

日本農芸化学会中四国支部  
第2回講演会

講演要旨集

日時：2002年1月26日(土) 13時開会  
場所：香川大学農学部

日本農芸化学会中四国支部

## 特別講演および一般講演プログラム

### 特別講演 (13:00 ~ 14:00)

1. 「希少糖研究と産学官連携」 (座長: 早川 茂)  
何森 健 (香川大学農学部教授, 香川大学希少糖研究センター長)
2. 「界面活性剤組織体溶液の諸性質」 (座長: 合谷祥一)  
深田 和宏 (香川大学農学部助教授)

### 一般講演 (14:00 ~ 16:24)

- (座長: 木村義雄 香川大・農)
1. ポリエチレンの微生物分解に基づく数学モデルと数値シミュレーション  
河合富佐子, 渡辺雅二\*, 柴田 勝\*\*, 横山茂雄\*\*, 巢立康博\*\*  
(岡山大・資生研, \*岡山大・環境理工, \*\*旭化成(株))
  2. 枯草菌の孢子形成に必須なアスパラギン合成酵素 AsnO の解析  
吉田健一, 藤田泰太郎  
(福山大・工・生物学)
  3. *Bacillus thuringiensis* が産生する殺虫性蛋白質の膜結合特性の解析  
安田幸生, 津田梢子, 山際雅詩, 酒井 裕  
(岡山大院・自然科学)
  4. 双翅目昆虫特異的 Bt トキシンCry11Aの活性型分子と膜結合特性の解析  
小川瑠里子, 山際雅詩, 酒井 裕  
(岡山大院・自然科学)
- (座長: 高田悟郎 香川大・農)
5. *Bacillus thuringiensis* が産生する殺虫蛋白質のハイブリッド構築と機能解析  
近藤恵美, 岡 啓子, 中口亜紀子, 山際雅詩, 酒井 裕  
(岡山大院・自然科学)
  6. *Bacillus thuringiensis*が産生するクリスタル蛋白質の哺乳類細胞損傷活性とその作用特性  
難波旭利, 山際雅詩, 赤尾哲之\*, 水城英一\*, 大庭道夫\*\*, 酒井 裕  
(岡山大院・自然科学, \*福岡工技セ, \*\*九州大院・農)

- 7 . Characterization of pyridoxal 4-dehydrogenase from *Aureobacterium luteolum* involved in pyridoxine degradation  
Yanee Trongpanich, Yasuo Kaneda, Kouhei Ohnishi, and Toshiharu Yagi  
(高知大・農・生物資源)
- 8 . ビタミン B<sub>6</sub>要求性分裂酵母におよぼすビタミン B<sub>6</sub>拮抗阻害剤と酸化剤の影響  
岩本聡輔, 森田友岳, 竹川 薫\*, 八木年晴  
(高知大・農・生物資源, \*香川大・農・生命機能)  
(座長: 佐藤正資 香川大・農)
- 9 . 非宿主植物培養根が生産する根寄生雑草の発芽刺激物質  
杉本幸裕, 曾野部香里, 安田典史, 稲永 忍  
(鳥取大・乾地研)
- 10 . 西表島産海浜植物の生物資源化研究  
葉部抽出物のガン細胞毒性評価と活性物質の単離  
増田俊哉, 小山保夫, 米盛重友\*, 武田美雄  
(徳島大・総合, \*琉球大・熱生研)
- 11 . ニンジン中の抗発癌プロモーター活性成分とその含量変動  
西川智人, 古本敏夫, 岡崎勝一郎\*, 近藤 昭, 福井宏至  
(香川大・農・生資食化, \*生命機能)
- 12 . Manual evaluation for the identification and the rough dose estimation of frozen chicken meat irradiated with <sup>60</sup>Co-γ-ray using by the modified DNA comet assay  
Jae Ho Woon, Makoto Nakauma\*, Yoshiyuki Murata\*\* and Mikiro Tada\*  
(National Veterinary Research and Quarantine Service, Korea,  
\*岡山大院・自然科学, \*\*岡山大・農)

