵母で発現させたところ、ナリンゲニンなどのフラボノイドの3'と5'位を水酸化する反応を触媒することを確認できた。また、チョウマメF3'5'HcDNAをペチュニアで発現させたところ、ペチュニアのF3'5'H欠損を相補できた。

これらの遺伝子は花の色を改変する上で有用な分子ツールであるとともに、これらの酵素の構造と機能相関を理解する上でも重要である。

3aJ11

プリンアルカロイド生合成植物における*TCS*相同遺伝子の構造と機能

米山奈保[1]，水野幸一[2]，友田善久[3]，芦原坦[1]，加藤美砂子[4]（[1]お茶の水大・理，[2]筑波大・農工系，[3]明治製菓，[4]お茶の水大院・人間文化）

チャ（*Camellia sinensis*）のカフェインシンターゼ（CS）は、カフェイン生合成の最後の2段階のメチル化を触媒する*N*-メチルトランスフェラーゼである。CSは、プリン環の*N*-3位と*N*-1位にメチル基を導入し、カフェイン生合成における鍵酵素として機能する。我々は既にCSを精製し、そのcDNAである*TCS1*を単離している。本研究では、広範な植物でのCSの機能を比較するために、他のプリンアルカロイドを生合成する植物から*TCS*相同遺伝子の単離を行った。

チャとコーヒーの遺伝子に保存されている*S*-アデノシルメチオニンが結合する領域をもとに合成したオリゴヌクレオチドを用いて、RACE法によりマテ茶（*Ilex paraguariensis*）より*TCS*相同遺伝子*LCS1*を単離した。*LCS1*がコードするタンパク質の推定分子量は41kDaであり、チャのCSやコーヒーのテオブロミンシンターゼ（CTS1）の分子量とほぼ同じであった。LCS1とTCS1のアミノ酸配列の相同性は60%、LCS1とCTS1は36%であった。現在、テオブロミンを蓄積するカカオ（*Theobroma cacao*）の相同遺伝子の解析を行っている。

3aJ12

コーヒーからのチャカフェインシンターゼ相同遺伝子の単離

水野幸一[1]，奥田彰[1]，田中博美[1]，加藤美砂子[2]，芦原坦[3]，藤村達人[1]（[1]筑波大・農工系，[2]お茶女大・人間文化，[3]お茶女大・理・生物）

カフェイン（1,3,7-トリメチルキサンチン）はキサンチン骨格の3回のメチル化により生合成される。我々はチャより最後のN-1およびN-3位へのメチル化を行うカフェインシンターゼ（TCS）遺伝子を単離している。さらに、コーヒーでのカフェイン生合成機構を明らかにするために、TCS相同遺伝子を単離してその機能解析を行なった。

TCSの基質結合部位と考えられる保存領域に相当するプライマーを用い、RT-PCRによりTCS相同遺伝子のcDNAを得た。これをプローブとしてコーヒー若葉由来のcDNAライブラリーをスクリーニングした結果、さらに4種類のクローンの単離に成功した。これらを大腸菌で発現させたところ、2種が7-メチルキサンチンのN-3位にメチル基を導入しテオブロミンを合成する活性を示したことから、これらをコーヒーテオブロミンシンターゼ（CTS）と命名した。CTSの発現は若葉だけでなく胚乳においても強かった。コーヒーにおける1-N メチル化活性を持つ酵素を得るために、TCSが2段階のメチル化を触媒することを考慮して、CTS、TCSおよびその他の植物のメチルトランスフェラーゼの保存領域をもとに新たにプライマーを設計し、胚乳由来のRNAを鋳型にRT-PCRを行った。その結果、上記5種と80％程度の相同性を持つ新規クローンを2種類得た。現在、これらを大腸菌で発現させて活性測定を進めている。

3aK01

半導体光源を用いた光質によるシロイヌナズナ光形態形成の解析

勝又政和[1]，岡野陽平[1]（[1]浜松ホトニクス・中央研）

近年開発が進んでいる高い光出力と単色性に優れた半導体光源を用いて，シロイヌナズナ光受容変異体の光波長による花芽形成誘導について解析を行った。

植物はphytochromeやcryptochrome等の光受容体を介して光質を感知している。それぞれ光受容体の吸収スペクトルはオーバーラップしており、また光受容体からの情報伝達は複雑に相互作用しているため、それらを解析するためには正確に制御された光環境が要求される。我々は高純度な単色光を容易に得ることのできる半導体光源LED（発光ダイオード）やLD（レーザーダイオード）を用いた光環境により光形態形成反応の解析を進めている。

今回、LEDのスペクトルの調整により、赤色・遠赤色比率に基づくphytochrome光平衡状態を段階的に制御した赤色単色光とphytochromeの赤色吸収域への影響を最小にした青色単色光を用いてphytochromeとcryptochromeの相互作用について胚軸伸長と花芽分化制御に関して光受容体欠損変異体を用いて解析した。その結果、赤色／遠赤色に対する反応は青色光応答よりも優位に作用し、胚軸伸長と花芽分化制御では光受容体の相互作用が異なることを示唆する結果を得た。これら結果から推察される光受容体相互作用モデルについて考察する。また、スペクトル幅が数nmである理想的な単色光を発光可能なLD素子を用いた実験結果も合わせて報告する。

3aK02

最小プロモーターに光応答性を付与できるシスエレメントDE1に結合するタンパク質DF1の機能解析

永野幸生[1]，山本芳裕[1]，稲葉丈人[1]，佐々木幸子[1]（[1]名大院・生命農）

エンドウ低分子量GTPase遺伝子*pra2*は暗所生育エンドウの上胚軸で発現しており、光により発現が抑制される。これまで、この遺伝子の発現が光で調節される仕組みを調べてきた。その過程で光応答に必要かつ十分なシスエレメントDE1をみつけた（Inaba *et al.*, *JBC* (2000) 275, 19723)。さらに、シスエレメントDE1に特異的に結合するDNA結合タンパク質DF1を同定した。(Nagano *et al.*, *JBC* (2001) 276, 22238)。今回は、DF1タンパク質に関する機能解析を更に進めたので報告する。

まず、パーティクルガンを用いた遺伝子導入実験から、DF1は*in vivo*でDE1エレメントを介して遺伝子発現を誘導することを明らかにした。また、GFP融合遺伝子を用いた実験から、DF1タンパク質は核に局在することを明らかにした。更に、DF1のmRNA量、タンパク質量が光に応答してどう変化するかも調べたので、その結果についても述べる。

3aK03

シロイヌナズナの光応答するプロモーター･エンハンサートラップ系統の解析

田中慎一郎[1]，中村賢志[1]，望月伸悦[1]，長谷あきら[1]（[1]京都大院・理）

シロイヌナズナの光存在下で生育した芽生えにおいて、日陰に対する応答におけるフィトクロムの作用機構を調べるため、end-of-day FR処理に応答してレポーター遺伝子の発現が胚軸で見られる系統を新たに3系統単離した。以前に我々が単離したN35系統と共にこれらの系統におけるオーキシンに対するレポーター遺伝子の応答を調べたところ4系統のうち2系統においてオーキシンに応答する発現が認められた。さらに、オーキシン輸送阻害剤の影響を解析したところ、この2系統でend-of-day FR処理に対する応答が見られなくなった。これは、日陰に対する応答にオーキシンが関わることを示唆している。しかしながら、他の2系統においてはオーキシンもオーキシン輸送阻害剤も影響がみられなかった。これらのうち1系統においては、ABAにレポーター遺伝子が応答する可能性が示唆された。また、先にN35系統を解析したのと同様にオーキシンに応答しない系統で光受容部位を解析したところ、オーキシンに応答する系統としない系統の両者いずれでも、光受容部位は胚軸でなくて、子葉であった。したがって、なんらかのシグナルが子葉から胚軸へ伝達されることが示唆された。

3aK04

シロイヌナズナの根における光に応答した葉緑体の発達

宇佐見健[1]，中村賢志[1]，望月伸悦[1]，長谷あきら[1]（[1]京大院・理・植物）

シロイヌナズナの根の緑化はCOP1,HY5等の光シグナル因子によって制御されている(Deng and Quail 1992; Oyama et al. 1997)。また、フィトクロムB(phyB)欠損変異体では根の緑化が著しく抑制される(合田ら、日本植物生理学会1998年度年会)。この現象を詳しく調べた結果、根の緑化は赤色光下では専らphyBに制御されるがクリプトクロム1(cry1)も関与すること、青色光下の応答にはphyBとcry1が関与することなどがわかった（日本植物生理学会2001年度年会)。

本研究では、我々の研究室で作出された*phyB*欠損変異体に*PHYB-GFP*遺伝子を導入した形質転換シロイヌナズナ系統(Yamaguchi et al. 1999; 中村ら、日本植物生理学会2001年度年会)の内、根の一部の組織でのみphyB-GFP融合タンパク質を発現する系統を用いて赤色光による根の緑化を調べた。この結果、内皮に発現しているphyB-GFP融合タンパク質が、皮層、内皮、内鞘の緑化に関わっているらしいことがわかった。従って、光を受容した組織から何らかのシグナルが隣接する組織に伝えられていることが示唆された。現在、さらに多くの系統を用いて、組織レベルでの緑化と光受容部位について解析を進めている。また、根の緑化におけるphyBとcry1の相互作用についても、各種変異体を用いた解析を進めている。

3aK05

突然変異体を用いたイネフィトクロムAの機能解析

高野誠[1]，篠村知子[2]，鐘ヶ江弘美[3]，矢崎潤史[4]，藤井文子[4]，真保佳納子[4]，山本公子[4]，坂田克己[5]，佐々木卓治[5]，岸本直己[3]，菊池尚志[3]（[1]生物研・生理機能，[2]日立製作所・基礎研，[3]生物研・分子遺伝，[4]STAFF研究所，[5]生物研・ゲノム）

私たちは、イネにおけるフィトクロムの機能や分子種間の役割分担を明らかにする目的でイネのフィトクロム突然変異体の単離と解析を進めている。

イネフィトクロムA突然変異体（*osphyA*）の単離と解析については、前々回の本大会で最初の報告を行った。*osphyA*を遠赤色光（FR）連続照射下で育てると、野生型（WT）で観察される3つの特徴的な表現型、1)子葉鞘の伸長抑制、2)メソコチルの伸長抑制、3)冠根の重力屈性誘導が認められなかった。そこで今回はこれらの反応に関わるphyAの光受容様式について詳しく解析した。その結果、1)子葉鞘の伸長抑制は、VLFR (very low fluence response) によって引き起こされるのに対して、2)メソコチルの伸長抑制、及び3)冠根の重力屈性誘導は、FR-HIR (far-red light induced high irradiance response) であることを明らかにした。また、遺伝子発現については、*CAB*, *RBCS*遺伝子が、*osphyA*においても、FRの照射によって誘導されることを見出した。さらに広範な遺伝子発現に対するphyAの関与を明らかにする目的で、イネの高密度cDNAアレイを用いてWTと*osphyA*との間で遺伝子発現プロファイルの比較、解析を行い、phyA特異的なシグナルによって発現が変化する遺伝子を検索した。

3aK06

シアノバクテリア*Synechocystis* sp. PCC 6803の走光性の作用スペクトル解析：
野生株の正の走光性とフィトクロム様光受容体をコードする*pixJ1*破壊株の負の走光性

吉原静恵[1]，鈴木布美子[1]，耿暁星[1]，東正一[2]，渡辺正勝[2]，池内昌彦[1]（[1]東大・院・総合文化，[2]基生研・大型スペクトログラフ）

単細胞性シアノバクテリア*Synechocystis* sp. PCC 6803は線毛による運動能をもち、正と負の走光性を示す。その正の走光性には、フィトクロム様の光受容体をコードする*pixJ1*（positive phototaxis、旧名*pisJ1*）遺伝子産物と、細菌のべん毛運動を調節する走化性調節タンパク質に似た因子が関与することを発表した。本研究では、白色蛍光灯下で正の走光性を示す野生株と、同条件下で負の走光性を示す*pixJ1*破壊株について、大型スペクトログラフをもちいて走光性の波長依存性、光強度依存性を解析し、比較した。野生株は、強光下では510、560 nmに対して正の走光性を示し、弱光下では660、710 nmに対して正の走光性を示した。さらに、強光、中光下では360 nmに対して光源から遠ざかる負の走光性を示した。一方、*pixJ1*破壊株は、強光下で560、660 nmに対して負の走光性を示し、すべての光強度下で360 nmには応答せず走光性を示さなかった。これらの結果から、野生株は、光源に向かう正の走光性と、光源から遠ざかる負の走光性をあわせもつことがわかった。また*pixJ1*遺伝子産物は660-710 nmの範囲の光を認識して正の走光性を調節していると考えられる。さらに360 nm付近の光を認識して負の走光性の調節にも関与している可能性も示唆される。

3aK07

赤色光による子葉鞘の伸長抑制機構に欠損のあるイネ突然変異株の単離

稲垣言要[1]，譲原奈津[1]，須藤しづ江[1]，西村実[2]（[1]農業生物資源研究所・光合成研，[2]農業生物資源研究所・放射線育種場）

子葉鞘は、発芽時に地上部全体を包み込んで物理的に保護するイネ科特有の器官で、その伸長は、種々の環境要因によって制御されている。特に光は子葉鞘の伸長を抑制し、この現象にはフィトクロムを光受容体とするシグナル伝達系が重要な働きをしていることが明らかになっている。本講演では、イネのフィトクロムとその下流に展開するシグナル伝達系について解析することを目的に、光による子葉鞘伸長抑制機構に欠損を持つイネ突然変異株の単離を試みたので報告する。

農業生物資源研究所・放射線育種場においてγ線照射によって作出された変異株から早生形質を持つものを選抜し、これらの種子を連続赤色光下で発芽させたところ、子葉鞘が野性株に比べて2倍長い変異株を1株単離した。*elc*（*elongated coleoptile under red light irradiation*）と命名したこの変異株における遠赤色光による子葉鞘の伸長抑制は正常で、暗所における子葉鞘の伸長も野性株との違いが見いだせなかった。このことから、この表現型は赤色光特異的であることが明らかになった。

試みに本変異株のフィトクロムB遺伝子のcDNAの塩基配列を解析したところ、C末端領域に33塩基の欠失が存在し、これによってC末端9残基と終止コドンが失われ、61残基の余分な配列が付加されることが予想された。本欠失と表現型の相関を検証中である。

3aK08

ホウライシダフィトクロムphy3の機能解析

河合博子[1]，鐘ヶ江健[1]，佐藤良勝[1]，門田明雄[1]，今泉貴登[1]，和田正三[1,2]（[1]東京都立大院・理，[2]基生研・情報制御）

ホウライシダフィトクロムphy3はN末端側がフィトクロム発色団結合領域、C末端側がフォトトロピンとそれぞれ相同性を有する特異な構造を持つ。フォトトロピンは、高等植物における青色光に依存した光屈性、葉緑体光定位反応、気孔開口の光受容体である。ホウライシダにおいては、青色光のみならず赤色光も光屈性と葉緑体光定位反応に有効であるため、これらの反応にはphy3が機能していると推察された。我々は、配偶体において赤色光による光屈性と葉緑体光定位反応をともに欠損する突然変異株*rap*(red-light aphototropic) 突然変異株のEMS処理系統5系統に関して*PHY3*遺伝子座のシークエンスを行い、それぞれ*PHY3*遺伝子上に変異を検出した。その1系統である*rap2*突然変異株の前葉体細胞に*PHY3*遺伝子を導入し、一過的に強制発現させることで、赤色光による葉緑体光定位反応を回復できたため、phy3がこの反応に機能していることが明らかになった。

さらに、phy3の胞子体における機能を解析するため、*rap2*突然変異株胞子体における赤色光による光屈性を調べたところ、配偶体同様、反応が欠損していた。したがって、配偶体と胞子体とでは光屈性反応のメカニズムは大きく異なるが、同一の光受容体が機能していることが示唆された。(本研究の一部は生物系特定産業技術研究推進機構の支援を受けて行われた。)

3aK09

Anabaena sp. PCC 7120の細胞内cAMPレベルを制御する遠赤色光受容体AphC

岡本忍[1]，笠原賢洋[2]，神谷麻子[3]，中平有香[1]，大森正之[1]（[1]東京大院・生命，[2]国立基礎生物研，[3]理研・ゲノム科学総合研究センター）

ラン藻は様々な外界の刺激に応じて細胞内cAMPレベルを変化させる。*Anabaena* sp. PCC 7120では赤色光（630 nm）を照射すると細胞内cAMPレベルが減少し、遠赤色光（720 nm）を照射すると増加する。アデニル酸シクラーゼCyaC（All4963）のレスポンスレギュレータードメインの59番目のアスパラギン酸をアラニンに置換すると外界の光を感知できなくなった。この結果から、59番目のアスパラギン酸にリン酸を転移するトランスミッタードメインをもつ光受容体の存在を想定した。フィトクロムの色素結合アミノ酸部位を含む約150アミノ酸残基（GAFドメイン）で*Anabaena*ゲノムを検索した。

その結果、ゲノム上に23個の色素結合能をもつと推定されるGAFドメインを見いだした。色素結合ドメインとトランスミッタードメインを有する15個の光受容体候補を選定し、薬剤遺伝子を挿入することにより破壊株を作製した。私たちは変異株の中でAphC（Alr2669）破壊株が遠赤色光に対する応答を失っていることを見いだした。aphCは920アミノ酸残基からなるタンパク質をコードしていると推定され、*Synechocystis*の光受容体Cph2と相同性を示した。AphCは光の刺激によりリン酸転移を介してCyaCを制御している可能性が示唆された。

3aK10

イネクリプトクロムの細胞内局在および機能解析

松本菜々子[1]，岩崎俊介[2]，山本直樹[3]（[1]お茶の水大院・ライフサイエンス，[2]新潟大・理，[3]お茶の水大・理）

クリプトクロム（CRY）は光形態形成に関与する青色光受容体としてシロイヌナズナで最初に同定された．シロイヌナズナの２つのクリプトクロム（AtCRY1, AtCRY2）は，いずれも細胞内で核に局在することが報告され，その意義について考察がなされている．

クリプトクロムのホモログとしてイネから単離されたOsCRY1 cDNAの機能を解析することを目的として，*GFP* と融合させた *OsCRY1* をシロイヌナズナに導入した．その結果，GFP-OsCRY1 形質転換体のめばえでは，野生株と比べて，胚軸の伸長が阻害され，アントシアニン蓄積量が増大していた．これらの形質転換体の表現型はクリプトクロムの過剰発現によるものと推測できる．また，この形質転換体における GFP-OsCRY1 の細胞内局在を調べたところ，明所，暗所の生育条件に関わらず細胞質に局在した．これはタマネギ表皮細胞を用いた一過的発現による解析の結果（植物学会 2001大会）と一致する．また，演者らは新たにイネクリプトクロムホモログ OsCRY2 cDNA を単離した． GFP と OsCRY2 の融合タンパク質も，タマネギ表皮細胞での一過的発現で細胞質に局在した．以上の結果から，光形態形成におけるクリプトクロムの機能と細胞内分布の関係について考察する．

3aK11

青色光による気孔開口への青色光受容体フォトトロピンの関与

木下俊則[1]，土井道生[1]，末次憲之[2,3]，加川貴俊[2,4]，和田正三[2,3]，島崎研一郎[1]（[1]九州大・院理・生物科学，[2]基生研・情報制御，[3]都立大・院理・生物科学，[4]科技団・さきがけ21研究）

青色光は光情報として孔辺細胞原形質膜H^+-ATPaseを活性化し、気孔開口を引き起こす。しかしながら、青色光受容体については不明のままである。本研究では、胚軸の光屈性や葉緑体定位運動の青色光受容体であることが明らかとなっているフォトトロピン（phot1, phot2）の青色光による気孔開口への関与について、シロイヌナズナの変異体（*phot1-5, phot2-1, phot1-5 phot2-1*）を用いて解析を行なった。

青色光（50 μmol/m^2/sec）による気孔開口は、*phot1-5* と *phot2-1* の各変異体において野生株と同じように見られたが、*phot1-5 phot2-1* 二重変異体では全く見られなかった。また、青色光強度依存性を調べたところ、弱い青色光（5 μmol/m^2/sec）において *phot1-5* と *phot2-1* では野生株より気孔開度が小さいことが明かとなった。さらに、*phot1-5 phot2-1* 二重変異体は、青色光に依存した蒸散の増加、気孔コンダクタンスの上昇や原形質膜H^+-ATPaseによるH^+放出も全く見られなかった。一方、原形質膜H^+-ATPaseの発現量、カビ毒素フシコクシンによる気孔開口は、二重変異体においても野生株と差がなかった。以上の結果より、青色光による気孔開口の青色光受容体はフォトトロピンであり、これらは重複して機能しているものと思われる。

3aK12

クラミドモナスのフォトトロピン様遺伝子の解析

小野寺暁彦[1]，John M. Christie[2]，笠原賢洋[2]，望月伸悦[1]，浅水恵理香[3]，田畑哲之[3]，福澤秀哉[4]，Winslow R. Briggs[2]，長谷あきら[1]（[1]京大院・理，[2]スタンフォード大・カーネギー研，[3]かずさDNA研究所，[4]京大院・生命科学）

クラミドモナスでは、いくつかの青色光反応が知られており、その一つである走光性はクラミロドプシンと呼ばれる青色光受容体によって媒介されることが知られている。しかしその一方で、同じく青色光の照射によって引き起こされる配偶子形成の誘導や光合成関連遺伝子の発現などが、どのような光受容体によって媒介されているのかは未だ明らかにされていない。今回我々はかずさDNA研究所のESTデーターベースを検索することにより、高等植物の青色光受容体の一つであるフォトトロピンによく似た遺伝子がクラミドモナスにも存在することを見出した。ノザンブロット解析などにより、この遺伝子が約4KBのmRNAとして発現されていることを確認した。そこで全長の塩基配列を調べたところ、約2．3KBのORFを持ち、高等植物のフォトトロピンと同様に2つのLOVドメインと1つのSer/Thr キナーゼドメインを持つことを明らかにした。また、大腸菌で発現させたLOVドメイン部分の蛋白質を用いて行ったスペクトル解析では、青色光が主な吸収波長でありFADが発色団として結合していることが強く示唆され、この遺伝子の産物が高等植物のフォトトロピンと同様の光化学的特徴を持つことが明らかとなった。現在シロイヌナズナのフォトトロピン欠損突然変異体でクラミドモナスのフォトトロピンを発現させることを試みている。

