

第24卷

ISSN 1348-5261
Vol. 24

帯 広 畜 産 大 学
学 術 研 究 報 告

RESEARCH BULLETIN
OF
OBIHIRO UNIVERSITY

平成15年 8月

Augaust 2003

帯 広 畜 産 大 学

OBIHIRO UNIVERSITY
OF AGRICULTURE AND VETERINARY MEDICINE
OBIHIRO, HOKKAIDO, JAPAN

帯広畜産大学学術研究報告 第24巻

目 次

自然科学分野

生化学

高濃度多糖存在下で測定可能な高感度鉄試薬還元糖比色定量法

池浦真奈美・波川 啓士・高橋 裕司・匂坂 慶子・高澤 俊英 1

生化学

低温性通性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia trifoliorum* の小麦フスマ培養において產生される
ポリガラクツロナーゼ活性の低温適応

渡辺 剛志・斎藤 泉・高澤 俊英 7

生化学

好冷性雪腐小粒菌核病菌 *Typhula ishikariensis* の產生するポリガラクツロナーゼ活性の低温適応

田中 明良・斎藤 泉・高澤 俊英 15

人文・社会科学分野

文学

翻訳者、中島敦

斎藤 一 27

平成14年度帯広畜産大学研究業績 39

平成14年度帯広畜産大学大学院畜産学研究科修士学位論文題目 67

平成14年度岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士学位論文題目 71

平成14年度岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文題目 71

高濃度多糖存在下で測定可能な 高感度鉄試薬還元糖比色定量法

池浦真奈美・波川 啓士・高橋 裕司・勾坂 慶子・高澤 俊英

High sensitive colorimetric method for reducing sugar using ferric iron reagent not affected by the presence of high quantities of polysaccharide derivatives.

Manami IKEURA, Yoshitada NAMIKAWA, Yuji TAKAHASHI

Keiko SAGISAKA, and Toshihide TAKASAWA

(受理: 2003年4月30日)

要　旨

以前我々は、鉄 (Fe^{3+}) 試薬フェリシアナイドイオンの還元を基にした還元糖比色定量法である Park and Johnson (Park, J. T. and Johnson, M. J. 1949. J. Biol. Chem. 181: 149-151) の試薬を改良し、約 2 倍高感度化した。しかし、この高感度鉄試薬還元糖定量法 (Ikuma, T., Takeuchi, K., Takahashi, Y., Sagisaka, K., and Takasawa, T. 2001. Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci. 22: 109-116) は、発色系に酵素活性測定用基質であるポリガラクトロン酸が高濃度存在する場合にはペルリン青沈殿を生じ易く、吸光度測定が不可能であった。そのため、沈殿を生じにくい発色試薬の改良を行った。高感度鉄試薬還元糖定量法・発色試薬 3 (0.15% (w/v) 鉄ミョウバン, 0.2% (w/v) SDS, 0.14% (v/v) 硫酸) の SDS 濃度を 0.3% (w/v) に増加し、鉄ミョウバン濃度を半分 (0.075% (w/v)) に減少させた。その結果、ポリガラクトロン酸約 200 μg 存在下においてさえも、4 時間以上ペルリン青沈殿を生じなかった。還元糖と酸化剤フェリシアナイドとの酸化還元反応は高い比例性を有するが、定量性は見られなかった。

キーワード: 還元糖定量法, 高感度定量法, 鉄試薬比色定量法

緒　論

還元糖の定量法としては銅試薬を用いる Somogyi 法 (滴定法) (Shaffer and Somogyi 1933), Somogyi-Nelson 法 (比色法) (Nelson 1944; Somogyi 1938; 1945; 1952; Hagedon and Jensen 1923) が開発した鉄試薬 (フェリシアൻ化カリウム) を用いる滴定法 (Hanes 1929) 及び比色定量法 (Folin and Malmros 1929; Park and Johnson 1949) などがある。

我々は滴定法に比べ操作がより簡便な比色法のうち、試薬の調製が容易で安価な鉄試薬法を行っている。鉄試薬法はアルカリ条件下で還元糖の還元基がフェリシアൻ化カリウム (Fe^{3+}) をフェロシアൻ化カリウム (Fe^{2+}) に還元する反応を基本にしている。そして、この方法は生じ

たフェロシアൻ化カリウムと Fe^{3+} を反応させ、生成したペルリン青錯体を比色 (690nm) 定量する方法である。

最近、我々 (Ikuma et al. 2001) は、Park-Johnson (1949) 法を改良し、より感度の高い安定な高感度定量法を開発した。この方法では還元糖量 (D-ガラクトロン酸 (以下 D-GA) 量) について 1-18 μg まで定量可能である。しかし、発色系に酵素活性の測定に使用するポリガラクトロン酸が高物質量 (約 200 μg) 共存する場合即ち多糖が高濃度存在する場合にはペルリン青沈殿が生じやすく、還元糖量にして約 5 μg で吸光度測定時にペルリン青沈殿が生じ還元糖の比色定量が不可能になった。

この報告では、発色系に於ける沈殿生成を回避し吸光度分析を可能にするために発色試薬を改良し検討を行った。

実験方法

試薬

無水炭酸ナトリウム（関東化学、特級）；シアノ化カリウム 特級、フェリシアン化カリウム 特級、硫酸鉄（Ⅲ）アンモニウム・12水和物 純度99.0%，硫酸鉄（Ⅲ）アンモニウム・12水和物 純度99.9% 特級、ラウリル硫酸ナトリウム（以下 SDS）生化学用、硫酸 精密分析用（和光純薬工業）；D-GA・1水和物、ポリガラクツロン酸（Sigma）。

D-GA 標準溶液

試薬の調製

約0.1mg/mL D-GA 溶液を調整し、使用まで 5 °C で保存した。

試薬 1

メートルグラスに純水（約880mL）を入れ、無水炭酸ナトリウム5.31g を秤り、メートルグラスに加え完全に溶解後、シアノ化カリウム0.65g を溶解させた。その後純水で1L にメスアップした。これをポリボトルに入れ 5 °C で保存した。終濃度は0.531% (w/v) 無水炭酸ナトリウム、0.065% (w/v) シアノ化カリウムである。

試薬 2

メートルグラスに純水（約1900mL）を入れ、フェリシアン化カリウム1.00g を加え完全に溶解後、純水で2L にメスアップした。これを褐色のポリボトルに入れ 5 °C で保存した。終濃度は0.05% (w/v) フェリシアン化カリウムである。

試薬 3

メートルグラスに純水（約1900mL）を入れ、硫酸2.8 mL（メスピペット）を加え、硫酸鉄（Ⅲ）アンモニウム12水和物（以下鉄ミョウバン）3.0g を加えて、12時間以上攪拌し完全に溶解させた。次に SDS 4.0g を加え攪拌し、溶解後純水で2L にメスアップした。これを室温で遮光保存した。終濃度は0.15% (w/v) 鉄ミョウバン、0.2% (w/v) SDS、0.14% (v/v) 硫酸である。

改良試薬 3

試薬 3 と同じ手順で以下の様に変更・調製し、室温で遮光保存した。

試薬 3 - 1 : 0.15% (w/v) 鉄ミョウバン（高純度99.9% (w/w)）、0.2% (w/v) SDS、0.14% (v/v) 硫酸。

試薬 3 - 2 : 0.15% (w/v) 鉄ミョウバン (99.0% (w/w))、0.3% (w/v) SDS、0.14% (v/v) 硫酸。

試薬 3 - 3 : 0.15% (w/v) 鉄ミョウバン（高純度99.9% (w/w)）、0.3% (w/v) SDS、0.14% (v/v) 硫酸。

試薬 3 - 4 : 0.15% (w/v) 鉄ミョウバン（高純度99.9% (w/w)）、0.4% (w/v) SDS、0.14% (v/v) 硫酸。

試薬 3 - 5 : 0.1% (w/v) 鉄ミョウバン、0.3% (w/v)

SDS、0.14% (v/v) 硫酸。

試薬 3 - 6 : 0.075% (w/v) 鉄ミョウバン、0.3% (w/v)

SDS、0.14% (v/v) 硫酸。

試薬 3 - 7 : 0.050% (w/v) 鉄ミョウバン、0.3% (w/v)

SDS、0.14% (v/v) 硫酸。

発色操作

試薬 1, 2 及び D-GA 標準溶液の必要量をメートルグラスにとり、室温と平衡化している水浴中に30分以上浸し、室温(24-28°C)に平衡化した。なお D-GA 標準溶液については溶液温度が一定(30°C)になるように留意した。約0.1mg/mL D-GA 標準溶液を0-90μL (D-GA を0-9 μg 含むように)をそれぞれの試験管にとり試料体積500μL に純水でメスアップした。

次に試薬 1 を500μL 加え、攪拌し、試薬 2 を500μL 加え攪拌した。試験管を100°Cで15分間静置し、酸化還元反応を行わせ、その後-20°Cの冷凍庫で5分間静置し室温に戻した。

次に、試薬 3 又は改良試薬 3 を2.5mL 加え、攪拌し、30°Cで15分間静置した後、A₆₉₀を測定した。この実験を3重に3回以上行い再現性を調べた。

結果及び考察

試薬 3 の改良

低温性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia nivalis* の產生するポリガラクツロナーゼ酵素活性が他の菌核病菌（好冷性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia borealis* 及び常温性菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum*）に比べて低かったため、鉄試薬高感度還元糖定量法 (Ikuma et al. 2001) に供する酵素反応混液（1% (w/v) ポリガラクツロン酸基質溶液2.0mL+酵素液0.1mL）から発色系にピッティングする体積を10μL から2倍 (20μL) にした（還元糖量5-14μg）。