特 別 講 演

---

講 演 要 旨

# 特別講演 1 希少糖研究と産学官連携

香川大学農学部 何森 健

ある糖の専門書のまえがきに「単糖は生物化学の教科書の最初に出てきて、複雑な無味乾燥な構造が並び、 $\alpha$ -とか  $\beta$ -とかが出てくると学生はもううんざりする。そして単糖が嫌いになる。そのうちアミノ酸、タンパク質、核酸へと進み、どんどん魅力的な生体物質が出てきて単糖は完全に忘れ去られる運命にある。」と書かれていたのを思い出す。この単糖の運命は今も変わっていないと思われる。私はこの忘れ去られる運命にある単糖にこだわって、特に希少糖にこだわって数十年研究を続けてきた。

## 1. 希少糖研究

国際希少糖学会では「希少糖」を「自然界に希に (Rare) にしか存在しない単糖とその誘導体」と定義している。この定義はあいまいである。単糖の分類は無味乾燥なあの構造式の羅列によって、整然と規定されている。希少糖という分類は、質（構造等）による分類ではなく、量（存在量）による分類である。私はこの分類法が好きである。その理由は、生物界の「何か未知の法則」によって分類しているというような感覚が重要に思われるからである。存在量の少ないマイナーな糖を意識的に研究対象とすることによって、新たな知見が見えてくると期待して研究を進めて来た。実は、誰も研究を行っていないのでじっくりとゆったりと研究できるので、こだわった研究ができたというのが実態である。

希少糖を大量に生産するには、原料が大量に入手できる天然型の単糖であること、生物化学的手法を用いることが必須条件となる。この 2 の条件は、天然の原料を用いて天然の生物化学的手法で希少糖を作ることの意味している。これには解決すべき難関があることを直ぐに理解できよう。すなわち、天然型糖と希少糖の高い壁を乗り越える必要がある。この難関に最も重要な役割を果たした酵素がD-タガトース3-エピメラーゼであり、この酵素は希少糖D-タガトースを真の基質とする「希少酵素」であった。この酵素を用いて、天然型の糖D-フラクトースを希少糖D-プシコースへ変換することが可能となった。この希少糖D-プシコースを原料とした、各種の希少糖の生産が可能となっている。

## 2. 産学官連携

文部科学省の地域先導研究によって産学官連携の共同研究を進める機会を得た。量的に少ない希少糖を大量に生産することで用途開発を行い、さらに企業化を目指した基盤的研究が行われた。その結果、希少糖であるD-プシコースをD-フラクトースから大量に生産できるシステムを開発することができた。この産学官の連携した研究開発によって、大学の実験室内での小規模の実験では不可能である希少糖の大量生産が可能になった。大量生産が可能となると、基礎的研究が急速に進み栄養価の測定や各種の生理活性試験も可能となった。スケールアップは用途開発を加速し利用開発への道を開くばかりでなく、希少糖そのものの基本的性質についても明らかにする重要な過程でもある。

香川大学では「香川大学希少糖研究センター」を設立し、産学官の共同研究を基本として、国内外からの異分野の研究者の連携研究が開始された。多くの研究者が希少糖を用いた興味深い成果を出していただき、単糖の復権を願っている。

## 特別講演 2 界面活性剤組織体溶液の諸性質

香川大学農学部 深田和宏

### 【はじめに】

溶液は、化学や生物分野に携わる大抵の研究者や技術者にとって極めて身近な存在であり、様々な溶液系の性質を知っておくことが必要となる場合も多い。溶液に関する学問（溶液学）分野では、希薄溶液、電解質溶液、正則溶液、高分子正則溶液など、分子レベルで無秩序混合した状態にある系が主に研究され、系統化されてきた。ところが、化学・食品工業や生物化学で実際に取り扱う溶液は「無秩序混合状態」とは見なしえないものが多い。本講演では、その様な溶液の基本的な性質に関する研究結果を紹介したい。