3aK13

クロレラのアミノ酸(グリシン)･アンモニア取り込みの青色光制御

斉藤健司[1]，神谷明男[1]（[1]帝京大・薬）

植物において窒素源の欠乏は重大なストレスである。クロレラでは窒素化合物（硝酸・アンモニア・アミノ酸）取り込みが外部の窒素源の有無により青色光で制御される。窒素源の利用に硝酸還元酵素(NR)は重要な位置を占める。クロレラではアンモニアで培養するとNRは消失する。そこでアミノ酸（グリシン）取り込みを青色光、NR存在、非存在下で検討した。

(1) NR存在条件(Growing cells)では、青色光によりグリシン（アンモニア）取り込みは阻害された。青色光はNRを活性化させる。暗中で外部からのアンモニア、内部でのアンモニア生成条件下ではともにグリシン（アンモニア）取り込みは阻害された。従って、NRが青色光受容体となり、生成したアンモニアがグリシン取り込み系を阻害すると考えられる。(2) NR非存在条件(Resting cells)では、青色光によりグリシン取り込みは促進された。Resting cellsでは青色光による貯蔵デンプン分解・呼吸の増大が起こる。暗中で外部からのヘキソース（グルコース）添加はグリシン取り込み能を増大させることから、この現象にデンプン分解を誘導する未知の青色光受容体の関与が推測される。

3aK14

クロレラ､クラミドモナスで観察される青色光効果の比較

神谷明男[1]，斉藤健司[1]（[1]帝京大・薬）

Chlorella kessleri 細胞は窒素源が欠乏すると、青色光に感受性を示し、貯蔵デンプンの分解が増大し、数分後に呼吸が促進されATP合成が起こる（青色光呼吸)。この反応は窒素化合物（硝酸・アミノ酸）取り込み輸送体の合成を誘導することに利用されると考えられる。

窒素欠乏と青色光シグナルが関与する配偶子形成誘導が、クラミドモナスなどで知られている。この作用スペクトルとクロレラの青色光呼吸のそれはよく似ている。そこで我々はクロレラで認められた、青色光誘導生理現象がクラミドモナスでも起こるか検討し、以下の結果を得た。(1) 窒素欠乏したクラミドモナスに青色光を照射すると、貯蔵デンプンの分解が顕著に起こり、呼吸の著しい増加が10-15秒以内に起こることが認められた。この呼吸増大はクロレラと同様に連続青色光が必要で、パルス光では呼吸増大は持続しない。(2) 同じ細胞で青色光によりメディウムの顕著な酸性化現象が認められた。(3) 青色光によるアンモニア取り込み阻害が認められた。(4) クロレラで観察された硝酸取り込みにたいする顕著な青色光制御は認められない。従って、クラミドモナスで見いだされた青色光による呼吸増大は、窒素化合物の輸送体合成よりむしろ、配偶子形成の初期反応の可能性が考えられる。

3aL01

シロイヌナズナの根における水分屈性関連遺伝子の探索

高田元[1]，池田真理子[1]，中谷浩太郎[1]，小泉好司[1]，貴家康尋[1]，坂田洋一[1]，武長宏[1]，田中重雄[1]（[1]東京農大・応用生物）

現在までに生理学的な手法を用いた水分屈性の知見は得られているが、水分濃度勾配の感知機構や情報伝達に関する詳細な分子機構は未だ解明されていない。そこで本研究では、分子レベルでの水分屈性機構の解明を目指し、シロイヌナズナの水分屈性検定法を開発して、本法を用いた変異体の選抜、ならびにAFLP-based mRNA fingerprinting (AMF)法による水分屈性関連遺伝子の探索を行った。

変異体の選抜には、重イオンビーム ($^{12}C^{5+}$) を照射した種子とT-DNAタグラインの種子を用いた。これまでに重イオンビームを照射したM2種子、約20000粒、ならびにT-DNAタグライン種子、4860粒から2系統の変異体の候補を得ている。現在、候補株についてその遺伝性ならびに表現型解析を行っている。

また、湿度勾配の有無により水分屈性を示した野生株と水分応答を示さなかった野生株から調製したcDNAを用いてAMFを行った。水分応答時に特異的な発現を示すバンドは、ノザンブロット解析により再現性を確認し、配列を決定した。その結果、細胞伸長に関わるペクチンメチルエステラーゼや脂肪酸代謝に関わるアシルCoAオキシダーゼなどが同定され、水分屈性の屈曲応答時への関与が示唆された。現在、配列の決定された遺伝子について、水分屈性との関わりを検討している。

3aL02

シロイヌナズナおよびハツカダイコンにおける根の水分屈性とコルメラ細胞のデンプン消化

山崎裕[1]，高橋信行[1]，東谷篤志[1]，高橋秀幸[1]（[1]東北大院・生命科学）

われわれは重力屈性を欠損した突然変異体、クリノスタット、さらに宇宙環境を利用した実験から、重力屈性を低下させる条件では、根が水分勾配に応答して水分屈性を顕著に発現することを明らかにしてきた。今回、シロイヌナズナおよびハツカダイコンの根の水分屈性実験系を確立して解析した結果、それらの水分屈性は、刺激開始から30分以内に発現し、これまで用いてきたエンドウ、トウモロコシ、キュウリの根に比較して、はるかに鋭敏な応答であることがわかった。さらに、これらの根では、水分勾配処理の開始から30分以内にはコルメラ細胞中のデンプンが減少し、水分屈性による屈曲が約20度から約90度に発達する1時間から8時間までに、処理前の10–20%のデンプン量になることを発見した。このコルメラ細胞のデンプン消化は浸透圧ストレスによっても誘導された。また、これら水分勾配処理を行った根の重力屈性は、デンプン合成能を欠損した*pgm1–1*突然変異体の根と同様に顕著に低下した。以上の結果から、これらの根が顕著な水分屈性を示すのは、重力受容に機能するアミロプラストのデンプン消化が重力感受性を低下させるためであることが示された。水ストレスによるデンプン消化の仕組みは不明であるが、コルメラ細胞が、環境条件によって重力感受性を積極的に低下させて水分屈性を発現させるための統御機構をもつものと考えられる。

3aL03

Cloning and characterization of a water channel gene from a thermophilic archaeon, *Methanothermobacter marburgenese*.

Xiaodong Ding[1], David Kozono[2], Peter Agre[2], Yoshichika Kitagawa[1] ([1]Institute of Biotechnology, Akita Prefectural University, Ogata, Akita 010-0044, Japan, [2]Department of Biological Chemistry, Johns Hopkins University, School of Medicine, 725N Wolfe St, Baltimore, MD 21205, USA)

A water channel gene was rapidly cloned from an archaeon, Methanothermobacter marburgenese genome using single primer PCR strategy. The deduced amino acids sequence contained two highly conservative motifs, NPA, which were proposed to form an "hourglass" model of water channel proteins to mediate the transfer of water across biomembranes. The amino acid sequence contained six putative membrane-spanning, tilted helical domains. The ORF of the gene was cloned into protein expression vector and the overexpressed protein was purified from E. coli membrane pellet. The protein, AqpM, showed a linear relationship between the apparent molecular mass and the acrylamide concentration, with the higher molecular mass band exhibiting faster mobility in the gels of lower polymer content. AqpM possessed a very stable tetramer structure. Dissociation of the tetramer appeared in the solution of strong hydrophilic reducing agent, ethanedithiol, with the concentration up to 1 M. AqpM was reconstituted into proteoliposome and the water and CO2 permeability was determined on stopped-flow device.

3aL04

イネ幼苗の低温感受性の日周変動と根の水チャンネル遺伝子発現との関係

桜井（石川）淳子[1]，山口知哉[1]，中山克大[1]，小池説夫[1]（[1]東北農業研究センター）

イネ幼苗は低温感受性の日周変動を示し、1日の中でも夜明けに最も低温に弱く、日没時に最も強い。そのメカニズムについて、演者らは以前に低温による根の吸水機能低下が関与している可能性を示した。今回は吸水機能の変化を遺伝子レベルから明らかにするために、吸水に関与する膜タンパク質・水チャンネルの遺伝子発現量の変動を解析したので報告する。

人工気象室にて生育させたイネの根の水チャンネル遺伝子発現量は日周変動を示したが、低温感受性の日周変動のリズムとは一致しなかった。次に、低温に最も弱い暗期終了時あるいは低温に最も強い明期終了時から4℃の低温処理を行ったところ、両者とも根の水チャンネル遺伝子発現量は激減したが、その後常温に戻したところ、明期終了時から低温処理した苗は短時間で発現量が増加したのに対し、暗期終了時から処理した苗では発現量の回復が遅れた。演者らは以前に根からの吸水量の指標となる溢泌液量についても同様の解析を行い、暗期終了時から低温処理した苗は常温に戻しても溢泌液量を回復できないことを報告した。以上の結果から、低温処理前の吸水機能の差ではなく、処理後に吸水機能を回復できるか否かによって低温感受性の日周変動が生じていることが示唆された。

3aL05

エアプラント（*Tillandsia ionantha*）は、空気中の水分を吸収できるか？

野平英樹[1]，大類太郎[1]，青木亜祐美[1]，石川幸奈[1]，小泉好司[1]，貴家康尋[1]，坂田洋一[1]，武長宏[1]，田中重雄[1]（[1]東京農大・応用生物）

着生植物である*Tillandsia ionantha*は、植物にとって重要な吸水器官である根が本来の機能を果たさず、葉部から吸水を行っている。また、極めて乾燥に強い特性を有するとされている。そこで、本植物の耐乾性機構の解明を目指し、以下の実験を行った。

乾燥耐性を検証するため、水や肥料を与えず長期にわたり観察した結果、50日経過後も生体重は15%減少するものの外観上の変化は認められなかった。この理由として、(1) 空気中水分の吸収機構の存在、(2) 生体内水分の保持・再利用系の発達などが考えられるので、空気中水分の吸収機構に着目し、次の解析を行った。

気体の水の吸収能を測定するため、^3H_2Oを気化させた密閉容器中に葉を一定時間入れ、葉表面の鱗片上に付着している^3H_2Oを水洗により除いた後、葉の放射活性を測定した。その結果、生体内への水（気体）の取り込みが確認された。しかし、この取り込みが生物的吸収によるものであるか明確でないため、低温（4℃）条件下でも同様に実験を行ったところ、生体内への取り込みが室温（24℃）よりも増加した。そこで、3日間にわたり低温処理を行い、水（気体）の取り込みを経時的に調べたところ、低温処理1時間後に取り込み量が室温の場合の約20倍となり、その後減少することが判明した。以上の結果は、生物的吸収の可能性を示唆しており、現在さらなる検証を行っている。

3aL06

プロトプラストを用いた植物細胞水透過率測定手法の開発

村井麻理[1]，桑形恒男[2]（[1]東北農業研究センター，[2]農業環境技術研究所）

植物の吸水–蒸散調節機能や組織の保水機能を水チャネルの発現・機能の視点から解明するためには、植物体内の水輸送経路における各種組織細胞の水透過率を正確に把握する必要がある。本研究では、それらの組織から単離したプロトプラストを用いて、細胞の水透過率を高精度で測定する手法を開発した。プロトプラストの水透過率は、細胞内外の浸透圧差に依存した細胞の膨張収縮速度から求めることができ、ダイコン根の皮層細胞では、水透過率を従来よりも高精度で決定することができた。

成熟した植物細胞では、細胞膜とその内側の液胞膜にそれぞれ細胞膜型・液胞膜型の水チャネルが発現し、水透過に支配的な役割を果たしている。一般的に液胞膜の水透過性は細胞膜に比べて高いと言われているが、本手法で得られた細胞水透過率には細胞膜と液胞膜の水透過性の両方の効果が含まれている。そこで理論的考察によって、プロトプラストの膨張、収縮速度の非対称性から細胞膜と液胞膜の水透過率を分離評価する可能性についても検討した。

3aL07

シロイヌナズナのエタノール高感受性変異geko1の解析

藤重直子[1]，西村宜之[1]，井内聖[2]，篠崎一雄[2]，平山隆志[1,2]（[1]横浜市大院・総合理学，[2]理研・植物分子）

高等植物シロイヌナズナから劣性のエタノール高感受性変異を分離し、geko-1（gek1）と名付けた。gek1変異株は、0.03%のエタノール含有培地上では発芽ができず、生育も阻害される。この発芽阻害はMeOH, PrOH, BuOH, DMSOそれにABAでは見られず、エタノール特異的であると考えられる。タバコのADH欠損変異株がエタノール抵抗性を示すという報告があることから、gek1変異はADHの活性が上昇した変異ではないかと予想し、ADHのmRNA量およびADHの活性を調べたが、野生株との顕著な差違は認められなかった。一方、シロイヌナズナのadh変異株との交配実験や、ADH阻害剤を用いた実験から、gek1変異株の表現型はADHに依存していることが判明した。以上の結果からGEK1はacetaldehydeの分解に関わっていると考えられる。GEK1遺伝子の機能を詳しく調べるためにマッピングにより遺伝子の同定を行った。GEK1遺伝子は新規の遺伝子で、予想される産物には機能が予測できるようなモチーフは存在しなかった。相同性検索の結果、興味深いことに、GEK1類似遺伝子は、古細菌と植物しか持っていないことが示された。エタノール発酵の中でのGEK1の役割と、この遺伝子が古細菌と植物にのみ保存された意義について考察したい。

3aL08

シロイヌナズナgalactinol synthase遺伝子群の環境ストレス条件での発現および機能解析

太治輝昭[1,2]，大住千栄子[3]，関原明[1]，井内聖[1]，篠崎和子[4]，篠崎一雄[1,2]（[1]理研・植物分子，[2]筑波大・生物科学，[3]味の素・中央研，[4]農水省・国際農研・生物資源）

raffinose family oligosaccharides, RFOは種子の乾燥過程に蓄積することから、種子の乾燥過程に適合溶質として機能することが示唆されるが、植物体におけるRFOと水ストレス耐性の関係は不明である。

植物体に水ストレスを与えたところ、galactinol, raffinoseの蓄積が認められ、植物体の乾燥耐性にもRFOが関与することが示唆された。そこでRFO合成の鍵酵素であるgalantine synthase遺伝子、*AtGolS*をシロイヌナズナより同定し、3種の水ストレス応答性遺伝子、*AtGolS ,2,3* を単離した。次にgalactinol synthase遺伝子の個体レベルでの機能を調べるために、*AtGolS* 過剰発現植物を作成した。得られたトランスジェニック植物のうち、*AtGolS2* を導入した植物が野生型の植物に対して非常に高い発現量、およびgalactinol, raffinose含量を示した。そこで、野生型と*AtGolS2*過剰発現植物を乾燥耐性試験した結果、野生型に対して、*AtGolS2* 過剰発現植物は顕著に乾燥耐性が向上していた。また野生型と*AtGolS2*過剰発現植物を用いてマイクロアレイ解析を行ったところ、有意に発現量に差のある遺伝子が存在せず、galactinol, raffinoseがシグナル伝達分子としてではなく、適合溶質として機能し、植物に乾燥耐性を付与することが示唆された。現在*AtGolS*遺伝子の組織別での発現を解析しておりそれについても報告する。

3aL09

ミズワラビの栄養葉に多量に存在する17-kDa蛋白の性質

井上弘[1]，山口真弘[1]，蒲池浩之[1]，浅水哲也[2]（[1]富山大・理，[2]富山県薬事研）

シダ植物の一種であるミズワラビは，栽培時にポリ袋で覆うなどして高湿度条件に保たれているときは，幅広い栄養葉を維持する傾向にあるが，乾燥状態になると細い胞子葉が多くなる。これら2つの状態の葉の蛋白質をSDS-PAGEで比較すると，17-kDa蛋白が栄養葉で多いことがわかった。栄養葉は非常に水分含量が高い状態で生存しているので，この17-kDa蛋白は，水分が多いときの細胞構造を安定化するのに関係している可能性が予想できる。

この 17-kDa 蛋白の性質・機能を明らかにすることを最終目標とする研究の最初のステップとして，今回，この蛋白のアミノ酸配列を明らかにすることを目的とする研究を行った。

ミズワラビの栄養葉の水溶性蛋白画分を，硫安分画，ゲル濾過HPLC，逆相HPLCで完全に精製した。この蛋白質の等電点は6.6であった。それをV8プロテアーゼで断片化したものを，島津PPSQ-23プロテインシーケンサでN末端アミノ酸配列を分析した。得られた情報をもとに，PCRで，全アミノ酸配列の解析を目指している。現在までのところ，全アミノ酸配列のうち，N末端の92アミノ酸の配列が明らかになった。N末端はメチオニンではないので，この蛋白質はオルガネラに局在するものであることが窺われる。また，遺伝子データベースによる検索では，これと相同性のあるものは出ないので，新しい蛋白質である可能性が高い。

3aL10

Synechocystis sp. PCC6803・slr1588 欠損株の性質

平野昌行[1]，岡田克彦[1]，宮治真紀子[1]，坂庭真悟[1]，都筑幹夫[1]（[1]東京薬科大・生命科学）

Synechocystis sp. PCC6803 は水ストレスに対して、K^+ の取込み、適合溶質（主にグルコシルグリセロール）の細胞内蓄積等の増加が知られている。今回、高浸透圧応答の遺伝子の発現調節を調べるために、slr1588 欠損株を作製した。slr1588 は二成分制御系の resonse regulator と相同性の高い ORF であり、二成分制御系は*Synechocystis* PCC6803 には数十存在する。slr1588 欠損株が高浸透圧に感受性を示したことから、slr1588 は高浸透圧応答に関わる response regulator であると推測される。高浸透圧条件はNaCl またはソルビトールを培地に添加することで与えた。

NaCl を用いた高浸透圧条件（- 1 M）下では、wild type と欠損株は同様の成長曲線を示した。ソルビトールを用いた高浸透圧条件（- 0.5 M）下では、wild type は培地中のソルビトール濃度 0.5 M まで増殖速度に違いが見られないが、欠損株はソルビトール 0.5 M において増殖を示さなかった。しかし、欠損株培養液に NaCl を 0.5 M ソルビトールと同時に添加することによって、増殖を示した。

slr1588　は高浸透圧に対する適応メカニズムの一つを調節していて、NaCl によっても影響を受けることが明らかになった。

3aL11

酢酸添加によるクラミドモナスの高CO_2誘導性タンパク質H43の誘導調節

渡辺理子[1]，福澤秀哉[2]，白岩善博[3]（[1]筑波大院・生命環境，[2]京大院・生命，[3]筑波大・生物）

クラミドモナスは高CO_2条件下でペリプラズムタンパク質H43を誘導する。今回，このH43タンパク質が低CO_2条件下で酢酸の添加によっても誘導されることを確認した。したがって，[1,(2)]^{14}C-Acetateを基質として与え，細胞による酢酸の取込み，代謝およびCO_2生成パターンとH43の誘導との関連について解析した。H43の誘導は，暗条件下および弱光条件下で見られたが，強光条件下では見られなかった。この時，細胞画分に蓄積された溶存無機炭素量は，強光条件および暗条件共に46時間後に最大となった。また，暗条件下における細胞懸濁液からの$^{14}CO_2$放出量は明条件下におけるそれの約3倍に達した。また，$^{14}CO_2$の放出速度と呼吸速度の変化パターンはよく一致した。呼吸変異株*dum*-1においては呼吸活性の増大は見られずH43の誘導は殆ど見られなかった。また，*dum*-1では3% CO_2，強光条件下でH43を誘導した。以上の結果より，酢酸分子そのものでは無く，酢酸代謝によって生じるCO_2がH43の誘導に関与していることが証明された。また，酢酸存在下では強光条件がH43の誘導を抑制していることも示された。

3aL12

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC 7942の転写因子SmtBによる遺伝子発現調節機構の解析

若松美紀[1]，森田勇人[2]，林秀則[1]（[1]愛媛大院・理工・物質理，[2]愛媛大学遺伝子実験施設）

ラン藻*Synechococcus* sp. PCC 7942の転写因子SmtBは、メタロチオネイン様タンパク質SmtAをコードする*smtA*遺伝子の転写を抑制するリプレッサーである。SmtBが亜鉛イオンと結合すると、*smtA*遺伝子のオペレーター/プロモーター領域から解離し、*smtA*遺伝子の転写が誘導される。このオペレーター/プロモーター領域には、SmtBの認識する自己相補的配列が2箇所存在し、それぞれ6塩基からなるリンカー配列を含んでいる。本研究では、SmtBの塩基配列認識機構を解明することを目的として、それぞれの自己相補的配列を含む塩基配列（Bbs1 および Bbs2）に対するSmtBの親和性および形成されるタンパク質-DNA複合体の構造の相違をgel retardation assayにより解析した。その結果、Bbs1とBbs2では、SmtBと形成されるタンパク質-DNA複合体の種類に相違がみられ、この相違はそれぞれのリンカー配列の相違と、直列反復配列の有無が関係していることを明らかにした。また、双方の配列に対するタンパク質 - DNA複合体の形成は生理条件下と同等の4 μMの亜鉛イオン存在下で阻害されることを示した。

3aL13

Ornithine aminotransferase 遺伝子の土壌細菌（*Bacillus coagulans*）からのクローニングと植物の持つホモログの解析

Vijay Yadav[1]，Mohamed Koronfel[2]，庄野真理子[2]（[1]ラジャスタン農大，[2]国際農研・沖縄）

耐塩性土壌細菌（*Bacillus coagulans*）は6% NaClを含むLB培地上で生育が可能で、細胞内に多量のプロリンを蓄積することが分かっている。

そこで *B. coagulans* のゲノムライブラリーを ZAP express vectorと、*E. coli* XLOLRを用いて4% NaClを含むLB培地上で選抜した。選抜したクローンは3.8 kbのインサートを含んでいた。この形質転換耐塩性XLOLRは細胞内プロリン量がコントロールと比較して増加していた。また、このプラスミドを*E. coli* DH5 α に再導入したところ形質転換体はやはりNaCl耐性を示した。

クローニングした DNA 断片をシークエンスしたところ、3個のORFを含んでおり、その内2個のORFはornithine aminotransferase遺伝子と高いホモロジーを示した。Ornithine aminotransferaseはオルニチンからグルタミン酸又はプロリンを合成する生合成経路に関わる酵素として知られている。形質転換体のプロリン量はコントロールと比較して増加していることが確認された。