その結果、試薬 3 添加後45分でベルリン青沈殿を生じ、吸光光度測定が不可能になった。この沈殿生成には酵素反応基質ポリガラクツロン酸が関与していると推定された。それ故、高濃度多糖存在下で長時間沈殿を生ず感度に違いがない改良試薬 3 の調製を試みた。試薬 3 の改良は発色系におけるベルリン青複合体の沈殿生成までの時間即ち発色の安定性及び発色における感度即ち標準曲線において傾きに相当する D-GA 1 μg 当たりの吸光度（表 1）を指標として行った。

最初に試薬 3 を用いて D-GA 量 0-15 μg（通常 0-9 μg）について標準曲線を作成し沈殿の生じ易さを調べた。D-GA 量 9-15 μg においても約 2 時間はベルリン青の沈殿を生じることはなく、D-GA 量を増加させることによる標準曲線作成への影響はなかった。以上の結果、標準曲線作成に於ける D-GA 相当量の還元末端が存在

する場合、単糖であるD-GAよりも多糖であるポリガラクツロン酸の方がはるかに沈殿生成を促進することが明らかになった。

D-GA量0-15 μg におけるD-GA1 μg 当たりの吸光度(Factor)は0.0893であり相関係数は0.9998となり、このD-GA範囲での直線性は非常に高いと考えられる。D-GA量を0-9 μg (Factor:0.0883-0.0895)から0-15 μg へ増加させたことによってD-GA1 μg 当たりの吸光度は0.2-1.1%異なっていたがこれは実験のばらつきの範囲内であった。我々の以前の報告(Ikuma et al. 2001)と同様に、D-GA量を増加したことによるD-GA1 μg 当たりの吸光度への影響はないと結論した。

以上の結果、ポリガラクツロン酸約200 μg 共存下において還元糖D-GA量15 μg まで、ベルリン青沈殿生成を長時間抑えることが可能になれば、酵素活性系において鉄試薬高感度定量法を利用できることがわかった。以後の標準曲線は全てD-GA0-15 μg の範囲で作成した。

まず、試薬3に使用している鉄ミョウバン試薬(特級、純度99.0%(w/w)以上)に含まれる不純物が沈殿生成の原因かどうかを調べるために、高純度鉄ミョウバン(純度99.9%(w/w)以上)を使用した試薬3-1で酵素活性を測定し、ベルリン青沈殿が生成するかどうかを調べた。その結果、試薬3-1添加後35分で沈殿を生じ、試薬3添加後に較べて若干早くなり、この試薬での吸光度測定は不可能であった。従って、ベルリン青沈殿生成の原因は鉄ミョウバン試薬に含まれる不純物によるものでなかった。

次にベルリン青沈殿生成を長時間抑えるために、Ikuma et al. (2001)の改良に従ってSDS濃度を0.2%(w/v)から0.3%(w/v)に増加した試薬3-2を用いて酵素活性を測定した結果、試薬3-2を添加後1時間はベルリン青沈殿を生じず、操作上の点からは酵素活性の測定がぎりぎりではあるが可能になった。標準曲線作成を行った結果(表1参照)、D-GA1 μg 当たりの吸光度の平均値は0.0902±0.000325(SE)(CV値0.721%)となり、0.2%(w/v)SDSでの値0.0890±0.000318(SE)(CV値0.619%)との差は1.35%で実験のばらつきの範囲内であった。従ってSDS濃度を0.3%(w/v)にしたことによるFactorへの影響はなかった。

更にSDS濃度を増加させることによってベルリン青沈殿生成までの時間を延長するために0.4%(w/v)SDS濃度の試薬3-4を調製し、酵素活性測定を行ったが、後述する試薬3-3と比較して、ベルリン青沈殿生成までの時間に改善は見られなかった。SDS濃度を増加させたことによって、発色の安定性は全く改善されなかつたので、SDS濃度は0.3%(w/v)で改良方法を模索した。

標準曲線作成実験において、鉄試薬高感度定量法試薬

3の鉄ミョウバン濃度を上昇させた場合、ベルリン青沈殿生成が促進される事実(Ikuma et al. 2001)を考慮して、試薬3中の鉄ミョウバンの濃度を逆に下げることについて検討した。鉄ミョウバン濃度の異なる以下の4種類の改良試薬3を調製した。

試薬3-3: 0.15%(w/v)鉄ミョウバン酸化剤試薬に対してmol換算10倍過剰。

試薬3-5: 0.1%(w/v)鉄ミョウバン酸化剤試薬に対してmol換算6.7倍過剰。

試薬3-6: 0.075%(w/v)鉄ミョウバン酸化剤試薬に対してmol換算5倍過剰。

試薬3-7: 0.05%(w/v)鉄ミョウバン酸化剤試薬に対してmol換算3.3倍過剰。

改良試薬3を用いて酵素活性測定条件(1%(w/v)ポリガラクツロン酸-0.1M酢酸ナトリウム/酢酸緩衝液(pH4.5)基質溶液20 μL を還元糖サンプルとして発色)で発色し、吸光度を測定した後、沈殿生成までの時間を調べた。その結果、それぞれの改良試薬に於いて吸光度の間に差はなかったが、試薬3-3及び3-5では添加後約40分で沈殿が生成し、試薬3-6及び3-7ではベルリン青の沈殿が生成せず、少なくとも4時間は安定だった。しかしながら、これらの試薬は鉄ミョウバン濃度が通常の1/2及び1/3であるので、試薬を加えてから発色するまでの時間が試薬3-3及び3-5に比べて若干長かった。広い還元糖量範囲での発色への影響を調べるために試薬3-6及び3-7についてそれぞれ標準曲線作成実験を行った。結果はそれぞれ図1及び2に示す。

試薬3-6を用いた標準曲線(図1)においては、D-GA1 μg 当たりの吸光度は0.0897であり、相関係数は0.9996と高い直線性を示した。改良前の値(試薬3, D-GA: 0-15 μg)0.0890±0.000318(SE)(CV値0.619%)と比べ0.8%高かったが(表1参照)、これは実験のばらつきの範囲内と考えられる。これらの結果から、鉄ミョウバンの濃度を1/2にしても標準曲線の傾き(Factor)には影響しないことがわかった。

試薬3-7を用いて作成した標準曲線(図2)においては、D-GA1 μg 当たりの吸光度は0.0917であり相関係数は0.9996となり、この試薬を用いた場合でも標準曲線の直線性は良好であった。この試薬についても標準曲線作成実験は3重に3回行った。その結果(表1参照)D-GA1 μg 当たりの吸光度の平均値は0.0917±0.000289(SE)(CV値0.545%)であり、試薬3での値0.0890±0.000318(SE)(CV値0.619%)と比べるとその差は3.0%と若干大きかった。しかしこの違いは試薬3の違いによるものではなく、実験中の室温(24°C)が通常(26°C)より低かったので、これは標準物質D-GA量(μg)の変化によるものと考えられる。このことは、室温20°Cの実験では

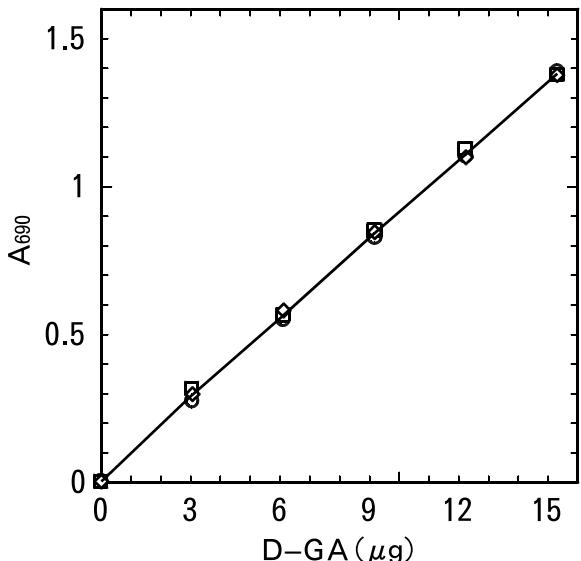


図1. 鉄試薬高感度還元糖量定量法による標準曲線。
試薬3-6 (0.075% (w/v) 鉄ミョウバン, 0.3% (w/v) SDS, 0.14% (v/v) 硫酸) 使用。一次回帰式は $y=0.0897x+0.138$ であり、相関係数は $r=0.9996$ であった。

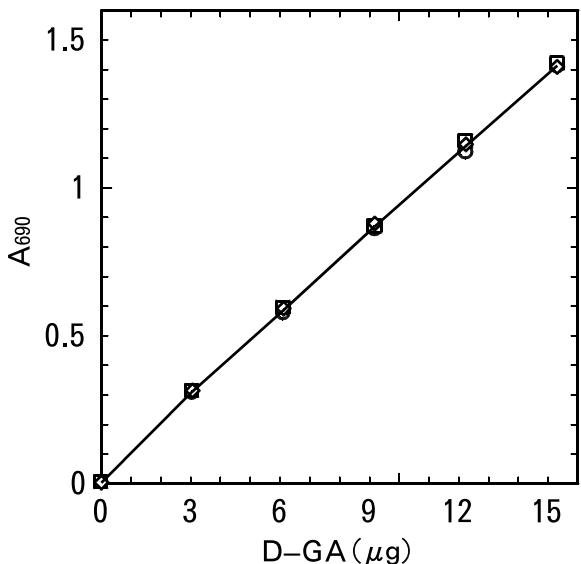


図2. 鉄試薬高感度還元糖量定量法による標準曲線。
試薬3-7 (0.050% (w/v) 鉄ミョウバン, 0.3% (w/v) SDS, 0.14% (v/v) 硫酸) 使用。一次回帰式は $y=0.0917x+0.0199$ であり、相関係数は $r=0.9996$ であった。

Factor が更に高くなった (0.0920以上) 事実からも裏付けられる。従ってこの試薬を用いた標準曲線の Factor も実験ばらつきの範囲内に収まっていると結論できる。