### 【組織体溶液（Organized solution）とは？】

溶質分子が溶液内で配向・会合してある種の規則構造を形成している溶液を組織体溶液と呼んでいる〔1〕。界面活性剤分子は分子内に親水基と疎水基を併せ持つため、ある濃度（臨界ミセル濃度：cmc）以上では疎水性相互作用によって分子同士が会合してミセルを形成する。更に濃厚にするとミセルが規則配列し、リオトロピック液晶となる。したがって、界面活性剤溶液は典型的な組織体溶液である。これら組織体溶液の性質は、溶質分子がどのような規則構造体をつくるかによって決まってくる。

### 【溶液内分子集合体の柔らかさ】

ミセルのような分子集合体は「柔らかな構造体」であり、容易に変形する。我々は、種々の界面活性剤のミセルの柔らかさの尺度として、圧縮率（弾性率の逆数）を調べている〔2〕。

溶液の圧縮性は超音波伝播速度と密度の精密測定から算出される断熱圧縮率から見積もられる。更に、断熱圧縮率の濃度依存性から溶質分子の部分モル圧縮率としてミセルの圧縮性が評価される。一般に、ミセル内部の疎水性領域は液体状炭化水素と類似の状態にあると見なされ比較的圧縮され易いが、ミセル表面では親水基の水和によって周囲の水の構造を変化させるため圧縮率を低下させる傾向がある（特にイオン性の界面活性剤は親水基と対イオンによる電縮効果による圧縮率低下の寄与がかなりある）。そのため、得られた結果の解釈は単純にはできないが、大まかな傾向としては、ミセルの圧縮性は通常の液体よりは低く、水溶液内タンパク質よりは高いことがわかった。

「柔らかな分子集合体」としては、生体膜の主成分であるリン脂質が水中で形成するベシクル・リポソームもよく知られている。我々は、ベシクルの構成単位であるリン脂質2分子膜の変形に関する評価も行っているため、そのデータについても紹介したい。

〔1〕 篠田耕三 著「溶液と溶解度 - 機能性溶液・組織体溶液」丸善, (1991).

〔2〕 深田和宏, 清宮懋「音速測定による界面活性剤ミセルの圧縮率評価」表面, 39, 97 (2001).

一 般 講 演

---

講 演 要 旨

## 講演番号1 ポリエチレンの微生物分解に基づく数学モデルと数値シミュレーション

河合富佐子, 渡辺雅二\*, 柴田 勝\*\*, 横山茂雄\*\*, 巢立康博\*\*  
(\*岡山大・資生研, \*\*岡山大・環境理工, \*\*旭化成工業(株))

[目的] ポリエチレン(PE)の微生物分解の実測値と分解の数学モデルから数値シミュレーションを行って、数学モデルの妥当性と生分解限界分子量を検証する。  
[方法] 市販のPEwaxを用いて資化菌の生育前後の分子量を高温GPCで測定した。分子量計算はUniversal Calibration curveにより、PE換算値で行った。  
[結果] PEwaxの微生物分解は土壌からえられた資化性コンソーシアを用いた。コンソーシアには *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*属を含む9細菌が資化性菌として含まれていた。一方、土壌中に埋設したポリエチレンカプセルから資化性糸状菌が分離され、*Aspergillus*, *Penicillium*, *Acremonium*と同定された。これらの資化性菌をPEwaxに生育させて、分解率と資化限界分子量を求めた。その結果、培養後の分子量分布は高分子側にシフトし、低分子画分が消失すること、各分子量画分の分解率からほぼ3,000程度の分子量まで資化可能であることが判明した。PEwaxは一種の*n*-アルカンであるので、分解はterminal oxidationと  $\alpha$ -oxidationに従うと想定し、数学モデルを設定した。数学モデルに基づいて、実測値を用いて数値シミュレーションを行った。その結果、数学モデルは実測値によく一致し、上の想定 of 正しさが裏づけられるとともに、資化限界分子量も一致した。Ref.: F. Kawai et al. *Macromol. Symp.* 144, 73-84(1999); F. Kawai, M. Watanabe et al. *Polym. Degr. Stabil.*, in press.