現在ornithine aminotransferase遺伝子の植物の持つホモログの発現解析を行っている。

3aO01

シロイヌナズナの内在性RNA依存RNA合成酵素の解析

村井祐介[1]，福原敏行[1]（[1]東京農工大・農）

近年、形質転換植物において外来遺伝子が期待通り発現しないという現象が発見され、ジーンサイレンシングと呼ばれている。ジーンサイレンシングには内在性RNA依存RNA合成酵素（RdRp）が必要であることが知られており、相同性検索からシロイヌナズナには6つのRdRp homologueがあることが分かった。その内の1つをRDP1と名づけ、以後の解析を行った。

RT-PCR によって RDP1cDNA をクローニングし、mRNAの発現を確認した。パターンの違う複数のcDNAクローンが得られたことからRDP1はオルタナティブスプライシングを起こしていると考えられた。次にPCRによりゲノムDNAからRDP1遺伝子をクローニングし35Sプロモーターと結合したコンストラクトを作製した。アグロバクテリウムによってこれをシロイヌナズナ植物体に導入し、過剰発現株を4系統作製した。RDP1過剰発現株と野性株からcrude extractを調製し、RdRp活性測定を行ったところ、RDP1は20nt程度のsmall RNAを合成することができるという結果が得られた。ノーザン解析によって、RDP1mRNAの発現は植物組織において根で最も高いことが分かった。またCMV感染個体で発現が上昇することを確認した。今後はRDP1のジーンサイレンシングやウィルス防御機構における機能をさらに解析していきたい。

3aO02

リンドウ由来の翻訳阻害タンパク質遺伝子(GtTIP)の単離とその抗ウイルス活性

木場章範[1,2]，西原昌宏[1]，中塚貴司[1]，塚谷延枝[1]，鈴木一実[1]，山村三郎[1]（[1]高知大・農，[2]（財）岩手生工研）

岩手県のリンドウ栽培においてはウイルス病が重要病害の一つとなっており、ウイルス病抵抗性品種母本の作出が求められている。現在、抗ウイルス活性を示すタンパク質にはRNaseやリボゾーム不活化タンパク質等が知られている。今回、動物細胞で報告されている翻訳阻害タンパク質PSP（過塩素酸可溶タンパク質）のホモログ(GtTIP)をリンドウからRT-PCRにより単離し、解析を行った。GtTIPは188アミノ酸残基からなるタンパク質をコードしており、アミノ酸レベルでヒトおよびラットのPSPと53%の相同性を示し、共通保存配列（UPF0076）を有していた。サザン解析の結果、GtTIP はゲノム内に3コピー以上存在した。また、ノザン解析の結果、GtTIPの発現は茎、根、葉の順に高かった。大腸菌で発現、精製したGtTIP（rGtTIP）は RNase 活性、転写阻害活性は示さないが、顕著な翻訳阻害活性を示した。さらに、rGtTIPをトマトモザイクウイルス（ToMV）と混合し、タバコ（サムソンNN）に接種したところrGtTIPの濃度依存的に壊死斑の形成数が減少した。GtTIP をタバコ（SR1）に導入したところToMVの病徴発現／全身への移行が遅延される複数の形質転換体が得られた。以上の結果からGtTIPは抗ウイルス活性を有し、ウイルス病抵抗性植物の作出に有用な遺伝子であることが示唆された。

3aO03

BY-2キチナーゼ（TBC-I1）遺伝子のクローニング

新屋友規[1]，斉藤美佳子[1]，松岡英明[1]（[1]東京農工大・工・生命工）

タバコ培養細胞BY-2は、植物病原菌*Alternaria alternata*の培養上清を加えることにより、細胞内外に複数のキチナーゼアイソザイムを誘導する。これまでに、細胞内のBY-2キチナーゼ（TBC-I1,2,3）の内、TBC-I1を単離し、N末端アミノ酸配列を22残基決定しており、この配列は、*Arabidopsis thaliana*由来2-cys peroxiredoxinと高い相同性を示すことを明らかにしている。

そこで本研究では、この配列を元にプライマーをデザインしRT-PCR、nested PCR法によりTBC-I1cDNAのクローニングを行った。その結果、723bpのcDNA配列を決定することができ、その内部555bpの配列はN末端アミノ酸配列を含んでいたため、ORFの一部と推定された。また、相同性検索の結果、全長にわたって*A. thaliana*、*Phaseolus vulgaris*、*Spinacia oleracea*由来の2-cys peroxiredoxinとそれぞれ80%以上の高い相同性を示し、既知のキチナーゼとの相同性は見られなかった。現在、5'RACE法により、TBC-I1cDNAの配列が未知な5'側のシークエンス解析を行っている。

3aO04

タバコ熱ショックタンパク質90（HSP90）は過敏感細胞死に先行してその量が減少する

安藤裕子[1]，瀬尾茂美[1]，光原一朗[1,2]，大橋祐子[1,2]（[1]JST・CREST，[2]農業生物資源研・分子遺伝部）

感染に伴う過敏感反応（HR）の機構を調べる中で、我々は葉緑体に局在するATP依存性プロテアーゼNtFtsHがそのmRNAおよびタンパク質レベルでタバコモザイクウイルス（TMV）による過敏感細胞死に先行して著しく減少し、このことが葉緑体の機能低下、ひいてはHRを加速することを明らかにした（Seo et al. 2000）。今回、我々は*NtFtsH*と同様に過敏感細胞死に先だってその転写産物が減少する遺伝子として、熱ショックタンパク質90（Hsp90）ファミリー遺伝子のタバコホモログ（*DS1*）を単離した。Hsp90は高温などのストレス環境下で分子シャペロンとして働くのみならず、平常の環境下でも相当量蓄積し、種々のタンパク質と結合してその機能調節を行っているとされているが、植物での機能についての知見はほとんどない。*DS1*は20-25℃で構成的に発現しており、45℃、1時間の処理で若干発現誘導を受けた。一方、*DS1*と相同性を有するいくつかのタバコ*Hsp90*ホモログを単離しその特性を調べたところ、構成的発現はしていないが、高温で強く誘導されるものが含まれていた。*DS1*とは異なり、この遺伝子の転写産物はTMV感染による壊死斑形成の過程で変動しなかった。現在、DS1のHRへの関与をより詳細に調べるためにアンチセンス遺伝子などを導入した組換えタバコを作成し解析を行っている。

3aO05

根こぶ病菌の感染初期反応の解析-PAL活性と細胞内Ca^{2+}の役割-

高橋秀行[1]，瀧田和男[1]，三ツ井敏明[1]，堀秀隆[1]（[1]新潟大院・自）

アブラナ科植物に寄生する根こぶ病菌は土壌伝染性で、連作地域では重大な被害が発生している。本菌に対する抵抗性反応の解明を目的に、抵抗性品種のカブ根から誘導したカルスを用い抵抗性反応の指標となるPAL活性と、抵抗性反応の誘導シグナルに深く関与すると考えられるカルシウム（Ca）量の変動を調査した。休眠胞子をカルスに与えると20時間目にPAL活性が一過的に上昇し、抵抗性にPALが関与していることが示唆された。更に、上昇に先立ち細胞内Ca量が増加し、PAL活性の上昇に対するCa量の関与が示された。Caフリー培地で生育したカルスでは胞子の接種でPAL活性は上昇しないが、外部からCaを与えると上昇が回復した。更にEGTA、verapamilによって細胞外Ca^{2+}の取り込みを阻害するとPAL活性の上昇が著しく阻害された。しかし細胞内Ca^{2+}ストアに関与するCa^{2+}チャネルの阻害剤やPLC阻害剤では阻害はみられなかった。これらの結果から、本菌によって引き起こされるPALの活性化には細胞外のCa^{2+}の取り込みが必須で、細胞内Ca^{2+}ストアは関与していないと考えられた。更にW7処理によっても活性上昇の顕著な阻害がみられ、PAL活性上昇にカルモジュリンの関与が示唆された。

3aO06

活性酸素消去系酵素遺伝子を導入した形質転換ナスにおけるキュウリモザイクウイルスに対する反応

竹本哲行[1]，小坂能尚[1]，森田重人[1,2]，増村威宏[1,2]，田中國介[1,2]（[1]京都府農資センター，[2]京都府大・農・生資化）

植物ではウイルスなど病原体感染時の初期応答に際し、活性酸素種が細胞死やシグナル伝達など植物体の防御反応において重要な役割を担っていると考えられている。O_2^-やH_2O_2などの活性酸素種と病害に対する反応との関係について明らかにするために、活性酸素消去系酵素である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）の遺伝子をそれぞれ導入したナスの形質転換体において、キュウリモザイクウイルス（CMV）に対する応答について解析した。

各形質転換体からそれぞれ導入遺伝子の過剰発現系統と発現抑制系統とを選抜し、T_1個体を実験に供試した。今回用いたCMV-Y系統は非形質転換ナスにおいて、接種葉に過敏感細胞死とみられるえそ斑点を生じ、低い頻度で全身感染する。これを上記形質転換ナスに接種して、接種葉におけるえそ斑点とその上位葉での病徴発現を調べた。その結果、SOD過剰発現系統ではえそ斑点が減少して全身感染が助長される傾向にあったのに対し、SOD発現抑制系統ではえそ斑点数が増加し、全身感染は抑制される傾向が認められた。一方、APX発現抑制系統ではえそ斑点数が増加したものの、ウイルスの上位葉への移行は促進される傾向が認められた。

以上の結果から、O_2^-がウイルスに対する防御応答シグナルとして強く関与していることが示唆された。

3aO07

翻訳開始因子遺伝子の変異によるキュウリモザイクウイルス移行タンパク質の翻訳阻害

錦織雅樹[1]，吉井基泰[1]，冨田賀代[1]，小塚玲子[1]，内藤哲[1]，石川雅之[1]（[1]北大・院農）

植物ウイルスの増殖に関与する宿主因子を遺伝学的に同定するため、キュウリモザイクウイルス（CMV）の植物体内での増殖が遅れる二種類のシロイヌナズナ変異株を単離した。これら変異株のプロトプラストでは、CMV RNAは正常に複製し、ウイルス複製タンパク質、外被タンパク質（CP）もほぼ正常に蓄積したが、細胞間移行タンパク質（MP）の蓄積のみが特異的に減少した。ポジショナルクローニングの結果、それぞれの原因遺伝子は翻訳開始因子でmRNAの5'末端のキャップ構造に集合するeIF4Fの構成要素であるeIF4EとeIF4Gをコードすることが明らかになった。この変異株特異的なMPの蓄積低下が、翻訳効率低下によるものかMPの不安定化によるものかを調べるため、レポーター遺伝子luc+にMPあるいはCPの5'非翻訳領域（UTR）と3'UTRを種々の組み合わせで連結したmRNAを作製し、野生型株および変異株のプロトプラストに導入し、luc活性から翻訳効率を測定した。その結果、mRNAがより強固な二次構造をとると予測されるMP 5'UTRをもつとき、およびMP, CPの3'UTRをもつときに翻訳効率が変異により低下すること、この5'UTRと3'UTRの効果は相加的に働くことが明らかになった。つまり、MPの翻訳はeIF4Fに大きく依存しており、eIFiso4Fのみでは効率よく起こらない可能性が示唆された。

3aO08

動物細胞を用いたアグロバクテリウム*6b*遺伝子の機能解析

山根由裕[1]，北倉左恵子[1]，寺倉伸治[1]，藤田知道[2]，畦地洋子[1]，上野宜久[1]，我彦広悦[3]，石崎寛治[4]，町田泰則[1]（[1]名大院・理，[2]基生研，[3]秋田県大・生工研，[4]愛知県がんセンター研究所）

*Agrobacterium tumefaciens*のT-DNA上に存在する*6b*遺伝子は、植物体にクラウンゴール腫瘍を形成する腫瘍形成遺伝子である。6bタンパク質は、転写因子様タンパク質と相互作用し核に移行すること、転写活性化能を有することが当研究室において明らかにされている。このことから6bタンパク質は細胞増殖に関わる遺伝子の転写を活性化（あるいは不活性化）していると考えられる。しかしながら、この分子機構を説明できるような6bタンパク質の相互作用因子はこれまでに見つかっていない。そこで、これらの因子の探索をより幅広く行う目的で、動物細胞を用いて*6b*遺伝子の機能解析を開始した。その第一段階として、6bタンパク質の転写活性化能について動物細胞でも同様の効果があるかどうかについて調べた。転写活性化能はトランジェントな発現系において、酵母のGAL4転写因子のDNA結合ドメインと6bの融合タンパク質がルシフェラーゼレポーター遺伝子の発現量に与える影響より測定した。その結果、6b融合タンパク質は動物細胞においても植物細胞と同程度の転写活性化能を有すること、6bタンパク質のC末側に存在する酸性アミノ酸領域が転写活性化能に必須であることが分かった。この結果は、植物細胞および酵母細胞における結果と一致するもので、転写活性化因子としての6bの機能は真核細胞間で広く保存されていることを示している。

3aO09

イネの低リン環境に応答する遺伝子のマイクロアレイによる解析

和崎淳[1]，米谷竜馬[1]，黒田幸浩[1]，信濃卓郎[1]，矢崎潤史[2]，藤井文子[2]，真保佳納子[2]，山本公子[2]，坂田克巳[2]，佐々木卓治[2]，岸本直己[2]，菊池尚志[2]，大崎満[1]
([1]北大院・農，[2]農業生物資源研究所)

植物は低リン環境に応答する機構を持つが、その詳細は明らかとなっていない。本研究は網羅的に遺伝子の発現を調査できるシステムであるcDNAマイクロアレイを用いてイネ根における低リン環境に応答する遺伝子の発現の変化を調査することを目的として実施した。水耕栽培によってリン処理（+P, -P）を施したイネの根から単離した全RNAを試料としてマイクロアレイによる遺伝子発現の解析を実施した。長期（9日間）-P処理の方が短期（1日間）-P処理よりも、+P処理に対して発現量の変動した遺伝子が多かった。短期-P処理で発現が増加・減少した遺伝子のうち、それぞれ80%・41%は長期-P処理でも増加・減少していた。長期-P処理によって最も発現量の増加した遺伝子は、機能未知の遺伝子OsPLI1であった。-P処理によって発現量の増加した遺伝子には、高親和性リン酸トランスポーターをはじめとした機能を推定することのできる遺伝子が60%程度含まれていた。

3aO10

マイクロアレイにより単離されたリン欠乏イネの根で特異的に誘導される新規遺伝子OsPI1の機能解析

信濃卓郎[1]，米谷竜馬[1]，和崎淳[1]，大崎満[1]（[1]北大院・農）

水耕栽培法を用いて低リンストレスをかけたイネ（品種みちこがね）から得られたRNAとストレスのかかっていない個体から得られたRNAを用いて、イネESTクローンを対象としたマイクロアレイ法によってリン酸ストレスに誘導されるクローンを検索した。リン酸トランスポーターなどの誘導がリン欠乏条件下で認められたほかに、リン欠乏条件下においてのみ著しく発現が誘導される機能未知のESTクローンを得、これをOsPI1と命名した。さらにこの発現解析をより正確に行うために定量的RT PCR法を用いて確認を行った。OsPI1は分子量がおよそ550-600残基と推定され、根で強く発現していた。現在その機能について検討を行っている。

発 表 者 名 簿

— A —

Adamska, Iwona S5-2
Agrawal, Ganesh Kumar 3aG02
Agre, Peter 3aL03
Alexander, Lyukevich 2pN09
Allakhverdiev, Suleyman I.1aB10
Allakverdiev, Suleyman S5-6
Anastasios, Melis 1pK14
Anderca, Marinela 1pI09
Anton, Stekelenburg 1aJ10
Aro, Eva-Mari S5-5
Awano, Tatsuya 1pG06

— B —

Babiychuk, Elena 1pB17
Badger, Murray R. 1pB08
白靜熹 2pF06
Bakker, Evert 1pJ05
〃 1pJ06
Bald, Dirk 1aA12
Barkan, Alice 3aI05
Bazin, Ingrid 1pJ12
Belcher, Susan 3aI05
Belles-Boix, Enric 1pB17
Bena, C 1aB07
Bishop, Gerard 2pH10
Bishop, Gerard J. 2pH08
Brown, Ryan S3-6

— C —

Carninci, Piero S1-04
〃 3aC11
Cheng, Wan-Hsing 1aH05
趙白皓 2pJ02
Choi,, Sang-Bong 3aI11
Chory, Joanne S6-7
Chua, Nam-Hai 1aG06
Cline, Kenneth 3aI04
Conroy, Jann 1pB11
Cungui, Mao 2aI13

— D —

Das, Avijit 3aD12
Davies, John P. 2pK02
Davis, Ronald W. 3aC11
Day, Robert 2aK05
Day, David A. 1pO13
Devi, Saddikuti Rama 1pG17
Ding, Xiaodong 3aL03
Dmitry A., Los 2pN09

— E —

Eckelman, Brendan 1pJ05
Ecker, Joseph R. 1pH13
〃 3aC11
Edwards, G.E. 1aA10
Egawa, Y. 1pO01
Ellis, Brian 3aJ02
Emmanuel, Delhaize 1aJ10

— F —

F.M. ムスタファモハメド 1pI12
Ferjani, Ali 1aL03
Ferris,, P. 1aD03
Fletcher, John S S2-1
Forestier, Cyrille 1pJ12
Fujihara, Shinsuke 1aH09
Fujii, Ritsuko 1aC06
Furbank, Robert T 2pJ01
Furuichi, Kentaro 1aC06
Furuichi, Takuya 1pI09
Furuta, Yuzo 1pG06

— G —

Gallagher, Thomas S3-6
Gasser, Charles S. S3-6
Ghada, Ajlani 2pC08
Gilmore, Adam 1aB07
Gombos, Zoltan 1pB15
〃 2pA09
〃 2pC08
Goodenough,, U.W. 1aD03
Goto, Koji 2pF05
Gupta, Dharmendra 1pD18

— H —

Hagemann, Martin 1aL03
Hasanova, Gulnara I. 2pB05
Hayashi, Takahisa 1pG06
〃 2aG01
〃 2aG08
Hill, Theresa S3-6
Hodges, Michael 1pC06
Huang, Jianwei S2-2

— I —

Ichikawa, Takanari 1pK06
Ihara, Yuri 2aG01
Imamura, Aya 1pK13
Incharoensakdi, Aran 1aL07
Ino, Takeshi 1aH08
Inze, Dirk 1pB17
Irina, Bodrova 2pN09
Irina, Piven 2pN09
ISHII, Tadashi 2aG12
Ishikawa, Takahiro 2aL13
Ittarat, Wanwipa 2pL04
Ivanov, Boris N. 1aA10
〃 1pA06
Iwabuchi, Masaki 2pF05

— J —

Jackson, Stephen 3aG01
John C., Cushman 1pB16

— K —

KAKEGAWA, Koichi 2aG12
Kainou, Tomohiro 2pF05
Kato, Hisashi 1aH08
〃 1aH09
Khorobrykh, A.A. 1pA06
Khorobrykh, S.A. 1pA06
Kiba, Takatoshi 1pK12
Kim, Gyung-Tae 2aF14
Kim,, Dong-Wook 3aI11
Kitagawa, Yoshichika 3aL03
Klimov, V.V. 1pA06
Kobayashi, Kazuhiko 1pB11
Kobayashi, Masatomo 1pK06
Koizumi, Nozomu 1aO09
Kojima, Kouji 1pO06
Komatsu, Keishi S3-3
Koronfel, Mohamed 3aL13
Kotake, Toshihisa 2pF05
Koyama, Yasushi 1aC06
Kozono, David 3aL03
Kuroda, Nozomi 2pF05
Kushnir, Sergei 1pB17
Kuzoff, Robert S3-6
Kyozuka, Junko S3-3

— L —

Lambers,, Hans 1pO13
Larkum, Tony 1aB07
Laszlo, Mustardy 2pC08
Le Thi Phuong, Hoa 1pC14
李鐘煥 2pF06
Levine, Howard 1aO01
Levine, Lanfang 1aO01
Li, Zhao 1pK06
Lienhard, Susanne 2aB13
Lina, Obeid 2aI13
劉希珍 2aG06
李一勤 2aG06

— M —

M. Christie, John 3aK12
Madigan,, M. T. 1aC04
Maekawa, Masahiko S3-3
MaiThu, Ha 1pC16
Malik Ashiq, Rabbni S1-10
Marin, Kay 1aL03
Martinoia, Enrico 1aJ06
Maser, Pascal 1pJ05
Matsui, Minami 1pK06
Matsumoto, Hideaki 2aN08
Matthew, Morell 2aJ05
McAbee, Jessica S3-6
Meister, Robert S3-6
Mitsuishi, Yasushi 1pG06
Mizuno, Koichi 1pG06
Mizuno, Takeshi 1pK11
〃 1pK12
〃 1pK13
Morris, Karl 3aG01
Mullineaux, Philip M. 2pL07
Murakami, Toshifumi 1aH09
Murata, Norio 1aL03
Mustardy, Laszlo 1aL03
Muto, Shoshi 1pI09

— N —

Nakazawa, Miki 1pK06

Nanba, Masamichi 1pK03
Narangajavana, Jarunya 2pJ03
Ngampanya, Budsaraporn 2pJ03
Nomura, Takahito 2pH10
Nozwa, Groria 1pL02
Nuntagij, Achara 1pC17

— O —

OKADA, Kiyotaka 2aG12
Oelmueller, Ralf 1aI01
Ohto, Masaaki 2pF05
Okamoto, Nobuhiro S3-3
Okita,, Thomas W. 3aI11
Omata, Tatsuo 1pB08
Osborne, Erin 3aI05
Otegui, Marisa 2aJ08

— P —

Pakrasi, Himadri 1aK10
Pakrasi, Maitrayee 1aK10
Papina, M 1aB07
Park, Yong Woo 2aG08
Parvez, Mohammad M. 1pK07
〃 1pK09
Paszkowski, Jerzy 2aB13
Pei,, Zhen-Ming 1pJ01
Peter R., Ryan 1aJ10
Pillai, M.Arumugam 1pG04
Pinontoan, Reinhard 1pI09
Poethig, Scott S3-1
Price, G. Dean 1pB07
〃 1pB08
Probst, Aline 2aB13
表賢珍 1aG01

— R —

R. Briggs, Winslow 3aK12
Reid, James 2pH10
Robert B., Day 2aK06
Rochaix, Jean-David 2pA08
Rondonuwu, Ferdy 1aC06
Rondonuwu, Ferdy S. 1aC09