試薬3-6及び3-7を用いた場合、標準物質D-GA 3-15 μgでの標準曲線作成には全く影響が見られなかったが、D-GA量が特に少ない (1 μg) 場合には、ベルリソニン青複合体形成までに若干時間を要する傾向が観察された。従って、高濃度多糖存在下での還元糖定量用改良試薬3としてベルリソニン青複合体を生じやすく且つベルリソニン青沈殿を生成しにくい条件に合致する試薬3-6 (0.075% (w/v) 鉄ミョウバン) を採用した。

表1. 鉄試薬高感度還元糖定量法の Factor. ただし Factor は D-GA 1 μg当たりの吸光度 (A_{690}) である。

	Factor	相関係数
試薬3標準法 D-GA: 0-9 μg	1 2 3 4 5 6 mean SSD CV SE	0.0885 0.0883 0.0890 0.0885 0.0884 0.0895 0.0887 0.000460 0.519% 0.000188
試薬3 D-GA: 0-15 μg	1 2 3 mean SSD CV SE	0.0884 0.0893 0.0894 0.0890 0.000551 0.619% 0.000318
試薬3-1 D-GA: 0-15 μg	1 2 3 4 5 mean SSD CV SE	0.0899 0.0890 0.0882 0.0888 0.0894 0.0891 0.000639 0.717% 0.000286
試薬3-2 D-GA: 0-15 μg	1 2 3 mean SSD CV SE	0.0896 0.0902 0.0909 0.0902 0.000651 0.721% 0.000325
試薬3-3 D-GA: 0-15 μg	1 2 3 mean SSD CV SE	0.0887 0.0883 0.0879 0.0883 0.000400 0.453% 0.000231
試薬3-4 D-GA: 0-15 μg	1 2 3 mean SSD CV SE	0.0911 0.0915 0.0907 0.0911 0.000400 0.439% 0.000231
試薬3-6 D-GA: 0-15 μg	1 2 3 mean SSD CV SE	0.0894 0.0897 0.0899 0.0897 0.000252 0.281% 0.000145
試薬3-7 D-GA: 0-15 μg	1 2 3 mean SSD CV SE	0.0922 0.0917 0.0912 0.0917 0.000500 0.545% 0.000289

発色法の定量性

最後に、還元糖の還元基であるアルデヒド基と酸化剤フェリシアナイドとの酸化還元反応が定量的に行われているかどうかを調べた。即ち D-GA と酸化剤フェリシアナイドとの酸化還元反応を 15 分 - 2 時間行い、D-GA 1 μg 当たりのベルリソニン青発色率がどのように変化するかを調べた。D-GA と酸化剤の反応が定量的に進行している場合には反応時間に依存せず発色率は一定値になると推定された。しかしながら、図3に示す様に、発色率は時間の増加と共に増加し、一定値を与えるなかった。

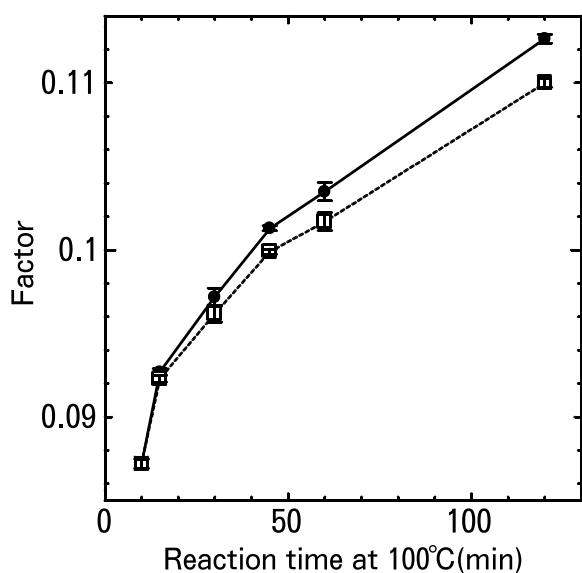


図3. D-GAと酸化剤フェリシアナイドとの酸化還元反応時間に対するベルリン青複合体生成量。

発色操作に於いて、D-GA既知量(1-9 μg : 0.5mL)に試薬1及び2(各0.5mL)を添加後、100°Cでの反応を15分-2時間行って、改良試薬3-6によるD-GA 1μg当たりのベルリン青複合体発色率(Factor)を反応時間に対してプロットした。又、100°C加熱処理に於ける反応混液の蒸発量に対して補正した発色率も同時に示す。●、各反応時間に於けるFactor; □、各反応時間に於ける反応混液の蒸発量で換算したFactor。

一方、各反応時間に於ける標準曲線(D-GA: 1-9 μg)についての一次回帰式の相関係数(r:0.9995)は高く、比例性は非常に良好であった。

以上の結果、鉄試薬高感度還元糖定量法はD-GAに対して非常に高い比例性を有するが、D-GAと酸化剤の反応及びその後のベルリン青複合体生成については定量性はないと結論される。

参考文献

- Folin, O. and Malmros, H. 1929. An improved form of Folin's micro method for blood sugar determinations. *J. Biol. Chem.* **83**:115-120.
- Hagedorn, H. C. and Jensen, B. N. 1923. Zur Microbestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanid. *Biochem. Z.* **135**: 46-58.
- Hanes, C. S. 1929. XIV. An application of the method of Hagedorn and Jensen to the determination of larger quantities. *Biochem. J.* **23**:99-106.
- Ikuma, T., Takeuchi, K., Takahashi, Y., Sagisaka, K., and Takasawa, T. 2001. High sensitive colorimetric method of reducing sugar using ferric iron reagent. *Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci.* **22**:109-116. [In Japanese]

- Park, J.T. and Johnson, M.J. 1949. A submicrodetermination of glucose. *J. Biol. Chem.* **181**:147-157.
- Shaffer, P. A. and Somogyi, M. 1933. *J. Biol. Chem.* **100**:195.
- Somogyi, M. 1938. Micromethods for the estimation of diastase. *J. Biol. Chem.* **125**:399-414.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *J. Biol. Chem.* **160**:61-68.
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.* **195**:19-23.

summary

Park and Johnson method (Park, J. T. and Johnson, M. J. 1949. *J. Biol. Chem.* **181**: 149-151) is a colorimetric quantitative determination method for reducing sugars based upon a reduction of ferricyanide ions, Fe³⁺reagent. In the previous work, we had modified the reagent of the Park and Johnson method in order to estimate reducing sugars with approximately twice sensitivity. However, this high sensitive determination of reducing sugars with iron reagent (Ikuma, T., Takeuchi, K., Takahashi, Y., Sagisaka, K., and Takasawa, T. 2001. *Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci.* **22**: 109-116), when the polygalacturonic acid exists in high-dense for the coloration system, would produce the Berlin blue precipitation, and the absorbancy measurement was impossible. Polygalacturonic acid is a substrate for the enzymatic activity measurement. Therefore, we improve the color reagent which hardly produces the precipitation. SDS concentration of reagent 3 (0.15% (w/v) iron alum, 0.2% (w/v) SDS, 0.14% (v/v) sulfuric acid) for high sensitive determination was increased to 0.3% (w/v), and the iron alum concentration was decreased in half (0.075% (w/v)). As the result, the Berlin blue precipitation was not produced over 4 hours even under the presence of the polygalacturonic acid about 200 μg. Though there is a high linearity in oxidation-reduction reaction between reducing sugar and oxidizing agent ferricyanide, the quantitatitvity could not be observed.

Key words : reducing sugar determination;
high sensitive determination;
colorimetric determination.

低温性通性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia trifoliorum* の 小麦フスマ培養において產生される ポリガラクトロナーゼ活性の低温適応

渡辺 剛志・齊藤 泉¹・高澤 俊英

Cold adaptation of polygalacturonase activity produced by
bran culture of the psychrotrophic facultative snow mold *Sclerotinia trifoliorum*

Tsuyoshi WATANABE, Izumi SAITO¹, and Toshihide TAKASAWA

(受理: 2003年4月30日)

要　旨

低温性通性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia trifoliorum* 由来ポリガラクトロナーゼ (PGase) 活性の性質を調べた。5℃及び20℃で小麦フスマ培地において培養を行い、適當な期間 (5℃: 65-308日間, 20℃: 28-56日間) で抽出し、酵素活性の產生量を調べた。その結果、PGase 活性量は 5℃培養では65日以降で、20℃培養では28日以降で定常状態になった。5℃及び20℃培養粗抽出液 PGase 活性 ($1.33\text{U/mL} \pm 0.00750$ (SE); CV 0.997% 及び $1.62\text{U/mL} \pm 0.0167$ (SE); CV 2.06%) は好冷性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia borealis*, 常温性菌核病菌 *S. sclerotiorum* 及び低温性雪腐菌核病菌 *S. nivalis* と較べて低かった。pH 依存性については、20℃培養 PGase 活性の最適 pH は pH 3.5-4.5 であり、5℃培養のものの最適 pH は pH 3.5-5.0 であった。温度安定性については20℃及び5℃培養 PGase 活性の間にほとんど違いは観察されなかった。温度依存性については、5℃及び20℃培養 PGase 活性の最適温度は50℃であった。5℃培養が20℃培養に較べて 5℃-10℃において相対活性が高く、低温適応性を示した。

キーワード: *Sclerotinia trifoliorum*, 低温菌, ポリガラクトロナーゼ, 低温適応, 細胞壁分解酵素

緒　論

Sclerotinia trifoliorum は子囊菌・ビヨウタケ目・菌核菌科に属し、菌核病を引き起こす病原菌として知られている。その分布は全国的であり、中でも北海道、東北、北陸などの積雪地帯においては積雪下で発病する雪腐菌核病菌として知られている。菌糸生長適温は、15-20℃であるが、33℃以上では生育できず (Matsuura 1946), *S. trifoliorum* はこの点からは常温菌と考えられる。しかしながら、本菌は0℃付近においても生育可能であることから低温菌 (psychrotrophs) に分類される。従って、*S. trifoliorum* は低温性通性雪腐菌核病菌である。

S. trifoliorum の宿主は、マメ科植物 (アルファルファ,

レンゲ、アカクローバ、シロクローバ、クリムソンクローバ、アルサイククローバ、ソラマメ、ベッチャ類), キク科植物 (ハハコグサ、ヂシバリ), アブラナ科植物 (タネツケバナ) 等が挙げられる。

S. trifoliorum の発病は、秋における子囊胞子の宿主への感染から始まる。冬の積雪下で菌糸が進行し、春の融雪後、気温の上昇と共に茎葉や根を灰白色に軟化、腐敗させ、枯死した植物の表面には綿毛状の白い菌糸と共にネズミ糞状の菌核を形成する。*S. trifoliorum* が分泌する細胞外酵素ベクチナーゼの一種ポリガラクトロナーゼ (PGase) は、植物の病原性、即ち植物の腐化 (マセレーション) に深く関与している (Bateman and Basham 1976)。

帯広畜産大学畜産科学科

School of Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

¹ 北海三共株式会社農業科学研究所¹ Agroscience Research Laboratories, Hokkai Sankyo Co. Ltd.