## 講演番号2 枯草菌の孢子形成に必須なアスパラギン合成酵素AsnOの解析

吉田健一, 藤田泰太郎(福山大・工・生物学)

枯草菌ゲノム解析によって3つのアスパラギン合成酵素遺伝子パラログ (*asnB*, *asnH*, *asnO*)が見出されたが、これらの内*asnB*は正常な細胞増殖の維持に必要であり、*asnO*は孢子形成期の母細胞特異的に発現する(SigE依存)。*asnO*欠失変異株は所謂”光る”孢子を一旦作るのだが、それらは耐熱性がない。また孢子成熟が進むにつれ”光らなく”なる。免疫ブロット法により、この欠陥孢子について代表的な孢子特異的タンパク質の検出を試みたところ、少なくともYrbBが顕著に減少していた。YrbBはアミノ酸組成に特徴があり18%もの多量のアスパラギンを含む。調査してみると孢子特異的タンパク質にはYrbBの様にアスパラギンに富むものが多いことがわかった [YhcN(16%), SspO(15%), SspP(15%)など]。一方、アスパラギン合成能力を失う点変異*asnOC2A*も欠失変異と同様の耐熱孢子形成不全を示した。また、*asnO*の代わりに*asnB*を発現させると、孢子形成の部分的回復が見られた。以上の知見から判断すると、AsnOは孢子へのアスパラギン供給を担っており、これが機能しない場合アスパラギンに富む複数の孢子タンパク質の生産が滞り耐熱性孢子の形成不全を引き起こすのかも知れない。



### 講演番号3 *Bacillus thuringiensis*が産生する殺虫蛋白質の膜結合特性の解析

安田幸生, 津田梢子, 山際雅詩, 酒井 裕  
(岡山大院・自然科学)

Bt菌が産生するBtトキシンは環境負荷が小さく、特異性の高い強力な殺虫蛋白質として注目され、利用されてきた。しかしこれに伴って顕在化してきたいくつかの問題点に対処するためには、Btトキシンの作用機構を解明する必要がある。Btトキシンの殺虫特異性を決定する一つの有力な機構は中腸上皮細胞膜上に存在する受容体との結合の有無であるとされてきた。しかし、我々は、これまでの研究により、カイコに対して殺虫活性を持たないCry4Aがカイコ中腸上皮細胞膜に結合することを明らかにし、Btトキシンの殺虫特異性は膜への結合のみでは必ずしも決定されないことを示唆した。

本研究では、ジゴキシゲニン(DIG)標識したCry1Aa及びCry4Aとカイコの中腸上皮細胞刷子縁膜小胞(BBMV)を用いた膜小胞共沈実験及びリガンドブロッティング法により、Cry4Aのカイコ中腸上皮細胞膜に対する結合特性を検討した。その結果、DIG-Cry1AaのカイコBBMVへの結合は、Cry4Aと競合せず、Cry1AaとはCry4Aは結合部位を共有しないことが強く示唆された。一方、DIG-Cry4Aを用いたカイコBBMVに対するリガンドブロッティングにおいて、Cry4A中腸上皮細胞膜に非特異的に結合する可能性が示唆された。

### 講演番号4 双翅目昆虫特異的BtトキシンCry11Aの活性型分子と膜結合特性の解析

小川瑠里子, 山際雅詩, 酒井 裕  
(岡山大院・自然科学)