— S —

SATO, Shigeru 2aG12
Sadequr, Rahman 2aJ05
Sakai, Fukumi 2aG01
Sano, Hiroshi 1aO09
Sasaki, Takayuki 2aN08
Sata, Noriko 1aH08
Sawa, Yoshihiro 2aL13
Schneitz, Kay S3-6
Schroeder, Julian 1pJ05
Schroeder,, Julian I. 1pJ01
Scofield, Graham N 2pJ01
Seki, Motoaki 1pK06
Semiarti, Endang 2aF12
〃 2aF13
Seneweera, Saman 1pB11
Setif, Pierre 1aC02
Sheen, Jen 1aH05
Sherameti, Irena 1aI01
Shi, W. M. 1pO01
Shi, Weiming 1aL11
Shibata, Hitoshi 2aL13
Shigeoka, Shigeru 2aL13
Shimamoto, Ko S3-3
Shimizu, Takayuki 1aC06
Shinozaki, Kazuo 1pK06
Shono, M. 1pO01
Sinsuwongwat, Suphawat 1pC17
Skinner, Debra S3-6
Slooten, Luit 1pB17
Smith, Frank W 1aJ03
Sonoike, Kintake S5-4
Staehelin, Andrew 2aJ08
Steward, Nicolas 2aO01
Sugiura, Miwa 1aJ04
Sulpice, Ronan 1aL03
Sustiprijatno 1aJ04
Suzuki, K. 1pO01
Suzuki, Michiru 1pO06
Suzuki, Tomomi 1pK11

— T —

TOMITA, Keiji 2aG12
TSUGEKI, Ryuji 2aG12
Takahashi, Masaaki 1aJ04
Takamatsu, A 1pO01
Takabe, T. 1pO01
Takeda, Takumi 1pG06
Takishita, Fumitaka 3aG01
Tanaka, Yuji 1pK03
Tanaka, Yukitoshi 1aH09
Tariq, Muhammad 2aB13
Terada, Kazunori 1pK11
Theologis, Athanasios 3aC11
Tynes, Georgiana 1aO01

— U —

Uchida, Makoto 3aG01
Ueda, A 1pO01
Ughy, Bettina 2pC08
Uppalapati, Rao S. S4-3

— V —

Van Montagu, Marc 1pB17
van Woesik, Rob 1aB07
Vladislav, Zinchenko 2pN09
Vo Thi, Thuong Lan 2aL02

— W —

Waditee, Rungaroon 1aL07
〃 1aL08
〃 1aL09
Wang, Kevin L.-C. 1pH13
Wang, Zhi-Yong S6-7
Wang,, Changlin 3aI11
Watanabe, Yasutaka 1aC06
Weinzierl, Gerit 1aI01
Whitfeld, Paul 2pJ01
Wu,, Yujia 3aI11
Wutipraditkul, Nuchanat 1aL08

— X —

Xiangjia, Min 1aH03
Yadav, Vijay 3aL13

— Y —

Yamada, Hisami 1pK11
Yamaguchi, Yube 1aO09
Yamamoto, Yoko 2aN08
Yamamura, Shosuke 1aH08
〃 1aH09
Yamashino, Takafumi 1pK11
Yamazaki, Ken-ichi 1pK03
Yamazaki, Toshimasa 1pK13
Yap, Yun-Kiam 1aO09
Yokota, Takao 2pH10
Yoshioka, Hirofumi S4-2

— Z —

Zhang, Jian-Ping 1aC06
〃 1aC09
周薇 2aG06

— あ —

愛知真木子 1pF01
〃 1pF02
〃 2aC12
青木亜祐美 3aL05
青木健治 1aL12
青木考 1pH15
〃 2pJ09
青木俊夫 1pC09
〃 1pI05
〃 3aJ01
青木直大 2pJ01
青野光子 S1-13
〃 2pL01
〃 2pL02
〃 2pL07
青山卓史 S9-5
青山正明 2aL14
赤井新平 2pA09
〃 2pC08
明石欣也 1pL11
明石智義 1pI05
〃 3aJ01
赤間一仁 1aI06
秋廣高志 2aJ06
秋光和也 S4-1
秋本千春 2aK02
〃 3aC08
秋山顕治 S1-04
〃 S1-20
〃 3aC11
秋山高 1pG04
〃 2pG04
秋山毅 1aK08
秋山満知子 2pA04
阿久津秀雄 1aC08
揚妻正和 2pH02
浅井尚子 2pL07
朝倉剛 2aD12
朝倉由香里 3aI05
浅田浩二 1aA10
〃 1pB17
〃 2aL12
〃 3aB07
浅田哲弘 1pG15
浅妻悟 2aD11
〃 3aI01
浅野敬幸 2aD09
浅野智哉 1pF09

〃 2aB11
淺野義人 1aI04
旭正 3aF01
朝比奈雅志 2aH03
浅見忠男 S6-6
〃 1aH01
〃 2aH01
〃 2aH02
〃 2pH04
〃 2pH05
〃 2pH06
浅見忠夫 1pK10
浅水恵理香 1aD01
〃 1aD06
〃 1pC16
〃 2aB06
〃 2aB07
〃 3aB03
〃 3aC04
〃 3aK12
浅水哲也 3aL09
芦苅基行 S9-6
〃 1pK17
〃 2pH02
〃 3aG04
芦田裕之 2aA15
芦原坦 3aJ11
〃 3aJ12
東順一 2aJ07
東哲司 1aK01
〃 1aK02
〃 1pL03
畦地洋子 3aO08
新真由美 1pO02
安孫子和樹 2pA02
安彦友美 1pC06
〃 2aC01
安彦真文 1aD06
阿部淳 1aD01
阿部俊之助 1pI12
阿部竜也 2aF04
安部浩 1pH09
安部洋 S1-10
〃 1aH04
阿部美紀子 1pC11
阿部光知 S3-2
〃 3aG03
阿部充宏 2pG05
阿部美保 1aC05
阿部善子 2aA06
尼子克己 1pI03
天野豊己 2pL08
綾部真一 1pC09
〃 1pI05
〃 3aJ01
新井祐子 2aA07
荒川修 3aB04
荒川圭太 1pO12
〃 2aO11
〃 2aO13
荒川貴博 3aC11
荒木悦子 1aL09
荒木智史 2aF13
〃 3aD07
荒木崇 S3-2
〃 A01
〃 2pF06
荒木貴裕 2pF07
荒木裕子 1pF10
荒関淳 1aG09
荒田博行 2pB06
有賀洋子 1aA03
〃 1aA04
有村慎一 1pF12
粟井光一郎 2aI05
〃 2aI06
粟津原元子 S1-12
〃 2aJ02
安藤候平 3aG08
安藤裕子 3aO04

— い —

李銀禎 1aK08
〃 2aD08
井合宏道 1aK08
〃 2aD08
飯島憲章 1pI01
飯田滋 2aA08
飯田年以 1pH11
〃 2aI01
飯野盛利 1aO02
井内聖 1pH10
〃 3aL07
〃 3aL08
五十嵐恵 2pO09
池内雅彦 2aN01
池内昌彦 S10-2
〃 2pC09
〃 2pK07
〃 3aK06
池上勇 2pA01
〃 2pA02
池上啓一 1aG13
池田亮 2aC04
〃 2pJ03
池田真理子 3aL01
池田己喜子 1pJ08
池田陽子 2pO02
〃 2pO03
池畑正太郎 2pC07
井澤毅 1pD08
石井麻子 1pA13
〃 1pA17
石井忠 1pG09
〃 1pG10
〃 1pG11
〃 2aG02
〃 2aG03
石井善幸 3aC11
石浦正寛 S1-17
石川明苗 3aC13
石川敦司 3aF01
石川邦子 1pK11
石川幸奈 3aL05
石川孝博 1pB09
〃 1pB10
〃 2aL05
石川浩 1aL10
石川雅樹 3aD09
石川雅也 2aO05
〃 2aO06
石川雅之 S4-5
〃 3aO07
石黒澄衛 1aG11
石毛奈緒子 1pL16
石崎寛治 3aO08
石田さらみ 2pK06
石田順子 S1-4
〃 2pO04
〃 2pO05
〃 3aC11
石田宏幸 1pB03
〃 1pB04
〃 1pB05
石田守 2pO10
石塚道生 1pB14
石丸健 2pJ04
石本京子 1aD10
石山敬貴 3aI11
石綿愛子 3aG13
泉井桂 1pC12
〃 1pC13
〃 2aF07
〃 2pB07
〃 2pB09
〃 3aB08
〃 3aB09
泉智子 1pC13
泉田敦 3aB09
磯貝彰 S4-4
〃 1aD09
〃 1aD10
〃 2pO06
〃 2pO07
〃 2pO08
板倉学 1pC11
一井真比古 2pJ05
市川聡子 1pI17
市川尚斉 3aC13
〃 3aC14
市川裕章 2aA10
〃 2aB10
〃 2aB11
一瀬勇規 S4-3
〃 2pO02
〃 2pO03
市村博紀 1aA12
井手香 2aK08
伊藤愛里 1aO10
伊藤一敏 1aD06
伊藤香苗 2aO08
伊藤菊一 1pO14
伊藤紀美子 2aD11
伊藤邦浩 2pA05
〃 2pA09
伊藤光二 1pI02
伊藤繁 1aB07
〃 1aC01
〃 2pA02
〃 2pA05
〃 2pA09
〃 2pC08
井藤純 3aF05
伊藤純一 3aG04
伊藤貴司 1pC05
伊藤崇博 2aD02
伊藤卓也 S1-20
〃 1aF11
〃 1aH02
〃 1aH04

〃 2pF01
〃 3aC12
伊藤直子 1aO08
〃 2aK10
伊藤寿 2aJ01
伊藤博紀 S9-6
〃 1pK17
〃 2aH06
伊藤浩之 2aK09
伊藤正樹 3aD02
〃 3aD07
伊藤政知 1aC02
伊藤昌可 3aC11
伊藤美佳子 1aD02
〃 2aI03
伊藤百代 1pH05
伊藤康子 1aG10
伊藤裕介 1pK04
伊藤ユキ 2aK03
伊藤有紀 2aB05
伊藤佳央 3aJ03
伊藤（大橋）恭子 1aG05
稲垣言要 3aK07
稲垣麻由 1pJ07
稲垣善茂 S4-3
〃 2aA08
〃 2pO02
〃 2pO03
稲葉丈人 2pI04
〃 3aK02
稲葉昌美 1aK09
井上恵理 2pJ08
井上和仁 1aC03
〃 1aC07
井上晋一郎 2aO10
井上努 S9-4
井上弘 3aL09
井上雅裕 1pD18
井上雅好 3aF10
〃 3aF11
井上悠子 2aI09
射場厚 1aI03
〃 2aA02
〃 2aK14
〃 2pB06
〃 2pI03
猪原泉 2aO09
伊原大輔 1pA13
伊福健太郎 1pA09
〃 1pA12
井部宏和 2aD09
今井圭子 1pD03
今井剛 3aC05
今井博之 2aI12
〃 2aI13
今井亮三 2aO14
今泉貴登 3aK08
今泉隆次郎 1pC09
今泉（安楽）温子 1pC08
〃 2aB08
井村喜之 2aO04
入口延正 2aL12
岩井孝尚 1pK01
〃 2aK09
岩井宏暁 1pG09
〃 1pG10
〃 1pG11
岩井美穂 2aD04
岩川秀和 2aF12
〃 2aF13
岩城俊雄 2pC04
岩城雅代 1aC01
〃 2pA02
岩崎俊介 2pI01
〃 3aK10
岩崎秀雄 1pD01
〃 1pD03
岩崎行玄 1pH08
岩崎（葉田野）郁 1pA13
〃 1pD14
岩下孝 2aN06
岩田達也 1pA03
岩田扶美 2aA12
岩田美根子 1pH12
岩野恵 1aD09
〃 1aD10
〃 2pO06
岩淵雅樹 3aD06
岩渕雅樹 1aG04
〃 1aH07
〃 1pD14
〃 2aJ01
岩船美都 3aB10
〃 3aB12
岩堀修一 1pH07
岩本訓知 1aI09
岩本政雄 1pD06

— う —

ヴィアスプーナム 3aB05
上口智治 2aF09
上口（田中）美弥子 2aK05
〃 S9-6
〃 1pH07
〃 1pK17
〃 2pH02
上田晃弘 1pL04
上田純一 1aO03
〃 1pH01
上田貴志 2pI05
上田忠正 2aL01
上田七重 1pF01
〃 1pF02
〃 1pH15
上田愛美 2aC06
植田美那子 1aG11
上野修 2pB01
〃 2pB02
上野華子 2aF14
上野雅昭 2pH09
上野宜久 2aF12
〃 2aF13
〃 3aO08
上畠雄一郎 1pD13
上原浩一 3aF07
植村知博 2aJ11
〃 2aJ12
上村松生 1pO14
〃 2aO02
〃 2aO03
魚住信之 1pJ05
〃 1pJ06
魚津桜子 2pH02
黄漢崚 2aK07
宇垣正志 2aJ05
〃 3aD01
宇梶徳史 1pO12
宇賀神勉 1aH01
宇佐美昭二 1aK04
〃 1aK05
宇佐見健 S9-2
〃 3aK04
潮田明子 1pC06
〃 2aC01
臼田秀明 1pL07
〃 2pB10
内海俊樹 1pC11
内田浩二 S1-17
内宮博文 3aD10
〃 3aD11
〃 3aD12
〃 3aD13
〃 3aF03
宇野久仁子 2aG09
産形峰久 1pJ17
馬見公子 1pJ08
梅澤俊明 1pG08
梅田正明 3aD01
〃 3aD10
〃 3aD11
〃 3aD12
〃 3aD13
梅原三貴久 2aD04
梅原洋佐 1pC13
浦尾剛 1aH04
浦野薫 1pL15
浦原健 1pG02
浦和博子 2aA08

— え —

江川文子 1aC08
江坂宗春 S10-6
〃 1pI01
〃 2pI07
江崎文一 1aJ11
〃 2aN03
〃 2aN04
江尻千徳 1pI07
江藤剛治 2aO03
榎並勲 1pA02
〃 1pA10
〃 2aN01
榎本剛士 1pB04
蛯谷武志 1pC04
得平茂樹 1pF03
〃 1pO15
〃 1pO17
槐亜希子 S1-4
〃 3aC11
槐亜稀子 2pO04
〃 2pO05
遠藤亮 1aH05
遠藤剛 1aA01
〃 1aA06
〃 1aF12
〃 1pA09
〃 1pA12
遠藤真咲 2aA10

— お —

老木成稔 1pJ05
大井理恵 1pH09
大石涼子 1pA11
大岩和弘 1pG16
大岡久子 2pH07
大岡宏造 1aC01
〃 1aC04
大鎌直子 2pK01
〃 2pN07
大河原依久子 1pK09
大木康人 2aJ10
大岸麻紀 1pH03
大桐由華子 1pI03
大崎満 1pL09
〃 3aO09
〃 3aO10
大澤裕樹 2aN05
王子善清 1pI14
大島健太 2pB07
大住千栄子 3aL08
大隅良典 3aF02
太田大策 1pI08
〃 2aI02
〃 2pH01
太田智弥 1pD06
〃 2aO05
〃 2pN06
〃 2pN06
〃 2pO09
〃 3aC01
太田尚孝 1pA02
〃 1pA10
〃 2aN01
太田啓之 S1-11
〃 S1-2
〃 2aI05
〃 2aI06
〃 3aC02
太田賢 1aL05
〃 1pK02
大谷耕平 S4-1
大谷美沙都 3aD04
大谷基泰 2aA02
大塚雅子 1aA02
大塚稔 2aH11
大塚和佳子 3aF07
大坪栄一 2pF10
大坪繭子 1pA11
〃 2aO10
大友泰裕 3aC06
大西純一 2pB02
大西利幸 2pH01
大西紀和 1pA05
大西誠 1aD03
大西美輪 1aJ06
大野修二 1aH12
大野隆史 1pL05
大野陽子 S1-4
〃 S1-9
〃 3aC11
大羽和子 1pI10
大橋祐子 S9-3
〃 1aO08
〃 1pK01
〃 2aK09
〃 2aK10
〃 2aK11
〃 3aD01
〃 3aD05
〃 3aF04
〃 3aO04
大林武 3aC02
大平聡 1pA07
大宮泰徳 2pG03
大森隆弘 1aD05
大森弘子 3aG13
大森博文 1pC11
〃 2aB09
大森正之 1pL12
〃 1pO15
〃 3aK09
大矢武志 3aJ05
大矢博昭 2aL14
大屋文代 2aG11
大矢禎一 2pG05
大篁純子 1aA02
大山莞爾 1pB13
〃 2aF14
〃 3aB03
大山真紀子 1pD09
大類太郎 3aL05
大脇友裕 1aA10
〃 3aB07
大脇良成 1pC07
大和田琢二 1pC11
〃 2aD01
〃 2aD02
岡穆宏 S9-5
岡崎光雄 1aF07
〃 1pJ17
〃 2aA12
岡崎芳次 1aJ12
小笠原直毅 3aB06
小笠原史明 2aF13
小笠原よう子 2pK08
岡島公司 2pK07
岡田憲典 2aH08
岡田克彦 3aL10
岡田清孝 S8-2
〃 1aG11
〃 1aG12
〃 2aF08
〃 2pF04
〃 2pF09
岡田崇 2aK01
岡野通明 2aL04
岡野陽平 3aK01
岡本繁久 2pH05
岡本忍 3aK09
岡本浩伸 3aG07
岡本昌憲 1aH03
小川健一 S10-7
〃 1aG04
〃 1aH07
〃 1pD14
〃 2aJ01
〃 2pN03
〃 3aF11
小川大輔 2pL02
小川隆平 2pC06
〃 2pC07
小川晃男 1aK10
〃 1pJ06
〃 2pC01
小川雅広 3aI03
小川幹弘 S9-7
〃 2aH10
〃 2aH11
奥田彰 3aJ12
奥田賢治 1pO10
小口太一 1pD11
奥原宏明 2aC11
〃 3aJ09
奥村彰規 2aN01
奥山秀二 1pO11
奥山英登志 1pI17
〃 1pO09
小倉あゆみ 1pJ18
〃 2pL03
刑部敬史 2aA10
〃 2aB10
〃 2aB11
刑部祐里子 1pK08
尾崎啓子 1aL11
小山内美奈子 1pJ09
小澤憲明 1pH16
小関良宏 1aG13
〃 1pL01
〃 1pL02
〃 3aJ03
小田篤 2aH03
小田久美子 2aI07
小田滋 2aA13
落合智子 1pJ15
落合春奈 3aG09
小野莞爾 1pF10
〃 2aF14
小野公代 1pD09
〃 1pD10
〃 1pD11
小野清美 1aL10
小野高明 1aB03
〃 1pA13
〃 1pA16
〃 1pA17
小野道之 1pD09
〃 1pD10
〃 1pD11
小野玲子 3aB04
尾之内均 1aI12
〃 1aI13
小野寺暁彦 3aK12
小原実広 1pC03
〃 1pC04
小保方潤一 1aB12
〃 1aI01
〃 1aI02
小俣達男 1aJ05
〃 1pB06
〃 1pB07
〃 1pF01
〃 1pF02
〃 2aC05
〃 2aC12
〃 2aC13
小山時隆 1pD02
尾山美佳 3aC07
織井秀文 1pG16
折笠善丈 1pC11
恩田弥生 1aA03

恩田義彦 1pO14

— か —

甲斐泰 3aB08
貝瀬利一 1pL07
海田るみ 2aG04
戒能智宏 S3-4
加川貴俊 3aK11
柿田美智子 1pG07
柿谷吉則 1aC08
柿野瑞枝 3aI03
柿本辰男 S9-4
〃 1aD07
鍵和田聡 3aI08
〃 3aI09
郭長虹 2pI01
加来友美 1pG01
〃 2aN04
角谷徹仁 2aD07
掛川弘一 2aG02
〃 2aG03
葛西哲人 3aB11
葛西精太郎 2aA13
葛西身延 3aB04
〃 3aB10
〃 3aB11
〃 3aB12
笠原宏一 1aO01
笠原博幸 2aH08
〃 2aH09
笠原賢洋 3aK09
〃 3aK12
風間裕介 1aD04
笠毛邦弘 1aJ02
〃 1pJ10
〃 1pJ11
〃 2pJ02
梶川昌孝 2aF14
菓子野康浩 1aA02
〃 1pA05
〃 1pL13
〃 1pO05
樫葉健二 1pC04
樫山拓 1pI02
柏尾尚宏 1aK01
梶原忠彦 2aI07
梶原英之 1pF07
春日美江 1pK05
〃 1pL16
〃 2aA03
春日部芳久 2aO09
片岡達彦 1aJ10
片岡未裕希 2pI10
樫木博昭 2aF04
片山健一 3aB02
片山光徳 1pD01
〃 1pK18
且原真木 1aJ02
〃 1aJ11
勝又政和 3aK01
勝見美穂 3aB01
勝元幸久 3aJ09
桂幸次 1pK04
加藤朗 1aF01
加藤彩 3aI06
加藤一幾 2pF07
加藤潔 1pG12
〃 1pG13
〃 1pG14
加藤晃 2aA13
加藤咲子 3aI09
加藤新平 2aK12
〃 2aK13
加藤貴子 1aH12
加藤千晴 2aC09
加藤千尋 2aH01
加藤友彦 S9-4
〃 1aD07
〃 1aJ08
〃 1aL02
〃 1pF07
〃 1pJ07
〃 2aB06
〃 2aB07
〃 2aB11
〃 2aF09
〃 2aG02
〃 2aG03
〃 2aI11
〃 2pF06
〃 2pF09
〃 2pL07
〃 3aC09
〃 3aF02
〃 3aG09
加藤央生 1aI08
加藤紀行 1pD12
加藤尚 1pD17
加藤尚志 1pF06
〃 1pH06
〃 2aH01
〃 2aH02
加藤久晴 1pH08
加藤英樹 2aO14
加藤大和 1aK10
〃 1pJ06
〃 2pC01
加藤浩 1pL12
加藤雅士 1pF02
加藤美砂子 3aJ11
〃 3aJ12
門田明雄 3aK08
門田康弘 2pO01
〃 3aD03
金浜耕基 2pF07
金丸研吾 S1-2
〃 S1-21
金山喜則 2pF07
鐘ヶ江健 3aK08
鐘ヶ江弘美 3aK05
金子貴一 1pC11
〃 2aB01
〃 2aB06
〃 2aB07
〃 2aB09
〃 2pC05
金子堯子 2aG04
金子美幸 2aH06
金子康子 1pO07
金子弥生 2aF06
兼崎友 1aK11
金田隆志 2pO08
金久實 2pC09
金松澄雄 2aL12
壁谷如洋 1pF03
〃 1pF14
〃 1pO18
〃 2aB02
鎌田知江 1aF03
鎌田博 1aF11
〃 1pD09
〃 1pD10
〃 1pD11
〃 2aD03
〃 2aD04
〃 2aH01
〃 2aH02
〃 2aH03
〃 2aK10
〃 2pL02
鎌田源司 1aO06
蒲池浩之 3aL09
神垣あかね 2pI07
神阪盛一郎 2aG05
〃 2aG09
〃 2aN04
〃 2pG02
上出由希子 1pH06
神谷明男 3aK13
〃 3aK14
神谷麻子 S1-4
〃 2pO04
〃 2pO05
〃 3aC11
〃 3aK09
神谷岳洋 1pJ03
神谷信夫 1pA01
神谷紀子 2aD06
神谷勇治 S9-7
〃 1aH03
〃 2aH08
〃 2aH09
〃 2aH10
〃 2aH11
〃 2aH12
〃 3aG05
亀井綾子 2aN01
〃 2pK07
亀田清 3aJ08
亀谷七七子 1pC09
亀谷陽次郎 3aB11
〃 3aB12
賀屋秀隆 2pF06
萱野暁明 1pH07
〃 2aH07
粥川真巳 3aI08
唐原一郎 2aJ08
刈屋国男 2pG04
カルニンチピエロ 3aC06
河合純 S1-04
〃 3aC06
〃 3aC11
河合博子 3aK08
川合真紀 3aF03
川上顕 1pI04
川上直人 1aD11
〃 1aD12
〃 1pB01
〃 1pB02
川岸万紀子 1pC07