ペクチン質はD-ガラクツロン酸が α -1, 4結合により重合したポリガラクツロン酸を骨格とし、更にポリガラクツロン酸残基のカルボキシル基の一部がメチルエステル化された物質で、メチルエステル化率の低い方から順にポリガラクツロン酸、ペクチン酸、ペクチン及びペクチニン酸に分類される。ペクチナーゼにはポリガラクツロナーゼ、ペクチン酸リニアーゼ、ペクチニアーゼ、及びペクチニンエステラーゼ等がある。ここではポリガラクツロン酸またはペクチン酸の α -1, 4結合を加水分解する酵素であるポリガラクツロナーゼの活性の性質について調べた。

この酵素は、これまでに菌類 (Takahashi et al. 2002; Nagai et al. 2000; Takasawa et al. 1997; Waksman et al. 1991; Kester and Visser 1990; Schejter and Marcus 1988), 細菌 (Roberts et al. 1988; Nasuno and Starr 1966), 酵母 (Gognies 2001; Blanco et al. 1994), 植物 (Kapoor et al. 2000; Pathak et al. 2000; Bonghi et al. 1992; DellaPenna et al. 1986) 及び線虫 (Stephanie et al. 2002) 等の広い範囲にその分布が知られてきた。

我々は、PGaseを標的にして、低温菌の低温環境への適応機構を酵素分子レベルで解明することを目的としている。本研究では、*S. trifoliorum*を小麦フスマ培地において5℃及び20℃でそれぞれ培養し、その粗抽出液中に含まれるPGaseの活性測定から、低温域(5℃)と常温域(20℃)で產生されるPGaseの性質を比較検討した。

試薬及び実験方法

試薬

試薬は以下の会社のものを使用した。Potato-Dextrose-Agar(以下PDA)(Difco Laboratories); 小麦フスマ(十勝米穀); Coomassie Brilliant Blue(以下CBB)G-250(半井化学薬品工業、電気泳動用特製Lot No. M7R 3031); リン酸特級(85% (w/w)), メタノール特級(99.8% (w/w)), アジ化ナトリウム 化学用(90.0% (w/w)), Hyflo super-cel, 氷酢酸特級, 酢酸ナトリウム特級, フェノールアミノ酸分析用, 硫酸精密分析用, 無水炭酸ナトリウム特級, シアン化カリウム特級, ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム(フェリシアン化カリウム)特級, 硫酸鉄(III)アンモニウム12水和物特級, ラウリル硫酸ナトリウム生化学用, 硫酸精密分析用(和光純薬工業); D-ガラクツロン酸(D-GA)1水和物, ポリガラクツロン酸(以下PGA)(From orange; Loss on drying 7.2%; Purity 89%), 3-[N-Morpholino]propane sulfonic acid(以下MOPS), 2-[N-Morpholino]ethane-sulfonic acid(以下MES), Bovine Serum Albumin(以下BSA)(Crystallized and lyophilized)(Sigma)。

菌体の培養

PDA培地での培養 PDA粉末3.9gをイオン交換蒸留水(以下純水)100mL中で加熱攪拌し溶解させ、オートクレーブ滅菌(121℃(ca.2.2kg/cm²), 20分間)した。クリーンベンチ内で1シャーレ当たり約20mLのPDA水溶液を分注し、*S. trifoliorum*の菌核を移植した。*S. trifoliorum*は、このPDA培地上で20℃で約2週間培養した。

小麦フスマ培地での培養 小麦フスマ約30gにイオン交換蒸留水50mLを加え混合し、オートクレーブ滅菌を行った。クリーンベンチ内で滅菌フスマ培地に、PDA培地1シャーレ当たり5フラスコに移植した。その後5℃で65-308日間, 20℃で28-56日間培養した。

粗抽出液の調製

以前に述べた方法(Takeuchi 2002)に従って調製した。抽出は1フラスコ当たり, 10mM酢酸ナトリウム-酢酸(pH4.5)緩衝液(以下S.buffer)200mLを行った。

2% (w/v) PGA基質溶液の調製

以前に述べた方法(Takeuchi 2002)に従って調製した。2% (w/v) PGA保存水溶液の全糖濃度(21.5mg/mL±0.176(SE)(CV 1.40%))は高感度フェノール硫酸法(Takeuchi et al. 2001)によって、還元糖濃度(0.780mg/mL±0.00433(SE)(CV 0.97%))は鉄試薬高感度還元糖定量法(Ikuma et al. 2001)によって求めた。それら結果から基質重合度(27.6mer±0.361(SE)(CV 2.26%))を求めた。

1% (w/v) PGA基質溶液の調製

1% (w/v) PGA基質溶液の調製(800mL)は純水180mLに2% (w/v) PGA溶液400mLを攪拌しながら加え、0.4M酢酸ナトリウム-酢酸緩衝液(pH4.5)200mLを加え、酢酸でpH4.5に調整後、純水で800mLにメスアップした。

タンパク質の定量

粗抽出液のタンパク質濃度はBradford(1976)及びRead and Northcote(1981)の方法に改良を加えた高感度CBB G-250色素結合法(Ikuma et al. 2002)によってBSAを標準物質として決定した。

色素試薬は0.025% (w/v) CBB G-250-12.5% (v/v)メタノール-70.8% (w/v)リン酸を使用した。BSA標準溶液は0.1mg/mL-0.04% (w/v)アジ化ナトリウムを使用した。BSA標準溶液のタンパク質濃度は $A_{280}^{1\% (w/v)}=6.60$ (Kirschenbaum 1970)を用いて決定した。

発色は0.8mLタンパク質溶液(0-9μg protein), 0.2mL CBB G-250色素試薬で行った。BSA1μg当たりのFactorは0.0321±0.000321(SE); (CV 1.00%)を使用した。

PGase 活性の測定

粗抽出液の PGase 活性は、酵素反応総体積 2.1mL (1 % (w/v) PGA-0.1M 酢酸ナトリウム/酢酸 (pH4.5) 緩衝液基質溶液 2.0mL, 粗抽出液 0.1mL) 系、或いは酵素反応総体積 2.2mL (1 % (w/v) PGA-0.1M 酢酸ナトリウム/酢酸 (pH4.5) 緩衝液基質溶液 2.0mL, 粗抽出液 0.2mL) 系を用いて還元糖を鉄試薬高感度還元糖定量法 (Ikuma et al. 2001) によって決定し、その遊離速度から求めた。遊離速度は rate-assay 法 (0, 3, 6 及び 9 分) によって決定した。酵素活性の 1 Unit は還元糖の遊離速度 $1\mu\text{mol}/\text{min}$ と定義した。

ブランク酵素活性は酵素溶液の代わりに S.buffer (100 μL) を基質溶液 2.0mL に加えた酵素反応総体積 2.1 mL 系を用いて測定した。また酵素反応総体積 2.2mL 系の場合には、S.buffer 200 μL を加えて同様に行った。

低温性通性雪腐菌核病菌 S. trifoliorum 培養期間の検討

S. trifoliorum を 5 °C (65-308 日) 又は 20 °C (28-56 日) で、任意の期間フスマ培養後抽出し、40 °C での酵素活性とタンパク質濃度を測定した。

pH 依存性

pH3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 及び 7.5において PGase 活性測定を行った。pH3.0, 3.5 及び 4.0 基質緩衝液は 0.1M 酢酸ナトリウム-HCl 緩衝液を、pH 4.5, 5.0 及び 5.5 は 0.1M 酢酸ナトリウム-酢酸緩衝液を、pH 6.0 及び 6.5 は 0.1M MES-NaOH 緩衝液を、pH 7.0 及び 7.5 は 0.1M MOPS-NaOH 緩衝液を用いた。酵素活性測定は 2.2mL 系・40 °C で行った。

温度依存性

酵素反応時の温度を 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 及び 70 °C で、1 % (w/v) PGA-0.1M 酢酸ナトリウム/酢酸 (pH4.5) 緩衝液基質溶液を用いて 2.2mL 系で PGase 活性測定を行った。

温度安定性

粗抽出液を 20, 30, 40, 50 及び 60 °C に 30 分間暴露し、その粗抽出液を用いて、1 % (w/v) PGA-0.1M 酢酸ナトリウム/酢酸 (pH4.5) 緩衝液基質溶液を用いて、2.2mL 系・40 °C で PGase 活性測定を行った。

結 果

5 °C 及び 20 °C 培養における PGase 活性

S. trifoliorum のフスマ培養における PGase 産生量の推移を調べるために、20 °C 培養では菌核形成が確認される 4 週 (28 日) から 5 週 (35 日), 6 週 (42 日), 7 週 (49 日) 及び 8 週 (56 日) 間培養を行い、5 °C 培養では 65 日、72 日、80 日及び 98 日間培養を行った後に粗抽出液を得た。PGase 活性測定は酵素反応総体積 2.1mL (1 % (w/v) PGA-0.1M 酢酸ナトリウム-酢酸緩衝液 2 mL, 粗抽出