【目的】グラム陽性土壌細菌 *Bacillus thuringiensis*の亜種 *israelensis*が産生する殺虫タンパク質Cry11AはCry4Aなどと同様に、マラリアなどの伝染病を媒介する蚊を含む双翅目昆虫に対し特異的な殺虫活性を示すが、その作用機構についてはまだ未解明な点が多い。そこで、Cry11Aの活性化プロセスを詳細に解析することを目的とした。

【方法・結果】70kDaのCry11Aプロトキシンをアルカリ性条件下で可溶化しtrypsin消化を行ったところ、32kDaと36kDaの断片が生成した。また、これら2つの断片はゲル濾過において同一の画分に溶出したことから、32kDaと36kDaの断片は会合し複合体を形成していることが示唆された。Cry11Aのアカイエカ幼虫のBBMV(中腸刷子縁膜小胞)への結合を調べるために、DIGラベルしたCry11Aを用いて膜小胞共沈実験を行ったところ、可溶化Cry11Aと、trypsin処理したCry11AのいずれもがBBMVに結合することが示唆された。さらに、アカイエカ幼虫に対するバイオアッセイにおいてもこの複合体は殺虫活性を保持していたことから、70kDaのプロトキシンから32kDaと36kDaの断片になる分子内切断は、生物活性に影響を与えないことが示唆された。また、DIGラベルしたCry11Aを用いたBBMVタンパク質に対するligand blottingにおいて、30kDaから18kDaのCry11特異的結合タンパク質が存在することが示唆された。

## 講演番号5 *Bacillus thuringiensis*が産生する殺虫蛋白質のハイブリッド構築と機能解析

近藤恵美, 岡 啓子, 中口亜紀子, 山際雅詩, 酒井 裕  
(岡山大院・自然科学)

*Bacillus thuringiensis*が産生する殺虫蛋白質である $\delta$ -内毒素は3つのドメイン(I,II,III)から構成されており、各ドメインがそれぞれ個別機能の決定にあずかっていると考えられてきた。本研究では殺虫特異性の異なる $\delta$ -内毒素のドメインを入れ換えたハイブリッド蛋白質を構築し、 $\delta$ -内毒素の活性発現における各ドメインの機能的寄与の解明を目的とした。

Cry1Cの各ドメインをCry2A及びCry4Aのものに入れ換えたハイブリッド蛋白質をGST(グルタチオン-S-トランスフェラーゼ)融合タンパク質として発現させ精製した。各ハイブリッド蛋白質の昆虫培養細胞Sf9に対する細胞損傷能をLDHassayにより解析した。その結果、ほとんどのハイブリッド蛋白質はSf9に対する細胞損傷能が大幅に減少したが、Cry1CのドメインIIIをCry4Aに置き換えたハイブリッド蛋白質はCry1Cに匹敵する細胞損傷活性を有していた。一方、Cry1CのドメインIIIをCry2Aに置き換えたハイブリッド蛋白質とCry1CのドメインIIIを除いたハイブリッド蛋白質は活性をほとんど示さなかったことから、Cry4AのドメインIIIはCry1Cの機能を相補し得ることが示唆された。さらに、Sf9細胞膜小胞を用いた膜小胞共沈実験によって調べた結果、全てのハイブリッド蛋白質は、細胞損傷能の有無にかかわらず細胞膜に結合し得ることが示唆された。

## 講演番号6 *Bacillus thuringiensis*が産生するクリスタル蛋白質の哺乳類細胞損傷活性とその作用特性

難波旭利, 山際雅詩, 赤尾哲之\*, 水城英一\*, 大庭道夫\*\*, 酒井 裕  
(岡山大院・自然科学, \*福岡工技セ, \*\*九州大院・農)