〃 2aA11
川北一人 2aI04
〃 2aK12
〃 2aK13
川口健太郎 2pG04
川口正代司 1pC08
〃 2aB08
川越靖 3aI03
川崎信二 2aB08
〃 2aB10
〃 2aN13
川崎努 2aK07
川崎通夫 1aJ08
〃 1aJ09
川島美香 3aC14
河田尚之 1pG02
河津依志子 1pI11
河野重行 1aD04
〃 3aI10
河野智謙 S10-5
川野裕子 3aJ08
川畑千絵 2aI06
河原智治 S4-3
川満芳信 1aL12
川向誠 2aA15
河村雅子 2aN03
河村幸男 2aO02
〃 2aO03
河村義史 2aC07
〃 2aC10
河盛阿佐子 2pA05

— き —

菊池尚志 S1-3
〃 1pD06
〃 1pD07
〃 2aO05
〃 2aO12
〃 2pJ04
〃 2pN06
〃 2pO09
〃 2pH07
〃 2pN07
〃 3aC01
〃 3aC06
〃 3aC08
〃 3aK05
〃 3aO09
菊地真吾 1aF10
〃 3aI05
〃 3aI06
〃 3aI07
岸光子 2pI02
岸谷幸枝 1aL09
岸根雅宏 1aF12
岸本正 2aO06
岸本直己 1pD06
〃 1pD07
〃 2aO05
〃 2aO12
〃 2pJ04
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
〃 3aC08
〃 3aK05
〃 3aO09
岸本律子 1pI03
木瀬秀夫 2pA04
木田隆夫 2aC11
北宜裕 3aJ05
北倉左恵子 3aO08
北島佐紀人 2aK01
〃 2aL11
北野英己 1pH05
〃 3aG04
北野英巳 S9-6
〃 1pK17
〃 2pH02
北村晃一 1aK01
北村有里 1pI13
木藤伸夫 1pG12
〃 1pG13
〃 1pG14
木下香織 S9-4
〃 1aD07
木下邦則 1aI05
〃 2aB05
木下哲 2aD07
木下俊則 1aK07
〃 3aK11
木下靖浩 1pA09
木場章範 S4-3
〃 3aO02
木原智仁 1pL06
キムキョンテ 2pF01
〃 2pF02
〃 2pF03
木村愛子 1pO04
木村淳夫 2aD01
木村信 2aD12
木村智子 S1-12
〃 2pK02
木村真 2pO10
木村光宏 2aL06
〃 2aL07
木村靖子 1aK02
木村行宏 1pA16
京正晴 2aD05
経塚淳子 3aG06
〃 3aG07
清末有希 3aC12
清田誠一郎 2pL06
清原洋太 1pK18
桐沢恒一 1aK04
〃 1aK05

— く —

日下部功 1aH10
〃 1aH11
草野友延 3aF09
草塲新之助 3aG01
草場信 1aI11
楠木正巳 1aA03
楠見健介 2aK14
久住高章 3aJ10
葛山智久 2aH09
朽津和幸 S6-6
〃 2pK08
〃 2pO01
〃 3aD03
九町健一 S1-17
〃 1pB13
朽名夏麿 1pJ13
久保亜希子 2aJ05
久保明弘 S1-13
〃 2pL01
〃 2pL02
〃 2pL07
久保雄昭 1aD01
〃 1aD03
〃 1aK01
久保知大 2pF06
久保稔 1aG01
〃 1aG02
〃 1aG03
久保井徹 2aO07
熊谷忠 2aL08
〃 2aL09
〃 2aL10
熊崎茂一 2pA01
〃 2pA02
九万田有希 2pN04
倉橋正浩 1aC11
栗栖源嗣 1aA03
栗本耕平 1pO13
来須孝光 2pK08
槫井俊介 1pF09
〃 2aB11
黒岩常祥 1pF05
〃 1pF11
黒岩晴子 1pF11
黒瀬高章 2aA15
黒田幸浩 3aO09
黒田希 S3-4
黒羽剛 2aH02
黒森崇 S1-20
〃 1aF11
〃 3aC12
黒柳美和 2pI08
〃 3aF06
桑形恒男 3aL06
桑田主税 S1-14
桑原亜由子 2aH11

— け —

気多澄江 3aC03

— こ —

呉国峰 2pJ05
耿暁星 3aK06
〃 2pK07
小池晶子 2aI03
小池説夫 2aO12
〃 3aL04
小池裕幸 1aA02
〃 1pL13
〃 1pO05
小泉好司 1aG09
〃 3aL01
〃 3aL05
小泉望 1aD02
〃 1aK08
〃 2aD08
〃 2aI03
〃 2pN05
〃 3aF08
〃 3aF09
郷達明 2pO01

合田和史 3aC14
合田清 1pI03
合田名都子 3aD06
郷田秀樹 1pH03
〃 2pH04
〃 2pH06
幸田泰則 2aH04
〃 2aH05
河内孝之 3aG08
〃 3aG09
河内宏 1pC12
〃 1pC13
〃 1pC15
〃 1pC18
河野淳 3aD13
河本伸 1aK04
小形尚子 1aF10
国分紀元 1pB05
小坂能尚 3aO06
小酒井紀詠 1pF01
〃 1pF02
小塩和輝 1aJ02
腰岡政二 2aK05
小柴共一 1aG13
〃 1aH03
〃 1aH05
〃 1pH03
五島志伸 1pJ05
小嶋晶子 2aF12
小島創一 2aC03
小嶋寛明 1pG16
小島正也 1pD05
小島峯雄 1pI13
越山淳子 1pL16
小塚玲子 S4-5
小杉俊一 1pK01
〃 3aD05
小瀬村誠治 1aH11
〃 1aH12
小曽根睦 2pJ04
小平律子 1aF07
〃 2aA12
小竹敬久 S3-4
〃 1pG02
児玉浩明 1aI04
小塚俊明 2pF03
小塚玲子 3aO07
小寺正明 3aB08
後藤一法 2pO06
後藤弘爾 S3-4
後藤新悟 1pF19
後藤伸治 1aH11
後藤文之 2aA01
後藤祐児 1aA05
後藤有希子 3aC14
後藤洋子 3aF04
古藤田信博 3aG10
小西照子 2pG03
小西美稲子 2aF02
小林功 1pL07
〃 1pL08
小林和夫 3aB06
小林興 S6-3
小林康一 2aI05
小林大輔 2pC04
小林高範 2aN13
〃 2aN14
小林哲夫 1pF02
小林裕和 1pF19
小林裕子 3aC13
小林弘 1pJ06
小林正智 1pF07
〃 1pH10
〃 1pK17
〃 2aB11
〃 2aH07
〃 2aJ02
〃 2pF06
〃 3aC15
〃 3aF02
小林正治 2pJ06
小林正美 2pA04
小林優 1pG03
〃 2aG11
〃 2pG06
小林恭士 S3-2
小林勇気 1pF16
〃 1pF18
小林由布子 2pB01
小林由樹子 2aN10
小林裕美子 2aA07
小林佑理子 2aN02
小林善親 1aB09
〃 2pB04
小林玲児 2pK07
小日向務 3aB03
小前幸三 1pG02
小又佳子 2pF07
小松晃 2aA11
小松契史 3aG07
小松節子 1aJ01
五味剣二 S4-1
米田好文 3aG03
小山知嗣 2aK01
小山博之 1pL05
〃 1pL06
〃 2aN02
小山泰 1aC08
〃 1aC09
〃 1aC11
是枝晋 1pB16
近藤愛子 1pB01
〃 1pB02
近藤鋭治 1aI05
近藤啓子 1pL16
近藤孝男 1pD01
〃 1pD02
〃 1pD03
〃 1pK18
近藤忠雄 1pJ09
〃 3aJ08
近藤鋭治 2aB05
近藤真紀 1aF05
近藤陽一 1pK16
紺野宏記 1aA12

— さ —

蔡晃植 S4-4
〃 1aD09
〃 2pO06
〃 2pO07
〃 2pO08
齋木加代子 1aC11
齋木里文 2aC04
斎藤新 2aH04
斉藤敦 2aO10
斉藤和季 S1-12
〃 1aJ03
〃 1pJ15
〃 2aJ02
齊藤和實 1pI11
斉藤健司 3aK13
〃 3aK14
齋藤達昭 1aD03
齊藤達昭 1aD01
斎藤臣雄 2aH07
齋藤扶美恵 S1-10
斉藤美佳子 1pO11
〃 3aO03
齊藤綿子 1aO07
齋藤洋太郎 3aB06
斉藤涼子 3aD03
佐伯和彦 1pC08
〃 1pC11
〃 2aB09
〃 2aC14
酒井敦 1pB18
坂井貴三子 1aO05
酒井慎吾 1aJ07
酒井啓江 S9-5
酒井富久美 2pG03
坂井美穂 2aH07
榮容子 1pK15
栄谷直美 2aL04
坂神洋次 1pH16
榊原圭子 3aJ10
榊原均 1pH14
〃 1pH15
〃 2pJ09
〃 3aG12
榊原（米倉）圭子 3aJ09
阪口寿子 1pH02
坂田克己 1pD06
〃 1pD07
〃 2aO05
〃 2aO12
〃 2pJ04
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
〃 3aK05
〃 3aO09
坂田完三 2pH01
阪田忠 1aD06
坂田洋一 1aG09
〃 3aL01
〃 3aL05
坂庭真悟 3aL10
坂野勝啓 2pL06
坂水学 1aB06
坂本敦 2aC06
〃 2aC07
〃 2aC09
坂本綾子 2aL02
坂本竹史 3aB10
坂本剛 2aK07
坂本知昭 1pH07
〃 2aH07
坂本光 2pI03

坂本正弘 2aJ07
坂本木綿子 1pH04
坂本亘 1aF08
〃 1aF09
〃 1pF09
〃 1pF13
崎浜靖子 2pK04
作田千代子 2aH03
作田正明 3aJ07
桜井勇 1pB15
〃 2aI11
〃 S1-04
櫻井哲也 S1-9
〃 S1-20
〃 2aL06
〃 2pO04
〃 2pO05
〃 3aC11
桜井直樹 1pG07
〃 2aG06
〃 2aG13
桜井英博 1aC03
〃 2pC02
〃 2pL04
櫻井英博 1aC02
櫻井玲子 1aI13
桜井（石川）淳子 3aL04
佐々木克友 2aK09
佐々木昌平 1pC04
佐々木孝行 1aJ11
〃 2aN07
佐々木卓治 1pD06
〃 1pD07
〃 2aK09
〃 2aO05
〃 2aO12
〃 2pJ04
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
〃 3aK05
〃 3aO09
佐々木直文 2aB04
佐々木博 1pO10
佐々木結子 3aC02
佐々木幸子 2aA04
〃 2pI04
〃 3aK02
佐々木隆太 1aD11
佐治光 S1-13
〃 2pL01
〃 2pL02
〃 2pL07
貴家康尋 3aL01
〃 3aL05
佐塚隆志 3aC03
佐々奈緒美 1aG01
〃 1aG02
〃 1aG03
サディクティラマ・デヴィ 2aN08
佐藤和彦 1aA02
〃 1pA05
〃 1pL13
〃 1pO05
佐藤浩二 2pH07
〃 3aC06
佐藤茂 2aG02
〃 2aG03
佐藤忍 1pG09
〃 1pG10
〃 1pG11
〃 2aD04
〃 2aH01
〃 2aH02
〃 2aH03
佐藤修正 S9-4
〃 1aD06
〃 1aD07
〃 1aJ08
〃 1aL02
〃 1pJ07
〃 2aB01
〃 2aB06
〃 2aB07
〃 2aF09
〃 2aI11
〃 2pF09
〃 3aC04
〃 3aC09
〃 3aG09
佐藤壮一郎 1aB02
佐藤隆英 1pH04
佐藤隆之 3aB04
佐藤雅志 1pC01
〃 1pC03
〃 1pC04
〃 2aL01
佐藤敏生 1aC05
〃 1aL04
〃 2aB12
〃 2aB14
〃 2pN08
佐藤利幸 1pH02
佐藤直樹 1pF03
〃 1pF04
〃 1pF14
〃 1pO15
〃 1pO16
〃 1pO17
〃 1pO18
〃 2aB02
〃 2aB04
〃 2aJ10
佐藤典裕 2aI10
佐藤光 2aJ05
〃 2aK14
佐藤文彦 1aA06
〃 1aF12
〃 1pA09
〃 1pA12
〃 1pJ12
〃 1pL10
〃 2aK01
佐藤真樹子 3aB10
〃 3aB11
〃 3aB12
佐藤将一 S1-20
〃 S1-4
〃 S1-9
〃 2aL06
〃 2pO04
〃 2pO05
〃 3aC11
佐藤雅彦 2aJ11
〃 2aJ12
佐藤道生 1pH09
佐藤康 1aG10
〃 1pG08
佐藤裕 2pG04
佐藤友紀 1pD06
〃 2aO05
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
佐藤良勝 3aK08
佐藤理恵 S1-9
実岡寛文 1pI01
佐野智 1pI11
佐野卓磨 2aD01
佐野常世 1aG08
佐野俊夫 3aD03
佐野浩 1aD02
〃 1aK08
〃 2aD08
〃 2aI03
〃 2aO01
〃 2pN05
〃 3aF08
〃 3aF09
澤進一郎 1pH03
澤嘉弘 2aL05
澤田信一 3aB04
〃 3aB10
〃 3aB11
〃 3aB12
澤田康孝 1aK08
澤田有司 1pI05
〃 3aJ01
澤田亮平 2aD14

— し —

施衛明 1pL04
椎名隆 1pA03
〃 1pF08
〃 1pF15
陳能場 1pO03
塩井祐三 2pL08
塩入秀成 1pI13
塩田肇 2aD03
塩野忠彦 1aL04
〃 2aB12
〃 2pN08
滋賀陽子 1pL12
鹿園直哉 2aL02
四方雅仁 3aG08
鹿内利治 1aA01
〃 1aA06
〃 1aA11
〃 1aF12
〃 1pA12
軸屋博之 1aL07
〃 1aL08
重岡成 1pB09
〃 1pB10
〃 1pI16
〃 2aL11
〃 2aO08
〃 2pC04

〃 3aB01
重藤潤 2aC08
重永綾子 1aK07
重広竜之 2pN04
繁森英幸 1pH01
地阪光生 1pK15
志字寿文 1aJ05
士反伸和 1pJ12
品川朗 3aC11
信濃卓郎 1pL09
〃 3aO09
〃 3aO10
篠崎一雄 S1-04
〃 S1-10
〃 S1-20
〃 S1-9
〃 S7-3
〃 S9-1
〃 1aF11
〃 1aH01
〃 1aH02
〃 1aH04
〃 1pH10
〃 1aL02
〃 1pF07
〃 1pK04
〃 1pK05
〃 1pK07
〃 1pK08
〃 1pK09
〃 1pL14
〃 1pL15
〃 1pL16
〃 2aA03
〃 2aB11
〃 2aJ02
〃 2aL06
〃 2aO04
〃 2pF01
〃 2pF06
〃 2pO04
〃 2pO05
〃 3aC10
〃 3aC11
〃 3aC12
〃 3aL07
〃 3aL08
篠崎和雄 3aF02
篠崎和子 S1-04
〃 S1-9
〃 S1-10
〃 S9-1
〃 1aH04
〃 1pH10
〃 1pK04
〃 1pK05
〃 1pK07
〃 1pK08
〃 1pK09
〃 1pL14
〃 1pL15
〃 1pL16
〃 2aA03
〃 2aG02
〃 2aG03
〃 2pF06
〃 2pL07
〃 3aC02
〃 3aC03
〃 3aF02
柴田均 2aL05
柴田勝 1pJ18
〃 2pL03
柴田真理 1aK10
〃 2pC01
柴田穣 1aB07
柴田庸介 2aN01
柴原慶一 2pF06
渋谷直人 2aK02
〃 2aK03
〃 2aK04
〃 2aK05
〃 2aK06
澁谷直人 3aC08
島崎研一郎 1aK07
〃 3aK11
嶋田敬三 1aC07
〃 1aC10
〃 1aC11
〃 1aC12
島田多喜子 1pO02
〃 2aA02
嶋田知生 2pI06
〃 2pI08
〃 2pI10
島田浩章 2aD09
島田裕士 2aI05
〃 2aI06
〃 3aC02
嶋田幸久 S1-6
〃 1pH03
〃 2pH02
〃 2pH04
〃 2pH06
島谷善平 1pD06
〃 2aO05
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
島津樹一 2aB10
島本功 1aI10
〃 1pD08
〃 2aK07
〃 2aK08
〃 3aG06
〃 3aG07
清水武史 2aB10
清水俊行 2aA07
清水鈴菜 2pO02
〃 2pO03
下井絵美 2pN06
〃 2pN07
下川麻希 1pA11
下河原浩介 1pL07
〃 1pL08
下里裕子 1aD09
〃 1aD10
下田宜司 1pC11
下遠野明恵 3aD10
下村憲司朗 1pC11
〃 1pC15
下村講一郎 1aO10
下村正二 S6-1
姜延波 2aA01
姜廷波 2aN14
徐文新 1pI13
城尾昌範 1pD18
情家高史 1aF07
庄野真理子 1pO02
〃 3aL13
白石卓夫 2aL14
白石友紀 S4-3
〃 2pO02
〃 2pO03
白岩善博 3aL11
白田幸枝 1aI12
白武勝裕 3aC03
白野由美子 2pF06
〃 2pL07
〃 3aF02
沈建仁 1pA01
〃 1pA10
進士秀明 2aK01
〃 3aD02
真保佳納子 1pD06
〃 1pD07
〃 2aO05
〃 2aO12
〃 2pJ04
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
〃 3aK05
〃 3aO09
新町文絵 2pN04
新名惇彦 2aA13
新村佳奈子 2aC11
新免輝男 1aD05
〃 1pG16
〃 2pG01
新屋友規 3aO03

— す —

末岡啓吾 1aA08
末次憲之 3aK11
末永冴子 1aG09
末吉邦 1pI14
須賀しのぶ 1aJ01
菅野耕作 1pB09
菅野真実 1aO04
杉浦花菜 2pC08
杉浦千佳 1pF16
〃 1pF18

杉浦昌弘 1aI05
〃 2aB03
〃 2aB05
杉浦美羽 2pN01
〃 2pN02
杉田小百合 3aI09
杉田護 1pF16
〃 1pF17
〃 1pF18
杉本育代 1pA04
杉本和彦 2aA11
〃 2pH07
杉本敏男 1pI14
杉本恵 S4-3
杉本祐香 1aF10
杉山達夫 1aJ08
〃 1aJ09
杉山宗隆 1aI09
〃 2aF02
〃 3aD04
杉山康雄 2aB03
杉山立志 1aD04
助野真一 1pL16
鈴木昭徳 1aI12
鈴木章弘 1pC11
鈴木石根 S1-15
〃 1aK11
〃 2pN09
鈴木馨 3aD02
鈴木一実 3aO02
鈴木賢一 3aJ10
鈴木健策 2pB05
鈴木健二 1aF07
鈴木茂敏 1aL12
〃 1pO02
鈴木史朗 1pG08
鈴木孝征 S1-21
〃 1pJ07
鈴木健裕 1pA02
鈴木達郎 3aJ06
鈴木鐵也 2pN03
鈴木利貞 1aH10
〃 1aH11
〃 1aH12
鈴木俊治 1aA12
鈴木伸昭 2pN05
鈴木伸章 1pO07
鈴木布美子 3aK06
鈴木正勝 2aN03
鈴木正彦 2pO09
鈴木優志 1pF06
〃 1pH06
鈴木壮幸 1pH11
鈴木基史 2aN13
鈴木保宏 2pL05
鈴木雄二 1pB14
鈴木由起子 1pO08
鈴木義勝 2aA07
鈴木義人 1aH06
須田泉 2aG11
須田邦裕 2aI10
ステファノフデテリン 1aA09
須藤しづ江 3aK07
砂子智美 2aJ03

— せ —

成日慶 2aL10
瀬尾茂美 1aO08
〃 2aK10
〃 2aK11
〃 3aO04
瀬尾悌介 1aC02
〃 1aC03
瀬尾光範 1aH03
〃 1aH05
関雅也 1pI02
関原明 S1-10
〃 S1-20
〃 S1-4
〃 S1-9
〃 1aF11
〃 1aH04
〃 1pF07
〃 1pK05
〃 1pK08
〃 1pL14
〃 2aB11
〃 2aJ02
〃 2aL06
〃 2pF01
〃 2pF06
〃 2pO04
〃 2pO05
〃 3aC11
〃 3aG09
〃 3aL08
関根康介 1pF03
〃 1pF04
関原康子 1aG08
関亦克彦 2pH06
関本弘之 1aO10
関谷佳代子 2aN02
関谷（川崎）真理子 2pG05
瀬戸秀春 S6-7
〃 2aK11
瀬戸口大輔 3aF07
千徳直樹 1pH05
〃 2aO14