液 0.1mL) : 10 μL サンプリング系で行った。そして、粗抽出液 1 mL 当たりの活性 (U/mL) 及び Total activity を求めた。

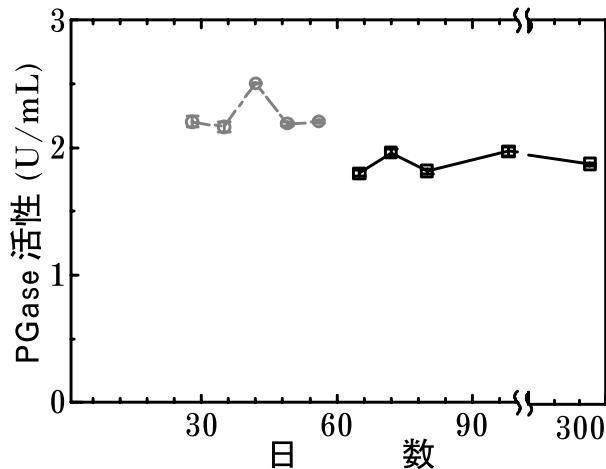


図 1. 20 °C 及び 5 °C 培養期間に対する粗抽出液中のポリガラクツロナーゼ活性。酵素反応総体積 2.1mL : 10 μL サンプリング系 (40 °C) で酵素活性を測定した。
———, 20 °C 培養後抽出した粗抽出液。
———, 5 °C 培養後抽出した粗抽出液。

20 °C 培養では、4 週間 (28 日) 培養 PGase 活性及び Total activity (177mL) は $2.20\text{U}/\text{mL} \pm 0.0443$ (SE) (CV 3.48%), $390\text{U} \pm 7.84$ (SE) (CV 3.48%) であった。培養期間内における時間経過に対する活性の増減は、最も高い値を示した 6 週培養 PGase 活性 (($2.50\text{U}/\text{mL} \pm 0.00312$ (SE) (CV 0.249%), $453\text{U} \pm 0.564$ (SE) (CV 0.249%)) を除き、ほぼ一定であった。

5 °C 培養では、65 日間培養 PGase 活性及び Total activity (191mL) は $1.80\text{U}/\text{mL} \pm 0.0437$ (SE) (CV 2.43%), $344\text{U} \pm 4.82$ (SE) (CV 2.43%) であった。これらの培養期間内で時間経過による顕著な活性の増減は確認されなかった。PDA 培養は異なるが 5 °C • 44 週 (308 日間) フスマ培養粗抽出液 (888mL) の PGase 活性は $1.89\text{U}/\text{mL}$ であった。

pH 依存性

酵素活性の酵素反応混液 pH に対する依存性を調べるために基質溶液の pH を変化させて活性を測定した。そのため pH3.0, 3.5, 4.0 (以上酢酸ナトリウム-HCl 緩衝液), 4.5, 5.0, 5.5 (以上酢酸ナトリウム-酢酸緩衝液), 6.0, 6.5 (以上 MES-NaOH 緩衝液), 7.0, 7.5 (以上 MOPS-NaOH 緩衝液) 基質溶液を用いて、5 °C 及び 20 °C 培養粗抽出液の酵素活性を 2.2mL 系・40 °C で調べた。20 °C 培養 PGase 活性は、pH4.0-4.5 において最大活性を与える、pH3.5-4.5 の範囲において pH4.5 での活性に対する相対活性が 90% 以上の値を示した。

5 °C 培養 PGase 活性の最適 pH は pH4.5 であり、pH 3.5-5.0 の更に広い範囲において pH4.5 での活性に対する

相対活性が90%以上の値を示した。

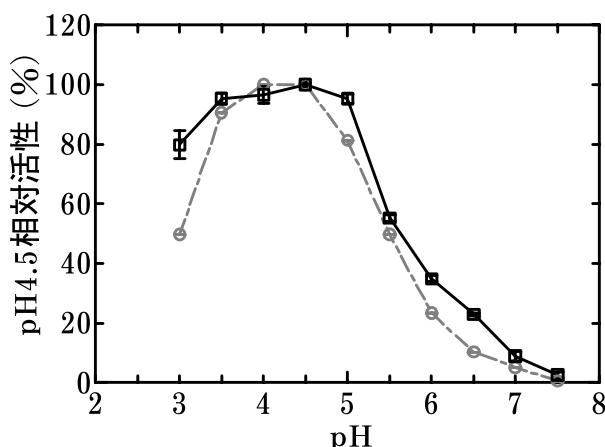


図2. 低温性通性雪腐菌核病菌 *S. trifoliorum* 5及び20°C粗抽出液のポリガラクツロナーゼ活性(pH4.5相対活性)のpH依存性の比較。

———, 20°C培養後抽出した粗抽出液.
———, 5°C培養後抽出した粗抽出液.

温度依存性

5°C及び20°Cの培養温度の違いによって得られた粗抽出液 PGase 活性が、酵素反応温度の変化に対して、特に低温域において、どのようになるかを調べるために、各温度で pH4.5・2.2mL 系で PGase 活性測定を行った。各データは、少なくとも 3 重実験で 3 回以上の実験結果の平均値を用いた。

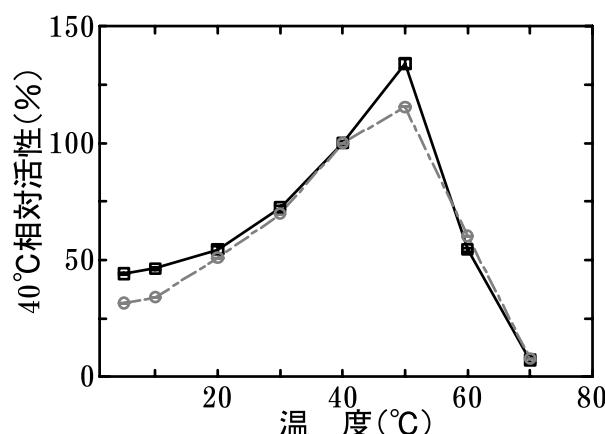


図3. 低温性通性雪腐菌核病菌 *S. trifoliorum* 5及び20°C培養粗抽出液ポリガラクツロナーゼ活性(pH4.5)(40°C相対活性)の温度依存性。40°Cでのポリガラクツロナーゼ活性の平均値を100%とした相対活性で示した。

———, 20°C培養粗抽出液.
———, 5°C培養粗抽出液.

5°C及び20°C培養 PGase 活性の最適温度は共に50°Cであった。5°C及び20°C培養 PGase 活性を40°C活性に対する相対活性(40°C相対活性)で比較すると、5°C培養 PGase 40°C相対活性は、低温域(5°C及び10°C)において20°C培養のものに較べて非常に高い値を示した。

即ち、5°C培養 PGase の5°C/40°C相対活性及び10°C/40°C相対活性は、20°C培養 5°C/40°C相対活性そして10°C/40°C相対活性に較べて、それぞれ12.6%及び12.3%高かった。その他の温度域(20°C-30°C)では顕著な差はなかった。50°Cでは、5°C培養の50°C/40°C相対活性が、20°C培養のものより高かった。

温度安定性

5°C及び20°C培養粗抽出液の酵素活性の温度に対する安定性を調べるために、それぞれの粗抽出液を各温度(5°C-60°C)に30分間暴露後、2.2mL系・40°Cで酵素活性を測定した。

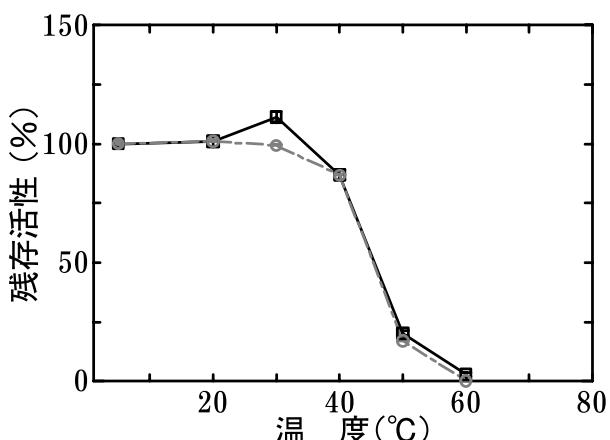


図4. 低温性通性雪腐菌核病菌 *S. trifoliorum* 5及び20°C培養粗抽出液のポリガラクツロナーゼ活性(pH4.5)(5°Cでの活性に対する残存率)の温度安定性。5°C保存のもののポリガラクツロナーゼ活性の平均値を100%とした相対活性で示した。

———, 20°C培養粗抽出液.
———, 5°C培養粗抽出液.