白血病ガン細胞MOLT-4に対して細胞損傷作用を示す*Bacillus thuringiensis*の亜種*coreanensis*A1519株について、細胞損傷能と作用機構の解析を行った。A1519株クリスタル蛋白質をプロテイナーゼKで活性化し、MOLT-4及び子宮頸部ガン細胞HeLaに対する細胞損傷活性を解析したところ、MOLT-4に対して特異的かつ高い細胞損傷活性を示した。この活性化クリスタル蛋白質をMOLT-4に与えたときの細胞形態変化を観察したところ、MOLT-4に対する細胞損傷作用は細胞膜の破壊を伴わないことが示唆された。また活性化クリスタル蛋白質を与えたMOLT-4をAnnexinV-FITC及びPIで二重染色し蛍光顕微鏡で観察したところ、MOLT-4の細胞死はアポトーシスによるものであることが示唆された。さらに活性化を行ったA1519株クリスタル蛋白質をゲルろ過により分画し、それぞれの画分の解析結果から、29kDa断片を含む画分で細胞損傷活性が確認された。ジゴキシゲニン(DIG)により標識した29kDa断片と細胞膜画分を用いたリガンドプロットの結果から、MOLT-4細胞膜画分に約45kDaの特異的結合蛋白質が存在することが示唆された。一方、HeLa細胞膜画分にはまったく特異的結合蛋白質が検出されなかった。

**講演番号7 Characterization of pyridoxal 4-dehydrogenase from *Aureobacterium luteolum* involved in pyridoxine degradation.**

Yanee Trongpanich, Yasuo Kaneda, Kouhei Ohnishi,\* and Toshiharu Yagi  
高知大・農・生物資源・\*遺伝子実

Pyridoxal 4-dehydrogenase (PLDH, EC 1.1.107) from *Aureobacterium* (= *Microbacterium*) *luteolum*, which can use pyridoxine as the carbon and nitrogen source, was purified and characterized. The enzyme catalyzes the irreversible oxidation of pyridoxal to 4-pyridoxolactone with NAD<sup>+</sup>. The native protein was estimated to be 80 kDa by gel filtration chromatography. The purified enzyme migrated as a single band with a molecular mass of 38 kDa on SDS-PAGE, and had a single amino-terminal sequence, indicating that the enzyme is a dimeric protein. The optimum pH and temperature of PLDH was 8.0 and 30 °C, respectively. The K<sub>m</sub> values for pyridoxal and NAD<sup>+</sup> were about 0.473 ± 0.109 mM and 0.140 ± 0.008 mM, respectively. PLDH could use NADP<sup>+</sup> (K<sub>m</sub>, 1.411 ± 0.215 mM) as a coenzyme. Among various synthetic and natural aldehydes and natural vitamin B-6 compounds, the enzyme only oxidized pyridoxal sufficiently: pyridine 4-aldehyde, pyridine 3-aldehyde, and pyridine 2-aldehyde were oxidized very slowly. Internal amino acid sequences determined with V8-peptides showed fairly high identity with aldose dehydrogenase (EC 1.1.1.122) and putative oxidoreductases of Rhizobiaceae group.

**講演番号8 ビタミンB<sub>6</sub>要求性分裂酵母におよぼすビタミンB<sub>6</sub>拮抗阻害剤と酸化剤の影響**

岩本 聡輔, 森田 友岳, 竹川 薫\*, 八木 年晴  
(高知大・農・生物資源, \*香川大・農・生命機能)

(目的) ビタミンB<sub>6</sub>生合成に必須の遺伝子(*pdx1*)を破壊してB<sub>6</sub>要求性の分裂酵母(*pdx1*株)を得た。*pdx1*株に対するB<sub>6</sub>とB<sub>6</sub>拮抗阻害剤である4-デオキシピリドキシン(4-DPN)の影響を調べた。最近、B<sub>6</sub>の一重項酸素のクエンチャーとしての機能が報告され、分裂酵母を用いた *in vivo*でのB<sub>6</sub>の抗酸化力評価は興味深い。*pdx1*株の菌体内B<sub>6</sub>量と一重項酸素酸を発生するメナジオンの影響を調べた。(方法と結果) 野生株あるいは *pdx1*株をプロット法で各種化合物添加最小培地に植菌し、3日後の菌体生育量を比較した。*pdx1*株は 1, 10 μMピリドキシン(PN), ピリドキサール(PL), 10 μMピリドキサミン(PM)添加培地で良好に生育した。1 μM PMでは生育しなかった。10 μM PM 添加培地では 10 μM 4-DPN、1 μM PN添加培地では 100 μM 4-DPN、1 μM PL 添加培地では1 μM 4-DPNの添加で生育が阻害された。10 μM PN, PL添加培地では100 μM 4-DPNの影響を受けなかった。また、野生株は4-DPNの影響を受けなかった。一方、*pdx1*株は野生株と比較してB<sub>6</sub>の補酵素型であるPL 5'リン酸(PLP)の菌体内量が多く、メナジオン耐性となった。分裂酵母の菌体内PLPと抗酸化力との関連性が示唆された。