— そ —

蘇都莫日根 1pF09
曽我康一 2aG05
〃 2aG09
〃 2pG02
曽川能任 2pK01
園池公毅 1pA15
〃 2pA03
〃 2pC09
〃 2pG05
園田裕 2aC04
園部誠司 1pI18
〃 2pG01
征矢野敬 3aD09
孫崇栄 2aB05

— た —

平良佳子 1pO05
田尾下潤二 1pG09
高井亮太 2aK02
高市真一 1aC04
〃 1aC10
〃 2pC05
高岩文雄 3aI03
高木慎吾 1aJ12
高木優 1pK02
〃 2aK01
高木靖之 1aD01
高瀬智将 3aD01
高瀬洋一 1aH10
高田元 3aL01
高田忍 S3-4
〃 2aF10
〃 2pF05
高谷信之 2aC13
高津戸秀 2pH03
〃 2pH08
〃 2pH09
高根健一 1pC12
〃 1pC15
〃 1pC18
高野淳 2aI01
高野純 1aL07
〃 1aL08
高野順平 2pJ06
高野哲夫 1aL06
高野敏弥 1aI11
高野博嘉 1pF10
〃 2aF14
高野誠 3aK05
高萩敏和 1pA09
高橋（渡部）晶子 2pJ07
高橋宏二 1pG12
〃 1pG13
〃 1pG14
高橋咲子 2pJ04
高橋俊一 1aB05
〃 1aB06
高橋卓 3aG03
高橋信行 3aL02
高橋秀夫 1aF11
〃 2pB08
高橋英樹 S4-6
高橋秀樹 1aJ03
〃 2pJ07
〃 2pJ08
〃 2pK03
高橋秀幸 1aD06
〃 1aO06
〃 1aO07
〃 2aD13
〃 2aD14
〃 3aL02
高橋秀行 3aO05
高橋正昭 2pN01
〃 2pN02
高橋美佐 2aC07
〃 2aC08
〃 2aC09
〃 2aC10
高橋美智子 2aN12
〃 2aN13
高橋裕一郎 S5-3
〃 1pA04
〃 1pA05
〃 1pA13
〃 2pA06
〃 2pA07
〃 2pA08
高橋由香里 1pB06

高橋陽介 2aH12
〃 2aH13
〃 2pK06
高橋（渡部）晶子 2pJ08
高畠令王奈 1aO08
高濱一貴 2pC06
高林厚史 1aA06
〃 1aF12
高原健太郎 1pL11
高原学 1pF11
高部圭司 2aG02
〃 2aG03
高倍鉄子 1aL08
〃 1aL11
〃 1pL04
〃 1pO02
高倍昭洋 1aL07
〃 1aL08
〃 1aL09
〃 1aL10
〃 1aL11
〃 1aL12
〃 1pO02
〃 1pO03
高部寛子 3aC12
高見常明 1pJ18
〃 2pL03
高宮建一郎 2aI05
〃 2aI06
〃 3aC02
高山誠司 1aD09
〃 1aD10
〃 2pO06
〃 2pO07
〃 2pO08
瀧尾擴士 1aO10
滝尾進 1pF10
瀧上千鶴 1pH01
瀧田和男 3aO05
田切明美 1pJ04
田口悟朗 1aF07
〃 1pJ17
〃 2aA12
田口富美子 2pO02
〃 2pO03
田窪桂子 1pI08
〃 2aI02
宅間弘樹 3aB06
武井兼太郎 1pH14
〃 1pH15
〃 3aG12
竹内香純 2pO03
竹内敬一 2pH08
竹内しのぶ 1pD02
竹内安智 2pH08
〃 2pH09
竹内裕一 2aL03
竹川薫 1pC16
竹腰正隆 2aA09
竹澤大輔 1aK06
〃 1pO12
〃 2aO11
竹下俊治 1pA09
竹田恵美 1aB11
武田征士 1aG12
武田泰斗 2aF09
武田徹 1pI16
竹田浩之 2aG06
武田裕一 1pJ11
竹中重雄 1pI08
武長宏 1aG09
〃 3aL01
〃 3aL05
竹葉剛 1pF08
竹原幸生 2aO03
竹村美保 3aG08
〃 3aG09
竹本哲行 3aO06
竹安邦夫 2aJ12
竹山春子 2pC03
田坂昌生 2aF01
〃 2aF10
〃 2aF11
〃 2pI09
田坂恭嗣 2aO10
田沢仁 S8-3
太治輝昭 3aL08
田島茂行 1pC11
〃 1pC14
〃 1pC15
〃 1pC16
〃 1pC17
〃 1pC18
〃 3aB02
多田功生 1pG05
多田俊治 1pB10
橘昌司 2aO09
立木美保 1pH12
龍野由美恵 1pH04
立松圭 3aG05
田中章 1aL05
田中淳 2aL02
田中歩 1aB01
〃 1aB02
〃 1pK14
田中一朗 2aD03
田中修 1pD12
田中克典 2aA15
田中寛 1aF11
〃 2pB08
田中浄 1pI07
〃 1pI14
田仲究 2pH05
田中國介 3aO06
田中重雄 1aG09
〃 3aL01
〃 3aL05
田中慎一郎 S9-2
〃 3aK03
田中智之 2aL05
田中則子 2pO06
〃 2pO08
田中秀明 3aF01
田中宏明 2aN09
田中宥司 1pH07
〃 1pJ04
〃 2aH07
田中博美 3aJ12
田中美名 3aG12
田中洋子 1aH06
田中良和 3aJ09
〃 3aJ10
田中義人 1aL09
〃 1aL10
〃 1pO02
〃 1pO03
田中喜之 1aJ07
〃 1aL01
〃 1pJ04
〃 3aC08
田中亮一 1aB01
田部茂 2aK06
谷口卓穂 1aI10
谷口郁也 1pB13
谷口光隆 1aJ08
〃 1aJ09
谷口洋二郎 1aJ08
〃 1aJ09
谷本岳志 2aA12
田畑敦也 2aB14
田畑哲之 S1-1
〃 1aD01
〃 1aD06
〃 1aD07
〃 1aJ08
〃 1aL02
〃 1pC11
〃 1pC16
〃 1pF07
〃 1pJ07
〃 2aB01
〃 2aB06
〃 2aB07
〃 2aB09
〃 2aB11
〃 2aF09
〃 2aI11
〃 2pF06
〃 2pF09
〃 2pL07
〃 3aB03
〃 3aC02
〃 3aC04
〃 3aC09
〃 3aF02
〃 3aG09
〃 3aK12
田端哲之 S9-4
田渕彰 1pG01
〃 2aN04
多淵知樹 1pL03
田淵宏朗 2pF08
田渕真由美 1pC01
玉井一規 2pJ05
玉井鉄宗 2pB03
玉置雅紀 S1-13
〃 2pL01
〃 2pL02
〃 2pL07
田牧祐治 2pH08
玉田洋介 2aF07
田村隆行 1aF08
田村典明 1pA11
田村典子 1aD11
〃 1aD12
田村美穂子 3aJ10
田茂井政宏 2pC04
〃 3aB01
田家英治 1pG15
樽井裕 1pD13

団一幸 1pJ12
谷本靜史 1pL02

— ち —

チタマデーシリポン 2aF03
千葉啓 1pB04
千葉智之 1pH04
千葉由佳子 1aI12
〃 1aI13
中條篤史 3aG06
チョキュヒョン 2pF02
趙南明 2pL09
沈仁芳 2aN06
陳麗梅 2pB09

— つ —

塚谷延枝 3aO02
塚谷祐介 1aC12
栂根一夫 2aA08
塚本崇志 2aN13
塚谷裕一 2aF12
〃 2aF14
〃 2pF01
〃 2pF02
〃 2pF03
槻木竜二 2aF08
〃 2pF04
辻寛之 2pL05
辻容子 1aB11
津島美穂 1aO05
辻村とも子 1aJ06
辻本優子 1pI16
土田博子 2pB03
土田祐平 2pB07
土本卓 2pF10
土屋光司 1pG02
續伯彦 1aI05
〃 2aB05
都筑幹夫 1pL07
〃 2aI10
〃 3aL10
堤伸浩 1pF12
〃 2pL05
常塚創 2aK08
常富紀子 1aL05
角山雄一 1pF15
円谷陽一 1pG02
津山伸吾 1pI08
津山孝人 2pB04

— て —

デービスエリック 1pI12
手島光平 1pC11
手島圭三 1aA04
出村拓 S1-7
〃 S1-8
〃 1aG01
〃 1aG02
〃 1aG03
〃 1aG04
〃 1pH16
寺内白梅薫 2pI07
寺尾彰啓 2pA08
寺尾富夫 2pF08
寺門純子 1pC10
寺倉香奈里 3aJ08
寺倉伸治 3aO08
寺沢公宏 2aJ10
寺島一郎 1aA09
〃 1pD16
〃 1pO13
〃 3aB05
寺島彰吾 2aO07
寺田彰子 3aB08
寺田志穂 2aI13
寺田理枝 2aA08
寺西弘美 1pH11
寺西美佳 2aL08
〃 2aL09
寺見文宏 1pI04
寺本陽彦 1aB03

— と —

土肥敬悟 1pL16
土井道生 3aK11
土肥義治 2aA07
道家紀志 2aI04
〃 2aK12
〃 2aK13
堂前直 1aO10
藤博幸 1pO04
遠山鴻 1pD18
戸上純一 3aJ10
土岐清一 2aB10
土岐精一 2aA10
〃 2aB11
得字圭彦 2aD01
〃 2aD02
徳富（宮尾）光恵 2pB03
徳永順士 1pG08
戸澤譲 2aA11
富川泉 2aF11
富澤健一 2aA05
〃 2aL11
冨田賀代 S4-5
〃 3aO07
冨田啓治 2aG02
〃 2aG03
冨田淳 1pK18
冨田智之 2pA06
富田 - 横谷香織 1aH10
〃 1aH11
富田 - 横谷香織 1aH12
富永基樹 1pG16
鞆達也 1pA02
友田善久 3aJ11
外山友紀 3aJ08
豊島喜則 1pA03
〃 1pF15
豊田和弘 S4-3
〃 2pO02
豊田健太郎 1pL10
豊増知伸 2aH11

— な —

内藤哲 S4-5
〃 1aI12
〃 1aI13
〃 3aO07
直井国子 2aF04
〃 2aF06
永井和夫 2aC12
中井謙太 S1-22
永井靖二 1aH06
中井正人 1aF10
〃 3aF01
〃 3aI05
〃 3aI06
〃 3aI07
永井玲子 1aJ12
長江裕芳 1aC08
中尾光治 2pA07
長尾典子 2aD03
中尾正弘 3aJ09
長尾学 2aO11
中尾容子 1aA04
長岡修一 1aL06
中川強 2aA15
中川知己 1pC12
〃 1pC13
〃 1pC18
中川直樹 1pG07
〃 2aG06
中川典子 2aL04
中川弘毅 1pH04
〃 3aD01
中川広宣 2aG11
中川直樹 2aG13
中川原千早 2aO03
中湖綾 3aG14
長崎宏 3aG11
中里（岡本）朱根 1pG12
長沢桐奈 2pB08
中澤美紀 3aC13
〃 3aC14
仲下英雄 1pK10
〃 2aA07
仲下（丸山）明子 2pK03
永島明知 1aF11
中島麻恵 1aL05
〃 2aO08
中島一雄 1pK09
〃 2aO04
永島賢治 1aC07
〃 1aC10
〃 1aC12
中嶋信美 S1-13
〃 2pL01
〃 2pL02
〃 2pL07
中嶋英裕 2aI04
中嶋舞子 S1-4
〃 2pO04
〃 2pO05
〃 3aC11
中嶋正人 1pI06
中嶋正敏 S6-2
中島麻里奈 2aB10
中島芳浩 2pO07
長瀬正和 2aB03
中園江 2pL05
中園幹生 2pL05
永田俊文 3aC06
長田敏行 1pG15
〃 3aD03
永田典子 1pH06
中田克 1aL04
〃 2aB12
〃 2pN08

中田真美 2aJ12
長田夕子 1pD06
〃 2aO05
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
中田淑子 1pA10
長谷あきら S9-2
〃 3aK03
〃 3aK04
〃 3aK12
中谷公美 2aF07
中塚貴司 2aA06
〃 3aO02
長戸康郎 1pH05
〃 3aG04
中西友子 1aJ10
中西啓仁 1pD07
〃 2aN12
〃 2aN13
〃 2aN14
中西弘充 1aF07
〃 2aA12
中西史 1aO10
中西洋一 1pJ07
〃 1pJ08
中野明彦 2aK02
〃 2pI05
永野幸生 2pI04
〃 3aK02
中林一美 1aH03
中東憲治 S3-4
中平有香 3aK09
中平洋一 1pD01
〃 1pD03
〃 1pK18
中前伊公子 3aI08
中道範人 1pD05
長嶺考行 2aL05
中村敦子 1aJ07
〃 1aL01
〃 1pJ04
中村郁子 2pH04
中村郁郎 1pC09
中村衣里 2pO01
中村研三 2pK05
中村賢志 S9-2
〃 3aK03
〃 3aK04
中村信吾 2aB10
中村崇 1aB05
中村辰之介 1aL05
〃 1aL07
〃 1aL08
〃 1pJ06
中村輝子 1aO04
〃 1aO05
中村敏英 2aO05
中村俊博 2pB06
中村典子 3aJ10
中村正展 2aI08
中邨真之 1aI01
中村美砂 2aB02
中村美奈子 1pJ17
中村保一 1aD01
〃 2aB01
〃 2aB06
〃 2aB07
〃 3aB03
中村考志 2pH05
中村保典 2aJ04
〃 2aJ05
中村百合子 3aJ07
中村祥浩 1pB10
仲本準 1pO06
〃 1pO07
〃 1pO08
中森審 1aB03
中森ちひろ 1aF05
中森鈴奈 1pG16
中谷浩太郎 3aL01
長屋敦 1pK15
中山克大 2aO12
〃 3aL04
中山真義 2pH03
中山優子 2aN13
中山裕子 3aD02
中山依子 1aO05
柳楽洋三 1aG13
名田和義 2aO09
成田典之 2aF05
鳴坂真理 S1-10
〃 S1-4
〃 2pO04
〃 2pO05
〃 3aC11
鳴坂義弘 2aO04
〃 2pO04
〃 2pO05
楠城時彦 S1-04
〃 1aL02
〃 1pL14
〃 1pL15
〃 3aC11
南條洋平 2aD11
〃 3aI01
難波千営子 3aI12
南原英司 1aH03
〃 3aG05
南森隆司 1aK01
〃 1aK02
〃 1aK03
〃 1pL03

— に —

新関稔 2aB10
新濱充 2pI09
二階堂修 2aL04
西井照美 2pK05
西内巧 2pO10
西尾純子 1pL13
西川伸一 2pF06
錦織雅樹 S4-5
〃 3aO07
西澤直子 1pD07
〃 2aN12
〃 2aN13
〃 2aN14
西澤洋子 2aA11
西田生郎 2aI08
西谷和彦 1pG05
〃 3aC07
西谷千佳子 1aG03
西谷哲哉 1aK04
西浜竜一 3aD09
西原昌宏 2aA06
〃 3aO02
西村いくこ 2aI04
〃 2pI06
〃 2pI08
〃 2pI10
〃 3aF06
〃 3aI12
西村勁一郎 1pB10
西村浩二 1pK15
西村繁夫 2aA10
西村泰介 2pF09
西村崇史 1pB07
西村宜之 1aH01
〃 3aL07
西村幹夫 1aF01
〃 1aF02
〃 1aF03
〃 1aF04
〃 1aF05
〃 2aI04
〃 2pI06
〃 2pI07
〃 2pI08
〃 2pI10
〃 3aF06
〃 3aI12
西村実 1aI11
〃 3aK07
西村芳樹 1pF05
西本完 2aD01
西山佳孝 1aB10
〃 1pO04
〃 1pO10
西山りゑ 1aD02
西脇妙子 1pD03
二艘木宣匡 1pI05
新田浩二 1pO07
新田貴子 1pK10
二藤和昌 1aF03
〃 2pI07
二村美佳 2aC05
丹生谷博 1pH09
〃 2pH08
丹羽康夫 1pF07
〃 1pF19
〃 2aA12

— ぬ —

沼寿隆 2aL01

— ね —

根岸孝至 1pD07
〃 2aN12
根岸容子 1aO04

— の —

能年義輝 1aH02
野口章 2pN04
野口享太郎 2pJ06
野口航 1pO13
野口巧 A02
〃 1pA15
野口哲子 3aI09

野崎亜沙美 1pL01
野沢彰 2aD08
野澤彰 1aK08
野路征昭 S1-12
〃 1pJ15
〃 2aJ02
野末雅之 1pI13
野田健司 3aF02
野田響 2aH01
野田裕介 3aB01
野中泰樹 1pI08
野平英樹 3aL05
野又毅 1pO18
野村港二 1aG07
野村崇人 2pH08
〃 2pH09
野村美加 1pC11
〃 1pC14
〃 1pC15
〃 1pC16
〃 1pC17
〃 3aB02
野村美子 2aA10

— は —

萩尾美樹 1pB15
〃 2aI06
〃 2aI11
〃 2pA09
萩原充 1pF17
橋本晶子 1pD06
〃 2aO05
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
橋本和宣 1pF14
〃 2aB02
橋本研志 1pO11
橋本純治 3aD01
橋本純治 3aD12
橋本隆 2aF03
〃 2aF04
〃 2aF05
〃 2aF06
橋本徹 2aL04
橋本有加 2aB12
橋本由香里 1aD07
蓮沼仰嗣 1pD15
長谷俊治 1aA03
〃 1aA04
〃 1aA05
〃 1pF04
〃 2aC11
〃 3aJ09
長谷川功 2pN04
長谷川桂子 1aI02
長谷川宏司 1aH10
〃 1aH11
〃 1aH12
〃 1pH01
〃 2aK02
長谷川賢 1pK10
長谷川剛 1pH01
長谷川久和 2aA11
馳澤盛一郎 1pJ13
長谷部光泰 1pH02
〃 3aD08
畑信吾 1pC12
〃 1pC13
〃 1pC18
〃 2aF07
羽田野敦史 1aC03
波多野康裕 2pH05
服部真 2pC07
服部昌己 1aF06
服部嘉行 2aB09
初山慶道 2pO09
花岡秀樹 3aF02
花田篤志 2aH11
花田智 1aC07
花田信弘 2aA09
馬場啓一 2aG10
馬場茂治 1pI13
土生芳樹 2aB13
濱田玲 1aL05
〃 1aL10
〃 1aL12
濱田隆宏 2pG01
濱田達朗 2aA02
濱野敬史 1pO17
浜満寛子 2aI07
早川孝彦 1aL05
〃 1pO03
〃 2aO08
早川俊彦 1pC01
〃 1pC02
〃 1pC05
〃 1pC06
〃 2aC01
〃 2aC02
〃 2aC03
早川佳宏 1aC11
林隆久 2pG03
林高見 2aO12
林建樹 3aC05
林尚美 2pJ08
林徳子 1pG09
林秀則 1aK09
〃 1pO04
〃 1pO09
〃 1pO10
〃 1pO16
〃 3aD06
〃 3aL12
林浩昭 1aH06
〃 1pI15
〃 2pF06
〃 2pJ06
〃 2pJ09
〃 2pK01
〃 2pK02
〃 2pL07
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 3aF02
林潤 1aF03
林誠 1aF02
〃 1aF03
林誠 1pC11
〃 1aF04
〃 2pI07
〃 3aI12
林幹夫 1aD03
林八寿子 2pI06
林泰行 1aL05
〃 1pO03
〃 2aO08
林崎良英 S1-04
〃 3aC06
〃 3aC11
林田信明 1aF07
〃 1pJ17
〃 2aA12
早瀬亜紀子 2aJ02
早間良輔 1pD08
原徹夫 1pL05
〃 1pL06
〃 2aN02
原正和 2aO07
原田明子 1aJ12
原田久也 2aJ05
原田二朗 1aC07
〃 1aC10
原田二郎 1aC11
原田尚志 1pB12
伴浩志 2pI01
半澤咲子 1pC02
坂野弘美 1aG06
馬場真里 1pC13
バイア -, ヒルトブルグ 1aI06

— ひ —

樋江井祐弘 2pJ03
東正一 3aK06
東谷篤志 1aD06
〃 1aO06
〃 3aL02
東山哲也 S3-5
〃 1pF05
樋口雅之 S9-4
樋口美栄子 1pA15
肥後健一 1pD06
久田明子 2aJ09
久堀徹 1aA12
〃 1pB01
〃 1pB02
日紫喜隆行 2pO07
日出間純 2aL08
〃 2aL09
〃 2aL10
一橋礼子 1aO03
檜原健一郎 2aF10
日原由香子 2pA03
〃 2pC09
〃 2pC10
日比忠晴 1pK01
日比野隆 1aL07
〃 1aL08
〃 1aL09
〃 1aL10
〃 1aL11
〃 1aL12
〃 1pO02
〃 1pO03
日尾野隆 1pL16
〃 2aG10
日比野浩之 1aI01
檜山哲夫 1aA07

〃 1aA08
日吉徹 2pJ03
平井篤志 2aB03
〃 2pL05
〃 3aD12
平井優美 S1-12
平井学 1pL13
平岡美緒 1aO04
平賀勧 2aK09
平澤栄次 1pD13
平沢賢一 2pL08
平田晋也 1pG13
〃 1pG14
平田徳宏 1aI03
平津圭一郎 1pK02
平野昌行 3aL10
平林周一 1pH09
平林哲夫 1pH04
平間岳史 1pF03
平山隆志 S1-20
〃 S6-5
〃 1aF11
〃 1aH01
〃 3aC12
〃 3aL07
平山真裕子 2aK14
広内篤久 2aL08
〃 2aL09
〃 2aL10
廣瀬竜郎 2pJ01
廣田敦子 1pC18
廣近洋彦 2aJ04
〃 2pH07
〃 3aG02
廣津直樹 1aB04
広橋利哉 3aI05
〃 3aI06
〃 3aI07
日渡祐二 3aD08
黄継栄 3aD10