5°C及び20°C培養粗抽出液について、5°Cでの活性に対する残存活性で比較した。5°C培養における30°C暴露後の残存活性が高いが、これは実験のばらつきと考えられる。両者共に5°C-30°Cまでの暴露温度において失活は観察されなかった。40°Cから徐々に残存活性が低下し、50°Cでの残存活性は20%で、60°Cでは完全に失活した。

考 察

S. trifoliorum が産生する PGase は、培養する温度によって、その性質が異なると考えられたために 5°C 及び 20°C でフスマ培養を行った。

培養期間によって PGase 産生量が変化することが考えられたので *S. trifoliorum* を 5°C 及び 20°C で任意の期間(5°C: 65-308 日間, 20°C: 28-56 日間) 培養し、その粗抽出液中の PGase 活性を 40°C で測定し、PGase 産生量の比較検討を行った。培養期間は *S. trifoliorum* の菌核形成を目安にした。その結果、5°C 及び 20°C ともに菌核形成後では、培養期間による顕著な PGase 産生量の違い

は確認されなかった。また、5 °C 及び 20 °C 培養の PGase 產生量もほぼ同じであることから培養温度、培養期間に依らず PGase は一定量产生されると考えられる。

一般的に PGase 活性の最適 pH は 4 - 6 である。S. *trifoliorum* の場合、5 °C 及び 20 °C 培養粗抽出液は共に PGase 活性の最適 pH が pH4.5 であり、その前後（5 °C ; pH3.5-5.0, 20 °C ; pH3.5-4.5）で最適 pH での活性の 90% 以上の高い相対活性を示し、広い pH 域で高い相対活性を与えた。これは pH4.5 前後で急激な活性の減少を示す好冷性雪腐菌核病菌 S. *borealis* 及び常温性菌核病菌 S. *sclerotiorum* の場合とは大きく異なっていた。一方、同じ低温性雪腐菌核病菌 S. *nivalis* と比較すると、S. *trifoliorum* は S. *nivalis* (pH3.0-5.0) ほどではないが高い相対活性を示す広い pH 範囲を有し、最適 pH も同じ pH4.5 であることから傾向は似ているように思われる。5 °C 及び 20 °C 培養 PGase 活性を最適 pH で比較すると、5 °C 培養 PGase は 20 °C 培養 PGase より最適 pH 範囲が広い。また、pH5.0 より高い中性域における相対活性は、5 °C 培養 PGase 活性の方が 20 °C 培養 PGase 活性より高い値を与えた。これらのこととは 5 °C 培養 PGase が 20 °C 培養 PGase より pH 変化に対して安定であることを示唆している。同じ菌において温度環境によって産出される酵素の性質が変わる場合には、性質の異なるアイソザイムが产生されている可能性が示唆される。従って、S. *trifoliorum* は 5 °C 及び 20 °C 培養において各々活性部位の異なる PGase アイソザイムを产生したものと思われる。

5 °C 及び 20 °C 培養において产生された PGase 活性の温度暴露に対する安定性の違いを調べるために、各々の粗抽出液を 5 °C-60 °C に 30 分間暴露し、氷冷後、40 °C で PGase 活性を測定した。5 °C 及び 20 °C 培養 PGase 活性の安定性を比較すると 30 °C 以外では両者に著しい違いは観察されず 5 °C 及び 20 °C 培養で产生される PGase アイソザイムパターンの違いに関して安定性実験からは顕著な違いは観察されなかった。

5 °C 及び 20 °C 培養 PGase 活性の温度依存性を調べ、40 °C における活性に対する相対活性（40 °C 相対活性）で比較検討を行った。その結果、最適温度は 5 °C 及び 20 °C 培養で共に 50 °C であり、5 °C 培養 PGase は 20 °C 培養 PGase と較べると 5-10 °C の低温域で 40 °C 相対活性が高く、50 °C においても 50 °C / 40 °C 相対活性は高かった。

以上のことから低温性通性雪腐菌核病菌 S. *trifoliorum* によって产生された PGase アイソザイムは、5 °C と 20 °C 培養ではそれらの性質が多少異なっていると考えられる。5 °C 培養 PGase アイソザイムは、20 °C 培養 PGase のものと較べると低温域における 40 °C 相対活性が高かった。即ち 5 °C 培養 PGase アイソザイムは低温適応能を有す

ることが示唆された。しかしながら 5 °C 培養 PGase の温度安定性は、20 °C 培養 PGase と同様な傾向を示した。

低温適応現象は、5 °C 培養の好冷性雪腐菌核病菌 S. *borealis* 由来 PGase 活性については 20 °C 培養の常温性菌核病菌 S. *sclerotiorum* 由来 PGase 活性との比較において観察された (Takeuchi 2002)。低温性雪腐菌核病菌 S. *nivalis* においては、常温及び低温（20 °C 及び 5 °C）培養 PGase 活性の比較実験の結果、5 °C 培養の低温域における PGase 40 °C 相対活性が 20 °C 培養のものよりも高い値を示した (Ikeura 2002)。更に S. *nivalis* 5 °C 培養 PGase 活性は、その 20 °C 培養 PGase と較べて常温域において温度不安定性を示した。

低温適応酵素はより柔軟でルーズな分子構造をしており、低温下でも分子運動性が比較的保持されていると考えられている。このことから低温活性酵素は必然的に熱によって適切な高次構造を失いやすい、即ち温度に不安定であるとされる。ところが我々の実験では 5 °C 及び 20 °C 培養 PGase 活性の温度依存性比較で、5 °C 培養 PGase 活性は 50 °C における 40 °C 相対活性が 20 °C 培養のものよりも高い値を与えたが、それ以上の高温域においては 20 °C 培養 PGase と同じ程度の活性を示した。更に、PGase 活性の高温域における安定性については、5 °C 培養は 20 °C 培養と同様の傾向を示した。この点に関しては S. *trifoliorum* が低温性通性雪腐菌核病菌であるという事実と妥当性があると思われる。好冷性雪腐菌核病菌 S. *borealis* は低温でのみ生育することが可能であるが、S. *trifoliorum* はその分布が全国的であり、常温においても生育が可能で、天然においては非積雪地帯でも雪腐病又は菌核病を惹起する。このような点から、5 °C 培養で発現される PGase は 20 °C 培養で発現されるものに較べて低温域での高い活性を有し、かつ常温-高温域でも高い温度安定性を有すると考えられる。この考え方は実験で得られた結果と良く合致する。

参考文献

- Bateman D. F. and Basham H. G. 1976. In Encyclopedia of Plant Physiology New series, vol. 4 Degradation of Plant Cell Walls and Membranes by Enzymes. Edited by R. Heitefuss and P.H. Williams. pp. 316-355. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- Blanco, P., Sieiro, C., Diaz, A., and Villa, T. G. 1994. Production and partial characterization of an endo-polygalacturonase from *Saccharomyces cerevisiae*. Can. J. Microbiol. 40: 974-977.
- Bonghi, C., Rascio, N., Ramina, A., and Casadomo, G. 1992. Cellulase and polygalacturonase involvement

- in the abscission of leaf and fruit explants of peach. *Plant Mol. Biol.* **20**: 839-848.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding assay. *Biochem. Biophys. Acta*, **533**: 525-529.
- DellaPenna, D., Alexander, D. C., and Bennett, A. B. 1986. Molecular cloning of tomato fruit polygalacturonase: analysis of polygalacturonase mRNA levels during ripening. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**: 6420-6424.
- Gognies, S., Simon, G., and Belarbi, A. 2001. Regulation of the expression of endopolygalacturonase gene PGU 1 in *Saccharomyces*. *Yeast*, **18**: 423-432.
- Ikuma, T., Takeuchi, K., Takahashi, Y., Sagisaka, K., and Takasawa, T. 2001. High sensitive colorimetric method of reducing sugar using ferric iron reagent. *Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci.* **22**: 109-116. [In Japanese.]
- Ikeura, M., Sagisaka, K., Saito, I., and Takasawa, T. 2003. Cold adaptition of polygalacturonase activity from a cultured psychrotrophic snow mold *Sclerotinia nivalis*. *Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci.* **23**: 85-94. [In Japanese.]
- Kapoor, M., Khalil, B. Q., Bhushan, B., Dadhich, K. S., and Hoondal, G. S. 2000. Production and partial purification and characterization of a thermo-alkali stable polygalacturonase from *Bacillus* sp. MG-cp-2. *Process Biochem.* **36**: 467-473.
- Kester, H. C. M. and Visser, J. 1990. Purification and characterization of polygalacturonases produced by the hyphal fungus *Aspergillus niger*. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **12**: 150-160.
- Kirschenbaum, D. M. 1970. Selected data for molecular biology. In *Handbook of Biochemistry*. Edited by H. Sober. 2nd ed., pp. C71-C98. Chemical Rubber Company, Cleveland, Ohio.
- Nagai, M., Katsuragi, T., Terashita, T., Yoshikawa, K., and Sakai, T. 2000. Purification and characterization of an endo-polygalacturonase. From *Aspergillus awamori*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **64**: 1729-1732.
- Nasuno, S. and Starr, M. P. 1966. Polygalacturonase of *Erwinia carotovora*. *J. Biol. Chem.* **241**: 5298-5306.
- Pathak, N., Mishra, S., and Sanwal, G. G. 2000. Purification and characterization of polygalacturonase from banana fruit. *Phytochemistry*, **54**: 147-152.
- Read, S. M. and Northcote, D. H. 1981. Minimization of variation in response to different proteins of Coomassie blue G dye-binding assay for protein. *Anal. Biochem.* **116**: 53-64.
- Roberts, D. P., Denny, T. P., and Schell, M. A. 1988. Cloning of the egl gene of *Pseudomonas solanacearum* and analysis of its role in phytopathogenicity. *J. Bacteriol.* **170**: 1445-1451.
- Schejter, A. and Marcus, L. 1988. Isozymes of pectin-esterase and polygalacturonase from *Botrytis cinerea* Pers. *Methods Enzymol.* **161**: 366-373.
- Stephanie, J., Jean, B. L., and Pierre, A., Marie, N. R. 2002. A polygalacturonase of animal origin isolated from the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *FEBS Let.* **522**: 109-112.
- Takahashi, Y., Ikuma, T., Sagisaka, K., Saito, I., and Takasawa, T. 2002. Isolation of polygalacturonase I from the culture of the mesophilic white mold *Sclerotinia sclerotiorum* Res. *Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci.* **23**: 7-17. [In Japanese.]
- Takasawa, T., Sagisaka, K., Yagi, K., Uchiyama, K., Aoki, A., Takaoka, K., and Yamamoto, K. 1997. Polygalacturonase isolated from the culture of the psychrophilic fungus *Sclerotinia borealis*. *Can. J. Microbiol.* **43**: 417-424.
- Takeuchi, K., Ikuma, T., Sagisaka, K., Saito, I., and Takasawa, T. 2002. Cold adaptation of polygalacturonase activity from the culture of the psychrophilic snow mold *Sclerotinia borealis*. *Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci.* **22**: 243-255. [In Japanese.]
- Takeuchi, K., Ikuma, T., Takahashi, Y., Sagisaka, K., and Takasawa, T. 2001. High sensitive phenol-sulfuric acid colorimetric method. *Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci.* **22**: 103-107. [In Japanese.]
- Waksman, G., Keon, J. P. R., and Turner, G. 1991. Purification and characterization of two endopolygalacturonases from *Sclerotinia sclerotiorum*. *Biochim. Biophys. Acta*, **1073**: 43-48.
- 松浦義. 1946. 農林省指定 "紫雲英ニ関スル研究" 第一報. pp. 1-156. 山形県立農事試験場.