## 講演番号9 非宿主植物培養根が生産する根寄生雑草の発芽刺激物質

杉本幸裕, 曾野部香里, 安田典史, 稲永 忍  
(鳥取大学・乾燥地研究センター)

[目的] ストライガ (*Striga hermonthica*) は、アフリカの半乾燥地域における食糧生産に深刻な被害をもたらしている根寄生雑草であり、発芽には、宿主及び一部の非宿主植物の根から分泌される刺激物質を必要とする。我々は非宿主植物のタマサキツツラフジ (*Stephania cepharantha*) 培養根が発芽刺激物質を生産することを見出した。本研究は、この物質を単離することを目的としている。  
[方法] 30 で約14日間前培養したストライガの種子にサンプルを与え24時間培養後の発芽率を計測した。発芽刺激活性が最大となる培養4週目の培地 (1.7 L) から酢酸エチル可溶区を調製し、セファデックスLH-20カラム (20 × 450 mm; MeOH-CHCl<sub>3</sub>=4:1, 20 × 450 mm; 50% MeOH) 及びODS-HPLC (250 × 20 mm; 60% MeOH; 250 × 4.6 mm, 50% MeOH) により分離した。最終のクロマトグラフィーで分離された活性画分のESI-MSを測定した。  
[結果] クロマトグラフィーの結果、顕著な活性を示す1成分が得られ、その挙動はストリゴールと良い一致を示した。ESI-MSにより活性成分の分子量は346であり、ストリゴールと一致した。これらの結果よりタマサキツツラフジ培養根が分泌する物質はストリゴールであると示唆された。

## 講演番号10 西表島産海浜植物の生物資源化研究 葉部抽出物のガン細胞毒性評価と活性物質の単離

増田俊哉, 小山保夫, 米盛重友\*, 武田美雄  
(徳島大・総合科学, \*琉球大・熱生研)

【目的】西表島の多様な植物を新しい生物資源として利用することを目指してその含有有用成分を明らかにする。

【方法および結果】過剰光ストレス下にある海浜植物が有する抗酸化性物質の探索研究において、生細胞の対酸化保護作用を検討した際に、ある種の植物抽出物が細胞に毒性を示すことを見出した。そこで、細胞をがん細胞に変え、その活性成分を検証した。フローサイトメーターを用いて39種の海浜植物葉抽出物のK562 human leukemia cellに対する毒性を評価したところ、正常細胞への毒性と今回のがん細胞への毒性は必ずしも一致しなかったが、ミフクラギ、ハスノハギリ、シマグワ、クロヨナ、サキシマハマボウに10mg/mLで強い細胞毒性を認めた。特にハスノハギリに関しては、30ng/mLまで希釈してもまだ強力な毒性を示したので、その活性本体を明らかにするために、抽出物を分画・精製し、Deoxydopodophyllotoxin(DPT)を単離することができた。さらにハスノハギリ葉中の含量分析により、DPTは0.21%の高含量で生葉中に存在していることもわかった。高含量および比較的簡便な単離操作からハスノハギリ葉は有効なDPT源と期待できる。