— ふ —

深尾陽一朗 1aF04
深城英弘 2aF01
深澤壽太郎 2aH12
深沢（赤田）朝子 2pO09
深見裕之 1pI18
深谷智子 2aO07
深谷泰子 1pB18
深山浩 2pB03
福井晴隆 1pD10
福井雅子 2aI09
福井祐子 3aJ09
福澤秀哉 S1-18
〃 1aD01
〃 1pB13
〃 2pC01
〃 3aB03
〃 3aK12
〃 3aL11
福田あかり 1aH06
〃 1pI15
福田篤徳 1aJ07
〃 1aL01
〃 1pJ04
福田直子 2pH03
福田裕穂 S1-8
〃 1aG01
〃 1aG02
〃 1aG03
〃 1aG04
〃 1aG05
〃 1aG10
〃 1aI09
〃 1pH16
〃 2aG07
〃 3aF05
福永一成 2aC07
福原敏行 3aO01
福世妙子 3aJ05
福家貴子 1pC16
藤井伸治 1aO06
〃 1aO07
〃 2aD13
〃 2aD14
藤井文子 1pD06
〃 1pD07
〃 2aO05
〃 2aO12
〃 2pJ04
〃 2pN06
〃 2pO09
〃 3aC01
〃 3aK05
〃 3aO09
藤井律子 1aC09
〃 1aC11
藤岡昭三 S6-7
〃 2pH02
〃 2pH03
〃 2pH06
藤川清三 1pO12
〃 2aO11
藤川愉吉 1pI01
藤川律子 1pI01
伏木田地 2aG12
藤澤由紀子 1pH08
藤重直子 3aL07
藤田知道 1pH02
〃 3aD08
〃 3aO08
藤田直子 2aJ04
藤田秀知 3aG09
藤田美紀 S1-04
〃 1aL02
〃 1pL14
〃 3aC11
藤田泰成 1pL14
藤田祐一 2aC11
藤野貴奈 2aL08
〃 2aL09
冨士原智子 2pC03
藤原伸介 1pC07
〃 1pC10
藤部貴宏 2aL03
藤巻秀 2pJ09
藤村達人 1aI08
〃 2aI01
〃 2aJ06
〃 3aJ12
藤森玉輝 2pA03
藤原沙都姫 2pO08
藤原詩織 1pI18
藤原祥子 1pL07
藤原すみれ 1pD09
藤原徹 S1-12
〃 S1-2
〃 1aH06
〃 1pI15
〃 2pJ06
〃 2pJ09
〃 2pK01
〃 2pK02
〃 2pN06
〃 2pN07
藤原敏道 1aC08
藤原誠 2pH04
藤原正幸 2aK08
二村典宏 1aD08
舟木俊治 2aF08
船附秀行 2pG04
降旗敬 1pK07
古市健太郎 1aC09
古市卓也 1pJ02
古川創 2aC02
古澤宏好 2pA01
古田和久 1aD03
古橋勝久 1aG08
古本強 2aF07
〃 2pB07
〃 3aB08
〃 3aB09
古谷雅樹 2aJ09

— へ —

別所英男 3aG10
別府敏夫 1pD12
逸見健司 1aG04
〃 1pD14
〃 2pN03
逸見隆博 1pA08

— ほ —

包定輝 1aK10
北條雅也 1aA01
朴杓允 2pO04
〃 2pO05
星名哲 1pO05
星野徹 1pF13
星野大 1aA05
細尾佳宏 1pJ05
保尊隆享 1pG01
〃 2aG05
〃 2aG09
〃 2aN04
〃 2pG02
堀田幸嗣 2pC07
保浦徳昇 1aH02
〃 1pH10
堀孝一 2aA14
堀秀隆 2aD11
〃 2aD12
〃 3aI01
〃 3aI02
〃 3aO05
堀口吾朗 1aG01
〃 1aG02
堀越真喜子 3aC02
洪治 2pH02
本多幸子 1pD06

〃 2aO05
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
本田裕 3aJ06
(故) 本間隆 S9-5
本間美智紀 2pI01
馬建鋒 2aN06
〃 2pJ05

— ま —

前忠彦 1aB04
〃 1pB03
〃 1pB04
〃 1pB05
〃 1pB14
前川賢司 3aF11
前川雅彦 3aG07
前島正義 1aJ01
〃 1aJ06
〃 1pI18
〃 1pJ03
〃 1pJ07
〃 1pJ08
前田真一 1aJ05
〃 1pB08
前田史子 2aA09
前田正洋 1aA05
前原有美子 2aK03
牧英樹 1pC06
〃 2aC01
牧野周 1aB04
〃 1pB03
〃 1pB04
〃 1pB05
〃 1pB14
正井秀樹 1aD03
政池由佳 3aI09
政田正弘 1aI04
正元和盛 2pC05
増川一 2pC02
増田真二 1aC12
増田進 2aH03
増田大祐 2pO10
増田建 1pK14
〃 2aI05
〃 2aI06
〃 3aC02
増田宏志 2aD01
〃 2aD02
増田芳雄 1aO05
増田太郎 2aA01
増村威宏 3aO06
町田千代子 2aF12
〃 2aF13
町田泰則 1pF09
〃 2aB11
〃 2aF12
〃 2aF13
〃 3aD07
〃 3aD09
〃 3aO08
松井恭子 1pK02
松井啓祐 1aG11
〃 1pG15
松井健二 2aI07
松井博和 2aK09
松井南 2aL06
〃 2aL07
〃 3aC10
〃 3aC13
〃 3aC14
松浦克美 1aC07
〃 1aC10
〃 1aC11
〃 1aC12
松浦京子 3aB01
松浦啓一 1pG03
松浦誠司 2aD14
松尾志央 1pA11
松尾真介 1aK04
松尾友明 2pH05
松尾充啓 1aB12
松岡健 S1-8
松岡大介 1aK01
〃 1aK02
〃 1aK03
松岡英明 1pO11
〃 3aO03
松岡信 S9-6
〃 1pH05
〃 1pH07
〃 1pK17
〃 2aD06
〃 2aH06
〃 2aH07
〃 2aK05
〃 2pH02
〃 3aB02
〃 3aG04
〃 3aG11
松岡正佳 2pC06
〃 2pC07
松倉千昭 2pJ03
松崎雅広 1aC05
〃 2aB12
〃 2pN08
松崎素道 1pF11
松鹿昭則 1pD04
松下茜 2aH13
松下保彦 1pH09
〃 2pH08
松島弘和 1pC14
松島良 2pI06
松田修 2pI03
松田奈緒 1pI18
松田長生 3aC05
松田信行 1pJ06
松田憲之 2aK02
松田英幸 2aA15
松田優子 3aG08
松田祐介 1pB12
松田吉弘 1aD01
〃 1aK01
松永幸大 1aD04
松永是 2pC03
松永俊朗 1pG09
松野倫代 3aJ02
松葉修一 2pG04
松林嘉克 1pH16
松原謙一 3aC06
松原俊介 2aI02
松原未央 1aO04
松村志保 1pC02
松村浩由 3aB08
松村牧 2aI12
松本菜々子 3aK10
松本任孝 1aG12
〃 2aF08
松本英明 S8-5
〃 1aJ11
〃 1pG17
〃 2aN03
〃 2aN04
〃 2aN05
〃 2aN07
〃 2aN09
〃 2aN10
〃 2aN11
松本光史 2pC03
松本美保 S9-4
松山崇 2pL01
〃 2pL07
間藤徹 1pG03
〃 2aG11
〃 2pG06
円由香 2aA04
真鍋勝司 1pK16
〃 2aL06
〃 2aL07
真鍋幸子 S1-17
真野純一 1pB17
真野昌二 1aF01
〃 1aF03
〃 1aF05
〃 2pI07
間山智子 2pF10
圓山恭之進 1pK05

— み —

三浦明日香 2aD07
三浦謙治 1aD01
〃 3aB03
三浦節子 2aA03
三浦正幸 3aF04
三尾幸子 2aL04
三上浩司 1aK11
三上暁 2aD11
〃 2aD12
〃 3aI02
三木大介 1aI10
三坂裕子 3aF10
〃 3aF11
三澤修平 2aO09
三島絵里奈 1pC08
水門佐保 3aC12
水上元 3aJ02
〃 3aJ04
水谷正子 3aJ10
水谷正治 1pI08
〃 2pH01
水谷（福知）正子 3aJ09
水野暁子 1pJ14
水野幸一 1aI08
〃 2aI01
〃 2aJ06
〃 3aJ11
〃 3aJ12
水野昇治 1pJ14
水野猛 S6-4

〃 A03
〃 1pD04
〃 1pD05
水野秀雅 2aD14
三角修己 1pF05
溝井順哉 2aI08
溝口正 1aC08
溝田年伸 1pI11
三ツ井敏明 2aD11
〃 2aD12
〃 2aK05
〃 3aI01
〃 3aI02
〃 3aO05
三井久幸 1pC11
三井路子 1aI04
光田展隆 2aJ11
〃 2aJ12
三橋尚登 1aJ06
〃 1pJ16
光原一朗 1aO08
〃 2aK10
〃 3aF04
〃 3aO04
光原一郎 1pK01
〃 3aD01
水戸千恵 2aC14
三藤値栄 2aN07
皆川純 1aB03
〃 1pA02
〃 1pA13
南杏鶴 2aO11
南栄一 2aK02
〃 2aK04
〃 2aK05
〃 2aK06
〃 3aC08
南澤究 1pC11
湊本芳朗 2aD03
峯利喜 2pJ03
峰雪芳宣 2aJ08
三野広幸 1pA13
〃 1pA17
〃 2pA05
三野真布 1aH07
〃 3aF10
〃 3aF11
蓑田歩 2pB08
耳田直純 2aB10
三村徹郎 1aJ06
〃 1pJ16
〃 1pL01
三室守 2pA04
宮内成真 2pH06
宮尾安藝雄 2aJ04
宮尾光恵 3aB02
宮川功 1pG03
〃 2aG11
宮川佳子 3aB01
宮城島進也 1pF11
ミャグマースレンセンギー 1pI03
三宅親弘 1aB08
〃 1aB09
〃 1pL11
三宅寛子 2aJ07
三宅博 1aJ08
〃 1aJ09
宮腰聡 1aG09
宮坂均 2aO08
宮沢豊 1pF06
宮治真紀子 3aL10
宮下京子 2aG02
〃 2aG03
宮下英明 2pA04
〃 2pC03
宮島一徳 1pF03
宮田幸典 2pN08
宮田有希 1pF18
宮地重遠 2pA04
宮本健助 1aO03
宮脇香織 S9-4
三好泰博 1aF06
〃 2aI09
三輪京子 2pJ06

— む —

向井譲 1aD08
六笠裕治 3aJ06
向畑元博 3aG04
牟田孝洋 1pK15
武藤尚志 S10-5
〃 1aD05
〃 1pJ02
〃 2pO01
武藤隆 2pG06
武藤秀樹 1pD15
宗景ゆり 1aA01
〃 1aF12
村井麻理 3aL06
村井祐介 3aO01
村上和雄 3aC06
村上昌吾 1pO16
〃 1pO17
村上高 1aO08
邑上豊隆 2pG04
村上泰弘 2aB08
村上怜子 1pA12
村田隆 2pI02
〃 3aD08
村田紀夫 S1-15
〃 S5-6
〃 1aB10
〃 1aK09
〃 1aK11
〃 2pN09
村田稔 1aF08
〃 1pF13
村田芳行 1pJ01
村中俊哉 1pF06
〃 1pH06
村松正實 3aC11
村松昌幸 2pC10
村山真紀 1aH01
室岡義勝 1pC11
室橋好子 1aI04

— め —

目黒直樹 2pL05
目黒文晃 1aF01
飯哲夫 3aD06

— も —

持田耕平 3aC05
望月伸悦 S9-2
〃 3aK03
〃 3aK04
〃 3aK12
持丸真里 2pC02
本瀬宏康 1pH16
元田弘敏 2aN03
本橋健 1pB01
〃 1pB02
本橋令子 1aF11
森泉 1pJ01
森敏 S8-4
〃 1pD07
〃 2aN12
〃 2aN13
〃 2aN14
森潤一郎 2aI12
〃 2aI13
守隆夫 S6-8
森稔幸 1pF11
森仁志 1pH12
〃 2aN04
〃 3aG12
〃 3aG13
〃 3aG14
森宏樹 3aI04
森昌樹 2pH07
森美穂子 1pJ09
森上敦 1pJ07
〃 2aD06
〃 2pK05
森川弘道 S2-3
〃 2aC06
〃 2aC07
〃 2aC08
〃 2aC09
〃 2aC10
森田重人 1pI11
〃 3aO06
森田茂紀 S8-1
森田勇人 1pO04
〃 1pO09
〃 1pO10
〃 1pO16
〃 3aD06
〃 3aL12
森田（寺尾）美代 2pI09
森本泰明 2aI12
〃 2aI13
森谷佳奈美 2aC02
森安裕二 1aF06
〃 1pF07
〃 2aI09
盛山優子 1pO11

— や —

八丈野孝 2pB06
矢尾知大輔 3aB11
矢柄寿一 2pK08
〃 2pO01
矢崎一史 1pJ12
〃 3aJ04
矢崎潤史 S1-19
〃 1pD06
〃 1pD07
〃 2aO05

〃 2aO12
〃 2pJ04
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
〃 3aC08
〃 3aK05
〃 3aO09
矢崎芳明 2pL06
安田周一郎 2pA01
安田周祐 1pI11
安田武司 1aK01
〃 1aK02
〃 1aK03
〃 1pL03
保田浩 2aD01
〃 2aD02
安田浩之 1pF08
安田美智子 1pK10
安森美帆 2pJ06
柳川由紀 3aD01
柳澤修一 1aI03
柳田元継 1aH07
〃 1pD14
矢野明 2aA09
矢野加奈子 1aF06
矢野覚士 1pD16
矢野昌裕 1pC04
〃 1pD08
〃 2aL01
矢原夏子 2pI05
藪田行哲 1pB10
〃 2aO08
矢部寿美子 2aJ09
矢部尚登 1pD15
〃 2aL03
山内清司 1pO09
山内靖雄 1pI07
〃 1pI14
山内雪香 S9-7
〃 2aH10
〃 2aH11
山内喜朗 2pI09
山川博幹 2aK10
山木昭平 3aC03
山口勇 1pK10
〃 2aA07
〃 2pO10
山口五十麿 1aH06
山口和夫 2pO10
山口勝司 2pN09
山口淳二 1pC01
〃 2aC04
〃 2aJ03
〃 2pJ03
山口祥子 1pH11
山口信次郎 S9-7
〃 2aH09
〃 2aH10
〃 2aH11
山口武志 2aK03
〃 2aK04
山口鉄平 3aB09
山口知哉 2aO12
〃 3aL04
山口雅篤 3aJ03
山口雅利 3aD11
山口真弘 3aL09
山口峰生 1pJ10
山口夕 1aD02
〃 2aI03
〃 3aF08
〃 3aF09
山口雪子 2aN09
〃 2aN11
山崎健一 S1-5
山崎聖司 1aO07
〃 2aD13
〃 2aD14
山崎大樹 S6-6
山崎大介 1pB02
山崎高紀 1aF11
山崎映明 1aA07
山崎俊夫 1aA05
山崎誠和 3aI10
山崎秀雄 1aB05
〃 1aB06
〃 1aB07
〃 2pK04
山崎秀将 2aC05
山嵜裕之 1aA11
山崎真巳 2aJ02
山崎宗郎 3aG02
山崎優 1pH08
山崎裕 3aL02
山路隆晴 1pL13
山地直樹 2aD05
山下魏 1pA14
山下博史 1pF08
山下雅道 1aO03
山下円 1pF01
〃 1pF02
山篠貴史 1pD04
〃 1pD05
山田晃世 1pL01
〃 1pL02
山田克幸 1pJ05
山田恭司 1aG08
山田健志 2pI06
〃 2pI10
〃 3aF06
山田小須弥 1pH01
山田聖 1pB09
山田隆 1aK04
〃 1aK05
山田秀徳 2aN09
山田万希子 2pK05
山田光則 1aC07
山田晃弘 1aO04
山田理香 1pL11
〃 2aO10
大和勝幸 2aF14
〃 3aB03
山根由裕 3aO08
山林孝彰 1pD12
山村三郎 2aA06
〃 3aD11
〃 3aO02
山村卓也 1pL09
山村良美 3aJ04
山本淳子 1pI10
山本文子 2aK13
山本勇 1aC05
〃 2aB14
山本和生 2aL08
〃 2aL09
〃 2aL10
山本公子 1pD06
〃 1pD07
〃 2aO05
〃 2aO12
〃 2pJ04
〃 2pN06
〃 2pN07
〃 2pO09
〃 3aC01
〃 3aK05
〃 3aO09
山本啓一 1pI02
山元皓二 2pH07
山本興太朗 1pD15
〃 2aL03
山本純子 S3-2
山本俊哉 3aC05
山本直樹 2pI01
〃 3aK10
山本宏 1aB10
山本弘幸 S4-1
山本真紀 3aI10
山本美恵 1pK09
山本幹博 S4-3
山本泰 S5-1
〃 1pA07
〃 1pA08
山本祐子 1pL04
山本幸美 2aI02
山本洋子 1aJ11
〃 1pG17
〃 2aN07
〃 2aN09
〃 2aN10
〃 2aN11
山本好和 1pA09
山本義治 2aL06
〃 2aL07
山本芳裕 3aK02
山谷知行 1aJ03
〃 1pC01
〃 1pC02
〃 1pC03
〃 1pC04
〃 1pC05
〃 1pC06
〃 1pH14
〃 1pH15
〃 2aC01
〃 2aC02
〃 2aC03
〃 2aC04
〃 2pJ07
〃 2pJ08
〃 2pJ09
梁勝煥 3aF09

— ゆ —

湯淺高志 2pK06
勇田友和 1aO03
湯川泰 1aI02
〃 1aI05

譲原奈津 3aK07

— よ —

楊小東 2pL09
横田明穂 1aB08
〃 1aB09
〃 1pL11
〃 2aA05
〃 2aL11
〃 3aB06
〃 3aG09
横田明穂 3aG08
横田悦雄 1aD05
〃 1pG16
横田一成 1pK15
横田孝雄 2pH08
〃 2pH09
横山正 1pC11
横山峰幸 1pH11
〃 2aI01
横山隆介 1pG05
横山隆亮 3aC07
吉秋斉 3aF04
吉井基泰 S4-5
〃 3aO07
能岡智 1pB13
〃 3aB03
吉岡藤治 2aB10
〃 2aB11
吉岡尚子 1pB18
吉岡博文 2aK12
〃 2aK13
吉岡泰 1pF09
〃 2aB11
吉川暁子 2aA11
吉川彰 2aC05
吉田邦人 S3-2
吉田久美 1pJ09
〃 3aJ08
吉田茂男 S6-6
〃 S6-7
〃 1pF06
〃 1pH03
〃 1pH06
〃 1pK10
〃 2aH01
〃 2aH02
〃 2pH03
〃 2pH04
〃 2pH05
〃 2pH06
吉田滋樹 1aH10
〃 1aH11
吉田静夫 2aO03
吉田卓弘 1aD11
吉田智子 2aJ09
吉田均 1pH13
吉田洋之 3aJ03
吉田真 1aC12
吉田賢右 1aA12
吉田みどり 1pI04
吉田祐子 2aH05
吉武春樹 2pB06
吉次友昭 1aI02
吉野聖 2aJ03
吉野道子 1aI13
吉羽洋周 1pL15
吉原経太郎 2pA01
吉原經太郎 2pA02
吉原静恵 3aK06
吉原毅 1aO02
吉原利一 2aA01
〃 2aN14
吉松孝宏 2pB06
吉村和也 1pB09
〃 1pB10
〃 2aO08
吉本光希 3aF02
吉本尚子 1aJ03
依田寛 3aF08
米倉邦明 1aB09
米倉大造 1aI03
米田英克 S1-17
米田基人 1pI12
米谷竜馬 3aO09
〃 3aO10
米村健 2aL05
米山弘一 2pH08
米山忠克 1aH06
〃 1pC07
〃 1pI15
〃 2pJ06
〃 2pK01
〃 2pK02
〃 2pN06
〃 2pN07
米山奈保 3aJ11

— ら —

羅和容 1aO05
羅申 1pB03
ラポルマドゥスダン 2aL13
ランバインイングリッド 1aI12
〃 1aI13

— り —

李昆志 2pB09
李浄瓊 3aD12
〃 3aD13
李文君 2pL09
力石早苗 1pG17
劉進元 2pL09
劉恵萍 2aB14

— れ —

レピニエクロイック 1aD11

— わ —

若井めぐみ 2pL03
若狭暁 1pC07
〃 2aA11
若杉達也 1aG08
若林和幸 1pG01
〃 2aG05
〃 2aG09
〃 2pG02
若松美紀 3aL12
若見俊介 1pJ07
若山正隆 2pB02
和崎淳 1pL09
〃 3aO09
〃 3aO10
鷲尾健司 2aD10
鷲谷 - 根本節子 1aJ06
和田啓 1pB10
和田敬四郎 1pI06
和田拓治 1aG11
〃 2pF09
和田元 1pB15
〃 2aI06
〃 2aI11
〃 2aO10
〃 2pA09
〃 2pC05
和田雅人 3aG10
和田正三 3aK08
〃 3aK11
渡瀬雄介 2aB03
渡辺明夫 1aI07
渡辺悦子 2pI08
渡辺修一 2pN06
渡辺大輔 2pG05
渡邊崇 2pK08
〃 3aD03
渡辺正 2pA04
渡辺修治 1pH11
渡辺正夫 1aD10
渡辺正勝 3aK06
渡辺理子 3aL11
渡辺正巳 3aF07
渡邊益美 2pN03
渡辺弥生 2aB12
渡邊弥生 1aL04
渡辺雄一郎 2aA14
〃 2pI02
渡邉幸雄 3aF07
渡辺義文 1aK02
和田野晃 2pC04
我彦広悦 3aO08

日本植物生理学会2002年度年会準備委員会

池田巳喜子	岡山県立大学保健福祉学部
一瀬　勇規（広告・募金）	岡山大学農学部
江崎　文一	岡山大学資源生物科学研究所
小倉　　豊	岡山大学資源生物科学研究所
笠毛　邦弘（シンポジウム）	岡山大学資源生物科学研究所
且原　真木	岡山大学資源生物科学研究所
鎌田　　堯（会計）	岡山大学理学部
坂本　　亘	岡山大学資源生物科学研究所
柴坂三根夫	岡山大学資源生物科学研究所
白石　友紀（広告・募金）	岡山大学農学部
高橋裕一郎（プログラム・印刷）	岡山大学理学部
多田　幹郎（懇親会）	岡山大学農学部
谷口　抄子	岡山大学薬学部
中島　　進	岡山大学資源生物科学研究所
中島　秀明（委員長）	岡山大学理学部
中堀　　清（総務）	岡山大学理学部
松本　英明（シンポジウム）	岡山大学資源生物科学研究所
村田　芳行	岡山大学農学部
山本　　泰（総務）	岡山大学理学部
山本　洋子	岡山大学資源生物科学研究所

日本植物生理学会2002年度年会および
第42回シンポジウム講演要旨集

発行日：2002年3月20日
発行者：日本植物生理学会2002年度年会準備委員会
〒700-8530　岡山市津島中3－1－1
岡山大学理学部生物学科
印刷所：中西印刷（株）〒602-8084　京都市上京区下立売通小川東入ル

日本植物生理学会2002年度年会の開催にあたり、下記の企業・団体の方々よりご寄付、展示、広告掲載等の御協力をいただきました。

ここにお名前を掲載し、深く感謝申し上げます。

（2002年2月２０日現在、順不同）

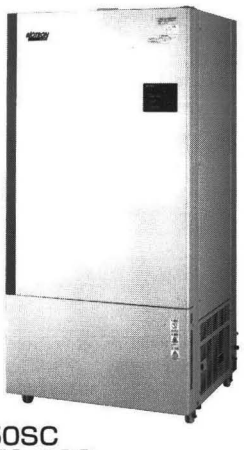
財団法人　岡山工学振興会
倉敷紡績株式会社
旭光通商株式会社
株式会社　秀潤社
株式会社　アースサイエンス
Oxford University Press
日立計測器サービス株式会社
株式会社　バイオメディカルサイエンス
株式会社　日本医化器械製作所
株式会社　ニュートリノ
株式会社　カワニシ
安井器械株式会社
高塚薬品株式会社
株式会社　大熊
学会出版センター
中西印刷株式会社

より使いやすく、よりコンパクトに、ワンランク上の性能を実現!