Summary

We investigated the properties of polygalacturonase (PGase) produced by bran culture of the psychrotrophic facultative snow mold *Sclerotinia trifoliorum*, and the conditions for bran culture were ex-

amined. The bran culture of *S. trifoliorum* was carried out for adequate periods at 5°C and 20°C. The PGase activities of 5°C and 20°C culture were 1.33U/mL ± 0.00750 (SE); CV0.997%, 1.62U/mL ± 0.0167 (SE); CV2.06%, respectively. The PGase of 5°C culture remained stationarily for 65-308days. Similaly, that of 20°C culture stayed constantly for 28-56days. The activities of *S. trifoliorum* at 5°C and 20°C were lower than those of the psychrophilic snow mold *S. bolealis*, the mesophilic white mold *S. sclerotiorum* and the psychrotrophic snow mold *S. nivalis*. Optimum pH for the enzyme reaction at 40°C was 4.5 for both 5°C and 20°C culture. In addition, the 5°C culture activities between pH3.5 and 5.0 showed more than 90% of the activity at pH4.5, and the 20°C culture activities between pH3.5 and 4.5 also showed more than 90% of the activity at pH4.5. On the temperature stability of PGase activity, no difference was observed between 20 °C and 5°C culture. Optimum temperature for the enzyme reaction at pH4.5 was 50°C for both 5°C and 20 °C culture. In the range of 5-10°C of the enzyme reaction, the relative activity against 40°C activity of 5°C culture was higher than the relative activity of 20°C culture. Thus, the PGase activity of 5°C culture was the same stability as 20°C culture PGase activity, and showed good cold adaptation, compared with the 20 °C culture PGase activity.

Key words : *Sclerotinia trifoliorum*; psychrotroph; polygalacturonase; cold adaptation; cell wall degrading enzyme

好冷性雪腐小粒菌核病菌 *Typhula ishikariensis* の 産生するポリガラクトロナーゼ活性の低温適応

田中 明良・斎藤 泉¹・高澤 俊英

Cold adaptation of polygalacturonase activity produced by culture of the psychrophilic snow mold *Typhula ishikariensis*

Akira TANAKA, Izumi SAITO¹, and Toshihide TAKASAWA
(受理: 2003年4月30日)

摘要

好冷性雪腐小粒菌核病菌 *Typhula ishikariensis* のフスマ培養粗抽出液ポリガラクトロナーゼ活性の性質を調べ、フスマ培養条件の検討を行った。*Typhula ishikariensis* のフスマ培養に於いて産生するポリガラクトロナーゼ活性 (40°C・pH4.5) は $0.261\text{U/mL} \pm 4.43 \times 10^{-3}$ (SE); CV8.98%であった。この活性含量は、好冷性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia borealis* 及び常温性菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* に較べて各々2.19%及び2.07%で非常に低かった。しかしながら、5°Cにおける活性については、50°Cに於ける最大活性に対する相対活性は42.1%で、40°Cに於ける活性に対する相対活性に至っては50.7%の非常に高い値になり、常温菌 *S. sclerotiorum* に於ける場合は勿論のこと好冷菌 *S. borealis* に於ける場合に較べても非常に高い低温適応性を有していた。40°Cでの酵素反応の最適 pH は、5.0であった。しかしながら、pH4.5-5.5の範囲に於ける活性は pH 5.0での最大活性の ca.97-98%を有し、最適 pH 範囲は広かった。フスマ培養条件については、*Typhula ishikariensis* は好冷菌 *S. borealis* に較べて、より湿潤な条件に於いてよく生育した。

キーワード: *Typhula ishikariensis*, 好冷菌, ポリガラクトロナーゼ, 低温適応, 細胞壁分解酵素

緒論

好冷性雪腐小粒菌核病菌 *Typhula ishikariensis* は担子菌類に属する植物病原菌である。土壤凍結期間が短く多雪地帯である北海道西部に分布し、オオムギやコムギ、芝草であるペントグラス、マメ科のアルファルファや赤クローバおよびイネ科のオーチャードグラス等の牧草に対し広く病原性を示す。

Typhula ishikariensis によって引き起こされる雪腐小粒菌核病は、晩秋降雨量が多く、そして冬季の積雪量も多く、又積雪下の地温が高くかつ土壤凍結期間が短時間である、等の場合において発病するとされ、病徵は融雪直後から現れ、茎葉は水浸状になり、ゆでたように軟

化して、乾くと灰褐色に変色する。この上に暗褐色～黒色、球形～不整形、直径0.5-1 mm程度の菌核を多数形成する。従って菌の成長にとって湿潤状態及び低温環境(0°C以上の非凍結状態)が必要であり、雪腐菌核病菌のなかでも特に *Typhula ishikariensis* は低温下における増殖性は高いとされている(星野ら 1997)。

我々はこれまで、雪腐大粒菌核病(*Sclerotinia* snow blight)の原因菌である好冷菌 *Sclerotinia borealis* (以下 *S. borealis*)を用いて、*S. borealis*由来のペクチン分解酵素であるポリガラクトロナーゼの低温活性を調べてきた。低温性微生物の低温環境適応機構についての報告はあまり多くはなく、タンパク質レベルでの適応機構の解明に関する報告(Hoyoux et al. 2001; Georlette

帯広畜産大学畜産科学科

School of Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine

¹ 北海三共株式会社農業科学研究所

¹ Agroscience Research Laboratories, Hokkai Sankyo Co. Ltd.

et al. 200; Wintrode et al. 2000; Kim et al. 1999; Feller et al. 1997; Davail et al. 1994) は特に少ない。我々は微生物が低温環境へどのように適応しているのかを即ちその仕組みを酵素タンパク質レベルからアプローチする目的で好冷性糸状菌が產生するポリガラクトロナーゼ活性の低温環境に対する挙動を天然に近い状態で調べるために、好冷菌からの粗抽出液中のポリガラクトロナーゼ活性の性質を比較検討する事を進めている。

ポリガラクトロナーゼは、植物細胞壁構成成分の一つであるペクチンを分解するペクチナーゼの一種で、ポリガラクトロン酸を主な基質とし、それ以外にもペクチン酸、ペクチン、及びペクチニン酸などの α -1, 4-ガラクトロニル結合を加水分解する酵素であり広く分布が知られている (Nagai et al. 2000; Pathak et al. 2000; Martel et al. 1998; Takasawa et al. 1997; Di Pietro and Roncero 1996; Iguchi et al. 1996; Martel et al. 1996; Tobias et al. 1993; Polizeli et al. 1991; Waksman et al. 1991; Keon and Waksman 1990; Kester and Visser 1990; Shastri et al. 1988; Tucker et al. 1981; Cervone et al. 1977)。植物病原菌は菌体外にペクチン分解酵素であるペクチナーゼやセルラーゼ、ヘミセルラーゼ等を分泌し、これらの酵素の作用によって植物細胞の細胞壁成分であるペクチン質やセルロース等の多糖を分解し、植物体の表層に傷害を与える宿主に侵入すると考えられる。

酵素は通常35°C~60°Cの中温域に至適温度を持つが、寒冷地に適応した *S. borealis* や *Typhula ishikariensis* などの微生物ではより低温域 (0°C~25°C) で高い活性を示す酵素（低温活性酵素）を生産している可能性がある。

我々が行った以前の研究 (Takeuchi et al. 2002)において、*S. borealis* の常温でのポリガラクトロナーゼ活性に対する低温での相対活性 (5°Cでの40°Cに対する相対活性値: ca. 35%) は高い値を示し、ポリガラクトロナーゼ活性の低温適応現象が観察された。雪腐小粒菌核病 (*Typhula snow blight*) の原因菌 *Typhula ishikariensis* は、*S. borealis* と同じく好冷菌であるので、*Typhula ishikariensis* の产生するペクチン分解酵素においても常温での活性に対する低温での相対活性が同様に高い値を示すのではないかと考えられた。

雪腐病は、その病原菌によって紅色雪腐病、雪腐小粒菌核病、雪腐大粒菌核病、雪腐褐色菌核病に分類されるが、*Typhula ishikariensis*, *Typhula incarnata* などの *Typhula* 属菌は多湿、暗黒、低温 (0°C以上の非凍結状態) を好み雪腐小粒菌核病を引き起こす。一方、雪腐大粒菌核病を引き起こす *S. borealis* は、低温、暗黒、そして多湿の代わりに凍結状態を必要とする。従って *Typhula ishikariensis* が主に多雪地域である道東にお

いて麦類雪腐病を発生させるのに対して、*S. borealis* は土壤凍結期間が長く、少雪地域である道東に主に分布している (Tomiyama 1955)。

従って低温環境下における植物への感染の際、*Typhula ishikariensis* と *S. borealis* とは異なった挙動を示すものと考えられ、両菌が分泌するペクチン分解酵素の低温でのポリガラクトロナーゼ活性についても何らかの異なる挙動を示すものと思われる。

それ故に本研究では *Typhula ishikariensis* の培養条件および *Typhula ishikariensis* が产生するペクチン分解酵素であるポリガラクトロナーゼ活性の性質を明らかにするために最適 pH、温度依存性等の性質を調べた。