## 講演番号11 ニンジン中の坑発癌プロモーター活性成分とその含量変動

西川智人, 古本敏夫, 岡崎勝一郎\*, 近藤 昭, 福井宏至  
(香川大・農・生資食化, \*生命機能)

【目的】ニンジン (*Daucus carota* L. セリ科) は根を食用とする野菜の中では珍しく緑黄色野菜であり、多くの機能性成分が含まれていることが知られている。その機能として、抗癌作用、免疫力増強作用、坑アレルギー作用、紫外線で誘発される皮下の脂質過酸化抑制作用などが報告されている。本研究ではニンジン中の坑発癌プロモーター活性成分とその含量変動について調べた。

【方法・結果】新鮮なニンジンのメタノール抽出物を酢酸エチルと水で分配し、Silica gel、Sephadex LH-20、薄層クロマトグラフィーを用いて精製した。活性成分は、Raji細胞を用いる坑発癌プロモーター活性検定法で検索した。その結果、4種の坑発癌プロモーター活性成分を得た。NMR、MS、UV、IRなどの機器分析に供し、活性成分はいずれも、falcarinol等のアセチレン化合物であることが判明した。今回は、これらの成分の構造解析および坑発癌プロモーター活性の比較と共に、ニンジン各品種における含有量を報告する。

## 講演番号12 Manual Evaluation for the Identification and the Rough Dose Estimation of Frozen Chicken Meat Irradiated with <sup>60</sup>Co-γ-ray using by the Modified DNA Comet Assay

Jae Ho Woon, Makota Nakauma\*, Yoshiyuki Murata \*\*, Mikiro Tada\*  
National Veterinary Research and Quarantine Service, Ministry of Agriculture and Forestry, Korea \*Graduate school of Natural Science and Technology, Okayama University, \*\*Faculty of Agriculture, Okayama University

Objectives: This research describes the manual evaluation for the modified DNA comet assay as a screening detection method and rough dose estimation for irradiated chicken meat.

Methods: 45 samples of frozen chicken wing except for 15 control samples were irradiated with <sup>60</sup>Co-γ-ray. The cell suspensions at  $1 \times 10^5$  cells/ml isolated from tested sample were mixed with molten LMP-agarose. The mixture was evenly spread and cast on the comet slide. Lysis was then made in prechilled lysis solution with 10% DMSO for 30 min. After horizontal electrophoresis with TBE at 1 V/cm for 20 min, comet slide was stained with SYBR<sup>®</sup> Green. We measured the comet lengths using by epifluorescence microscope, and experimental results were statistically analyzed by Excel software.

Results: We completely succeeded in identifying the tested samples either irradiated or not, and rough dose estimation was also successful (accurate rate: 95%). The results from the ratio of comet tail to head was statistically the most reliable ( $R^2=0.82$ ,  $P<0.001$ ). It is concluded that the manual evaluation for the modified comet assay can be useful method as a screening detection and rough dose estimation for irradiated meat without image analyzer.

日本農芸化学会中四国支部 第2回講演会

世話人代表：福井宏至

連絡先：香川大学 農学部 生物資源食糧化学科

TEL：087-891-3084 FAX：087-891-3021

Email：fukui@ag.kagawa-u.ac.jp

## Information

---

支部評議員会は、12時より行います。

次回予定

中四国支部 第3回講演会(例会)および評議員会

2002年5月25日(土)岡山県立大学

演題申込締切 4月22日(月)

講演要旨締切 5月2日(木)

世話人 辻 英明 Tel&FAX (0866) 94-2143

E-mail: [htsuji@fhw.oka-pu.ac.jp](mailto:htsuji@fhw.oka-pu.ac.jp)

日本農芸化学会中四国支部  
〒700-8530 岡山市津島中1-1-1  
岡山大学農学部生物資源化学講座内  
<http://www.agr.okayama-u.ac.jp/JSBBAchushi/>

2002年(平成14年)1月26日発行