KCLP-1400ⅡCT
¥744,000
W1,366×D964×H1,965㎜

生物環境調節装置

●温度：+5～40℃
●温度・照明の昼夜2段切替可能
●光触媒（酸化チタン）で脱臭・抗菌
●防カビコート
●3段照明棚付き（30W×3灯）
※他サイズあり



NC-350SC
¥2,570,000
W880×D806×H1,875㎜

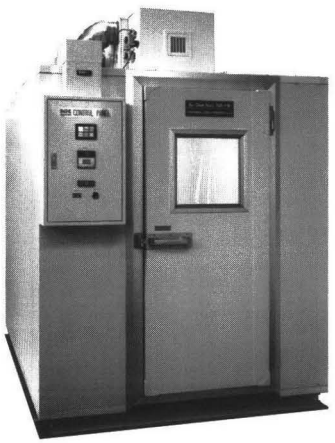
人工気象器

●高照度
●実時間のプログラム制御
（温度・湿度・照度・CO_2）
●温度：+5～50℃
●湿度：50～90%
●照度：0～23,000lx
●CO_2：0～3,000ppm
●内容積：390ℓ
※他サイズあり

BTH-P3-2NC
¥24,000,000
本　体/W2,000×D2,500×H2,912㎜
機械室/W3,600×D2,700×H3,890㎜

バイオハザード対策温室(P3レベル)

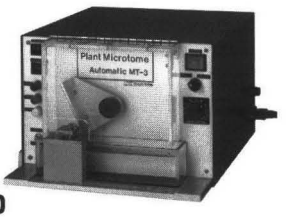
●温度：夏/+25～40℃
　　冬/+15～30℃
●湿度：55～75%
●排水・排気処理
※コンクリート基礎工事費等別途
※サイズ等ご要望に応じた設計可能



TCR-坪数P
¥1,550,000（1坪）～

クリーンルーム

●場所をとらず既設の部屋に容易に設置
●清浄度クラス1,000～10,000
●システムパネル構造のため移設、増設が容易
●高度な培養・品質検査・製品組立など多用途に
●温度：+20～35℃
〈オプション〉エアシャワー、パスボックス
※工事費別途



オートマチック

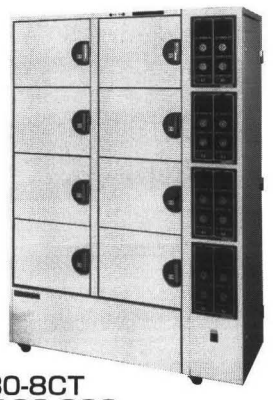
MT-3
¥898,000
W300×D400×H230㎜

手動式

MTH-1
¥350,000
W200×D380×H230㎜

プラントミクロトーム

●植物試料を前処理なしで、生のまま薄く均一な組織標本がつくれます
●研究の他、学生実習にも
＊試料の大きさ…φ12㎜
＊試料の厚さ……0.01～0.7㎜（MT-3）
　　0.01～数㎜（MTH-1）



LH-30-8CT
¥2,180,000
外　寸/W1,253×D602×H1,865㎜
内寸（一室あたり）/W357×D283×H295㎜

バイオマルチインキュベータ

●温度：+5～45℃
（+5～40℃、+10～45℃の範囲）
●1台で8台分の働きをするインキュベータ
●小チャンバー8室は、完全個別に温度・照度コントロール
●温度・照明の昼夜2段切替可能
●エアージャケット方式で、ソフトな冷却

NK system Bio & Clean 研究設備・機器
株式会社 日本医化器械製作所
E-mail：info@nihonika.co.jp

●本　　社／〒550-0002 大阪市西区江戸堀1丁目22番38号――☎06-6443-0712㈹ FAX:06-6445-7641
●東 京 支 店／〒183-0015 東京都府中市清水ヶ丘1丁目3番地8――☎042-365-3245㈹ FAX:042-367-0382
●札幌営業所／☎011-786-7203㈹ FAX:011-786-7204
●仙台出張所／☎022-717-5831㈹ FAX:022-717-5837
●つくば営業所／☎0298-55-7401㈹ FAX:0298-55-7403
●名古屋営業所／☎052-451-7922㈹ FAX:052-451-7924
●福岡営業所／☎092-611-0530㈹ FAX:092-621-9268
●工　　場／☎0729-58-1919㈹ FAX:0729-56-1345

最新情報はホームページをご覧ください　http://www.nihonika.co.jp

ストレスの植物生化学・分子生物学

熱帯性イモ類とその周辺

瓜谷郁三 編著　　B 5 判・300 頁・定価 6090 円（本体 5800 円）

I 序
II 対象植物と病傷害因子
III サツマイモの病傷害に伴う呼吸増加
IV サツマイモの傷害に伴うミトコンドリアなど細胞オルガネラの形成と機構
V サツマイモ貯蔵タンパク質の構造，液胞局在化，および病傷害に伴うその変動
VI サツマイモの病傷害に伴うポリフェノール類の生成・酸化
VII サツマイモの病傷害に伴うクマリン類の生成
VIII サツマイモの病傷害に伴うリグニンの形成
IX サツマイモの病傷害に伴うフィトアレキシンの生成・変換
X サツマイモの病傷害に伴うエチレンの生成
XI 虫害におけるサツマイモの反応
XII 病傷害に対する植物の応答と情報伝達
XIII サツマイモにおける諸ストレス応答の遺伝子発現
XIV 植物，特にサツマイモにおける細胞内・細胞間物質輸送の機構
XV 熱帯性イモ類における低温傷害
XVI 収穫後のキャッサバにおける特異的性質
XVII 収穫後のタロイモにおける特異的性質
XVIII サツマイモの交配育種
XIX サツマイモの遺伝子組換え育種
XX 国際学術協力 ―イモ類研究の現状と課題

花 性と生殖の分子生物学

日向康吉 編著　　A 5 判・290 頁・定価 6800 円（本体 6476 円）

I 雌雄の分化と受粉（概論）
1 雌雄の分化と受粉

II 生殖システムの遺伝的解剖（各論）
A 器官分化
1 花芽と花序の分化
2 双子葉植物の花器官分化
3 単子葉植物の花器官分化
4 雌雄同株植物の雄花と雌花
B 核染色体へのアプローチ
5 性染色体と雌雄性に関わる遺伝子
6 減数分裂と花粉形成
7 配偶子の分化と核タンパク質
C 雌ずいと雄ずいの成熟
8 雌ずい・雄ずいの成熟に関わる遺伝子
9 雄性不稔性
10 花粉の分化と脱分化
11 植物からみた花粉アレルゲン
D 雌雄の相互作用
12 藻類雌雄間のコミュニケーション
13 アブラナ科植物の自家不和合性
14 サツマイモ野生種の自家不和合性
15 ニホンナシの自家不和合性
E 胚 発 生
16 双子葉植物の胚発生
17 単子葉植物の胚発生

呼吸と作物の生産性

J.S.Amthor 著／信濃卓郎 訳・及川武久 監訳
A 5 判・250 頁・定価 3990 円（本体 3800 円）

第 1 章　緒　言
第 2 章　呼吸の機能的モデル
第 3 章　呼吸の生化学
第 4 章　呼吸の生理学
第 5 章　作物の生長呼吸と維持呼吸
第 6 章　作物の呼吸と生長効率
第 7 章　ストレスと呼吸
第 8 章　呼吸と収量
第 9 章　要　約

植物ホルモンと細胞の形

今関英雅・柴岡弘郎 編　花や葉の固有の形はどんな仕組みでできるのか．形態形成の過程を制御するホルモンの生合成や働きに関する最新研究．A 4 ・200 頁・定価 4893 円(本体 4660 円)

植物分子生理学入門

横田明穂 編　分子生物学，生化学，生理学を一つの流れとしてとらえ、様々な植物現象を分子レベルから生化学レベルにわたって解説する．B 5 変・270 頁・定価 4410 円(本体 4200 円)

茶の機能 生体機能の新たな可能性

編集委員：村松敬一郎 (代表)・小國伊太郎・伊勢村 護・杉山公男・山本(前田) 万里
B 5 判・上製・400 頁・定価 7980 円（本体 7600 円）

1 茶の科学研究小史
2 茶の種類と製造
3 茶の化学
4 茶カテキンの体内吸収と代謝
5 茶カテキンの抗酸化作用
6 茶の疾病予防機能
7 茶の生活関連機能
8 茶の特殊成分の機能
9 茶の多用途利用
10 茶の生産・需要の動向
11 茶の機能研究の将来展望

植物ホルモンと私

戦後 研究の国際的発展の中で
増田芳雄 著　　四六判・280 頁・定価 2100 円(本体 2000 円)

キミ 見てみんか

この素晴らしき植物の世界
柴岡弘郎 著　　四六判・250 頁・定価 2100 円(本体 2000 円)

※ 詳しい目次は，ホームページでご覧になれます。（ http://www.jssp.co.jp/ ）

〒113-0033 東京都文京区本郷 6-2-10　Tel.03-3814-2001／Fax.03-3814-2002
ホームページ；http://www.jssp.co.jp/　E-mail；info@jssp.co.jp
学会出版センター

立体8の字運動による打撃・剪断力破砕・粉砕機(PAT)

マルチビーズショッカー

多検体細胞破砕機

DNA・RNA抽出・探索研究のスピードアップ!

バイオハザード対策(サンプルホルダー取外し可能・オートクレーブ滅菌可能)

卓上型

外形寸法:370W×476D×510H

第23回発明大賞で発明功労賞を受賞!

平成13年度大阪府発明実施功労者賞を受賞!

静かな運転音 AC100V

●仕様及び外観は、改良のため何の予告もなく変更する場合があります。
※別紙仕様書をご参照下さい。サンプルの処理方法により各種機種を揃えておりますのでお問い合わせください。

特 徴

■ 硬い組織(臓器・歯・骨・珊瑚・昆虫・木材チップ・穀物・種子・イネ生葉・クロレラ等)から微生物まで市販のディスポーサブルチューブ内(密閉状態)で破砕可能!
サンプル間のクロスコンタミネーションがありません。
■ 冷却破砕用ホルダー(0~5℃で破砕可)も製作いたします。(微生物用)
■ DNA・RNA・酵素・蛋白質・脂質・糖質の抽出に最適!
■ 一度に多検体の破砕が可能。(2㎖:24~56本、12㎖:3~8本、50㎖:3 ~4本、
96ディープウェル:2枚<1.2㎖:192本>等)
■ サンプル量は2㎖のチューブの他、0.5㎖ ~50㎖等までの市販のチューブ・
96ウェルがホルダーに取付可能(オプション)。特殊チューブも製作可能。

用 途

■ 皮膚組織などから微生物のDNA抽出・臓器などからウイルスのRNA抽出
■ イネ生葉・米粒・麦芽からDNA・RNA抽出(液体窒素による凍結破砕も可)
■ ヒトがん組織・骨・歯からのDNA・RNA蛋白抽出(薬理試験・科学捜査研究等)
■ 大腸菌からの活性あるS30画分の抽出等(低温破砕ホルダー使用による)
■ 活性汚泥中の微生物からのDNA抽出(低温破砕ホルダー使用による)
■ 各種動物組織からのプリオンタンパク質抽出(BSE検査キットに対応)

製造発売元 安井器械株式会社

〒534-0027 大阪市都島区中野町2-2-13 TEL.06-6353-7291(代表) FAX.06-6353-0217 E-mail:mb@yasuikikai.co.jp
〒108-0014 東京都港区芝5-9-12 金沢ビル1階 TEL.03-5443-8489(代表) FAX.03-5443-6430 http://www.yasuikikai.co.jp

すべての研究者のトータルサポート

株式会社 大熊

-迅速な情報提供と最新技術によるコンサルティング-

株式会社　大熊は理化学分野での長年の経験と実績を積み重ね、国内外の優れた製品の普及に努め、研究者の皆様と共に未来へ進んでいくため安心してご利用いただける環境の整備に取り組んでおります

本社
〒701-0165 岡山市大内田 756 番地 3
TEL(086)293-2171(代)
FAX(086)292-0830
E-MAIL:ookumaki@po.harenet.ne.jp

倉敷支店
〒712-8044 倉敷市東塚 6 丁目 4 番 51 号
TEL(086)455-8895(代)
FAX(086)456-2057
E-MAIL:okuma@bronze.ocn.ne.jp

津山営業所
〒708-0842 津山市河辺 1073-1
TEL(0868)26-8701
FAX(0868)26-8702
E-MAIL:okuma-t@mx9.tiki.ne.jp

植物生理学 洋書案内 *from* Kluwer Academic Pub.

Signal Transduction in Plants: Current Advances
edited by **S.K. Sopory, Ralf Oelmüller** and **S.C. Maheswari**
Dec. 2001 Hard 340pp. ISBN0-306-46671-6 ¥23,730

This book is the proceedings of the first ICGEB Symposium on Plant Signal Transduction, held 4—6 October, 1999, in New Delhi, India.

Plant Cell Walls
edited by **Nicholas C. Carpita, Malcolm Campbell,** and **Mary Tierney**
Reprinted from PLANT MOLECULAR BIOLOGY, 47:1-2
July 2001 Hard 348pp.ISBN0-7923-7179-8 ¥22,360

Principles of Plant Nutrition, 5th Edition
by **Konrad Mengel, Ernest A. Kirkby, Harald Kosegarten,** and **Thomas Appel,**
July 2001 Hard 864pp. ISBN0-7923-7150-X ¥60,200
July 2001 Paper 864pp.ISBN1-4020-0008-1 ¥13,760

Plant Gene Silencing
edited by **M.A. Matzke** and **A.J.M. Matzke**
Reprinted from PLANT MOLECULAR BIOLOGY,
Nov. 2001 Hard 308pp.ISBN0-7923-6382-5 ¥21,500

Regulations of Photosynthesis
edited by **Eva-Mari Aro** and **Bertil Andersson,**
ADVANCES IN PHOTOSYNTHESIS AND RESPIRATION 11
Aug. 2001 Hard 640pp. ISBN0-7923-6332-9 ¥44,720

表示の価格には消費税は含まれておりません。なお価格は為替の変動、原価の改定などにより予告なしに変更されることがございます。予めご了承下さい。コンテンツ、入荷状況、割引等については本社販売促進部までお問い合わせ下さい。

日本総代理店　株式会社　ニュートリノ
海外学術出版物販売: 書籍・雑誌・ソフトウェア　マイクロフィルム・バックナンバー
本 社:〒182-0024 東京都調布市布田 1-44-3 高橋ビル TEL:0424-84-5550　FAX:0424-84-5556
e-mail: promotion@neutrino.co.jp　　http://www.neutrino.co.jp/

人と人のふれあいを大切に、
明日の医療と研究への貢献を目指して・・・

高塚薬品株式会社

取扱品目

研究・分析試薬・理化学器機・体外診断薬
バイオ研究・遺伝子工学研究用試薬

TEL 086(252)5221 E-Mail : cmd@takatsuka.co.jp
FAX 086(252)5224 URL : http://www.takatsuka.co.jp

Kawanishi

医用材料から
設備機器までを
総合的に

(株)カワニシは、医療・理科学に関わる
材料から設備機器までをより深く、より広く、
総合的に支援致します。

株式会社カワニシ

本　　社　〒700-8528 岡山市今1丁目4-31 TEL (086)241-1112 FAX (086)241-594
岡 山 支 店　〒700-8528 岡山市今1丁目4-31 TEL (086)241-1112 FAX (086)241-594
広 島 支 店　〒730-0825 広島市中区光南3丁目7-27 TEL (082)249-1121 FAX (082)249-506
四 国 支 店　〒791-2112 伊予郡砥部町重光241-3 TEL (089)956-7008 FAX (089)956-293

情報処理印刷

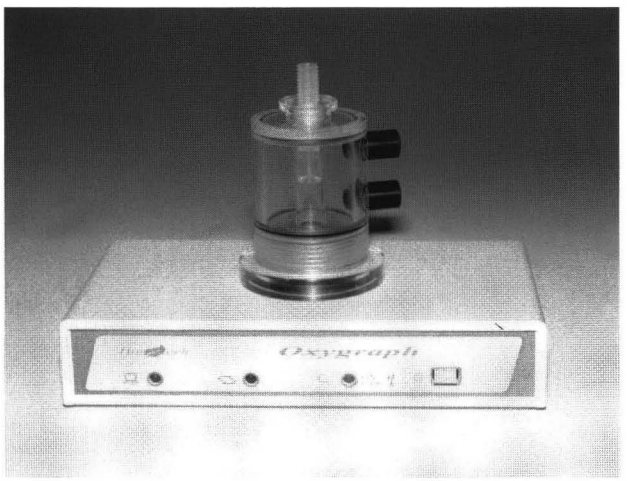
フロッピーディスク・MO・電子メールが印刷へ直結

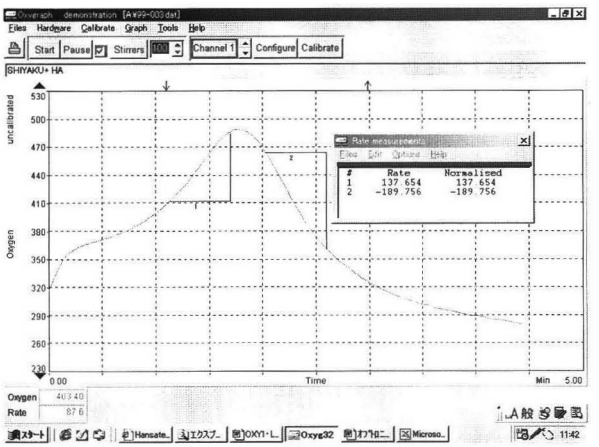
中西印刷株式会社

取締役社長 中 西 隆 太 郎

京 都 本 社 〒602-8048 京都市上京区下立売通
小川東入ル 西大路町146番地
tel.075-441-3155 fax.075-441-3159
東京連絡所 tel.03-3861-7827 fax.03-3864-6590
URL http://www.nacos.com/nakanishi
E-mail info@nacos.com

液相・酸素電極コントローラー　OXY-1





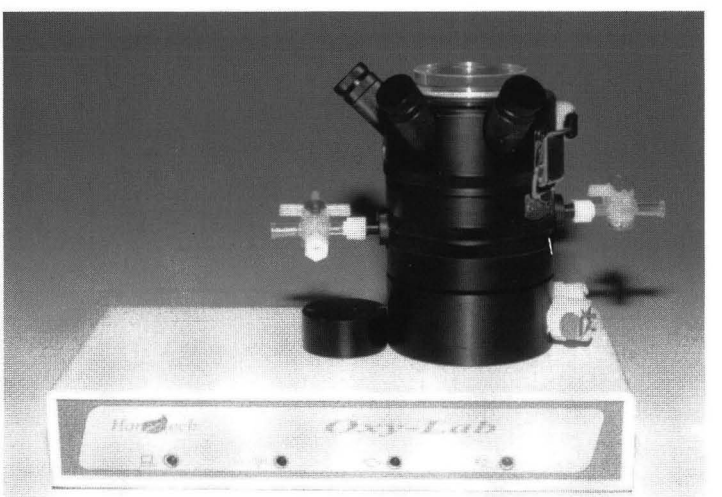
OXY-1は、液相専用の酸素電極コントローラーです。
コントローラーにスターラーが組込まれた構造で、反応容器DW1、DW2/2、DW3と組み合わせ、呼吸による酸素吸収や光合成の測定に使用します。
従来の機種は、測定値をペンレコーダーに記録する方式でしたが、OXY-1では測定値をパソコンで処理し、リアルタイムに画面を表示します。
測定間隔は0.1秒に1回から10秒に1回まで7段階あり、1週間以上の連続観測にも対応できます。
画面上のグラフにマークを付けたり、酸素量の変化速度を、自動で計算できる機能もついています。
パソコンで処理したデータはASCIIで保存することもでき、エクセルで解析することもできます。また、反応容器内と電極の温度を制御できるOXY-Tもあります。

液相・ガス相モニタリングシステム　OXY-LAB

OXY-LABは、液相とガス相の両方が測定できる、酸素電極コントローラーです。
液相用DW1、DW2/2、DW3と、ガス相用LD1/2、LD2/3と組み合わせて使います。

OXY-LABの機能

- LED光源（LH11/RまたはLH36/2R）を、サンプルに照射する輝度、間隔、時間等ソフトで自動コントロールできます。
- 温度センサーのQTP1のポートも用意してあり、温度も同時に記録できます。



日本総代理店
旭光通商株式会社

〒151-0063　東京都渋谷区富ケ谷2-21-10　木島ビル
TEL：03-5453-6501　FAX：03-5453-6506
http://www.kyokko.com　E-mail：info@kyokko.com