材料及び実験方法

菌株

Typhula ishikariensis は、北広島市に於いて (1998.5. 15) ベントグラスより採取した。

試薬

試薬は以下の会社からのものを使用した。Potato-Dextrose-Agar (以下 PDA) (Difco Laboratories); コムギフスマ (十勝米穀); 無水炭酸ナトリウム 特級、クエン酸 特級 (関東化学); シアン化カリウム 特級、フェリシアン化カリウム 特級、硫酸鉄(III)アンモニウム12水和物 (以下鉄ミョウバン) 特級、ラウリル硫酸ナトリウム (以下 SDS) 生化学用、硫酸 精密分析用, Hyflo super-cel, 水酢酸 特級、酢酸ナトリウム 特級、リン酸特級 (85% (w/w)), メタノール 特級 (99.8% (v/v)), アジ化ナトリウム 化学用 (90.0% (w/w)) (和光純薬工業); Coomassie brilliant blue (以下 CBB) G-250 (半井化学薬品工業、電気泳動用特製, Lot No. M 7 R 3031); D-ガラクトロン酸 1水和物、ジガラクトロン酸 (以下 Di-GA) (Approx.98%), ポリガラクトロン酸 (From Orange; Loss on drying 7.2%; Purity 89%), Bovine Serum Albumin (以下 BSA) (Crystallized and lyophilized), MOPS (3-[N-Morpholino]propanesulfonic acid) (Sigma); MES (2-Morpholinoethane sulfonic acid) 特級 (Merck)。

PDA 培地での *Typhula ishikariensis* の培養

3.9% (w/v) PDA 液を三角フラスコ中で 121°C • 2.2 Kg/cm², 20 分間オートクレーブ滅菌した。この PDA 液を、クリーンベンチ内でオートクレーブ滅菌済みのシャーレに 20mL づつ分注して室温まで放冷し、固化させた。スラント培地中に保存された *Typhula ishikariensis* の菌糸を、滅菌竹串を用いて無菌的に切り出し、シャーレ上の PDA 培地上に移植した。これを 5°C (インキュベーター内) で約 3 ヶ月間静置培養した。

小麦フスマ培地での *Typhula ishikariensis* の培養

小麦フスマ30g 及び水50mL を混和し500mL 三角フラスコ中に入れた。これをオートクレーブ滅菌したのち、クリーンベンチ内で室温まで十分に放冷後、シャーレ上で培養した *Typhula ishikariensis* の菌糸を PDA 培地とともに加え (500mL 三角フラスコ培養 / 1枚のシャーレ培養), 5℃で約7ヶ月間静置培養した。

培養期間の異なる PDA 培養からの小麦フスマ (ペトリディッシュ) 培養

フスマをほぼ粉末状になるまでミキサーを用いて破碎し、それをふるいにかけフスマ破碎物を集めた。シャーレ (最大外径×全高 94×21mm) にふすま破碎物 9 g と純水15mL を加え、均質に混合した後、オートクレーブ前のフスマ、水分、及びシャーレの総重量を記録した。シャーレをアルミホイルで包み、オートクレーブ滅菌し、クリーンベンチ内で重量を測った。そしてオートクレーブ前後の重量の差分を、オートクレーブによって蒸発した水分量として、滅菌水を滅菌後のフスマ培地に加えた。その後、PDA 培地上で約1ヶ月間および、約7ヶ月培養した *Typhula ishikariensis* を直径1cm のコルクボーラーを用いて培地ごとくり抜き、作成したフスマ培地上に移し、5℃に静置した。成長の度合いはノギスを用いてコロニーの長径と短径を測り面積を求ることによって見積った。

湿潤条件を変化させた小麦フスマ (ペトリディッシュ) 培養

フスマはミキサーを用いて破碎し、それをふるいにかけた。破碎フスマ：水 (w:v) についてそれぞれ、3:2, 3:3, 3:5, 3:7, 3:9, 即ちフスマ 9 g に対し、純水 6 mL, 9 mL, 15 mL, 21 mL, 27 mL を加え、均質に混合後シャーレ (最大外径×全高 94×21mm) に移し各湿潤条件について4枚作成し、オートクレーブ滅菌した。その後 PDA 培地上で約一ヶ月間培養した *Typhula ishikariensis* を直径1cm のコルクボーラーを用いて培地ごとくり抜き、作成したフスマ培地上に移し、5℃に静置した。

粗抽出液の調製

500mL 三角フラスコ内において小麦フスマ培地上で培養した *Typhula ishikariensis* からの粗抽出液の調製は、三角フラスコ 1 個当たり 10mM 酢酸ナトリウム-酢酸 (pH4.5) バッファー 200mL を用いて行った。

まず 5℃においてフスマ培地上で培養した *Typhula ishikariensis* の菌糸とフスマ培地に 10mM 酢酸ナトリウム-酢酸 (pH4.5) バッファーを加えて 2 フラスコの内容物を定量的にミキサーに移した。ミキサーの内容物を 5 秒間攪拌し、5℃で 1 時間静置後、5 秒間攪拌した。さらに同様の静置と攪拌を 1 回行い、最後に 5℃で 30 分

間静置し、軽く攪拌した。これを 2 枚重ねのガーゼを用い、手 (ビニールグローブ着用) で絞って濾過し、その濾液 390mL を集めた。これに、濾過補助剤として Hyflo super-cel (和光純薬工業) 約 12g (3 g/100mL) を加えて攪拌後、吸引濾過 (定量用濾紙 No. 5 B, Advantec) した (濾液 pH7.15)。その後、濾液を 5℃で 15 000 rpm・15 分間遠心分離した。上澄み液に冰酢酸を加え、pH4.5 に調整した後、再び遠心分離した。最後に、メンブラン (セルロースアセテート膜: 0.45 μm, Advantec) 濾過滅菌を行った。この濾液を粗抽出液として、ポリボトルに分注して 5℃で保存した。

1% (w/v) ポリガラクツロン酸 (pH4.5) 基質溶液の調製

1% (w/v) ポリガラクツロン酸基質溶液は以前述べた方法 (Takeuchi et al. 2002) に従って調製した。この溶液の全糖濃度は Hodge and Hofreiter (1962) 法を改良した高感度フェノール硫酸法 (Takeuchi et al. 2001) によって、還元糖濃度は Park and Johnson (1949) 及び Ikuma et al. (2001) の方法を改良した高感度鉄試薬改良法によって、D-ガラクツロン酸を標準物質として決定した。これらの結果から、ポリガラクツロン酸の平均重合度 (Degree of polymerization) (平均重合度 26.2 ± 0.45 (SE); (CV 4.19%)) を求めた。

ポリガラクツロナーゼ活性測定法

粗抽出液中のポリガラクツロナーゼ活性は、酵素反応総体積 2.2 mL 系 (1% (w/v) ポリガラクツロン酸-0.1 M 酢酸ナトリウム-酢酸 (pH4.5) バッファー基質溶液 2.0 mL, 粗抽出液 200 μL) において、還元糖量を高感度鉄試薬改良法により定量し、その遊離速度から求めた。基質溶液 (10 μL) の還元糖量を定量し、酵素溶液の添加による希釈率で補正した値を酵素反応 0 分における基質溶液の還元糖量として使用した。

基質溶液 2.0 mL に粗抽出液 200 μL を加えて、酵素反応を 40℃ (恒温槽:THERMO MINDER DX-10, TAITEC) で開始した。

開始後 10 分、20 分及び 30 分で反応混液 (10 μL) を取り、酵素反応停止液 (純水 490 μL 及び高感度鉄試薬改良法試薬 1 (0.05M 炭酸ナトリウム-0.01M シアン化カリウム) 500 μL) の入った試験管に加えて、酵素反応をアルカリへの暴露によって停止した。

次に高感度鉄試薬改良法試薬 2 (0.0015M フェリシアン化カリウム) 500 μL を加えて攪拌し、100℃で 15 分間加熱した。

その後 -20℃ に 5 分間暴露して室温程度まで冷却した後、高感度鉄試薬改良法試薬 3 (0.075% 鉄ミヨウバン-0.3% (w/v) SDS-0.03N 硫酸) 2.5 mL を加え、30℃で 15 分間インキュベートし、発色させた。

この溶液の A₆₉₀ を測定し、D-ガラクツロン酸を標準物

質とした標準曲線 (D-ガラクトロン酸 1 μg 当たりの $A_{690} : 0.09221 \pm 1.90 \times 10^{-4}$ (SE) (CV 0.62%)) に基づいて酵素反応溶液 (10 μL) 中の各時間での還元糖量 (μg) を求めた。

また、酵素反応 0 分における還元糖量は、予め測定した粗抽出液の還元糖濃度から反応混液 (10 μL) 中に存在する粗抽出液由来の還元糖量を計算して、その値 ($0.9982\mu\text{g} \pm 2.41 \times 10^{-3}$ (SE); (CV 6.84%)) を酵素ブランクとして、0 分における基質溶液 (10 μL) 中に存在する還元糖量に加えた。

それぞれの還元糖遊離量をガラクトロン酸換算 μmol (in 10 μL) に変換後、酵素反応混液 2.2mL 中の還元糖の遊離速度 ($\mu\text{mol}/\text{min.}$) を求めた。各実験の再現性は 4 重の実験値の相対試料標準偏差によって調べた。

酵素活性の 1 U は還元糖の遊離速度 1 $\mu\text{mol}/\text{min.}$ と定義した。

1 % (w/v) ポリガラクトロン酸 (pH4.0~7.5) 基質溶液の調製

2 % (w/v) ポリガラクトロン酸水溶液を 100mL, 0.4M 酢酸ナトリウム-酢酸バッファー 50mL を 200mL メートルグラスに加え、5 M 水酸化ナトリウム溶液あるいは氷酢酸を用いて pH4.0, 5.0 及び 5.5 にあわせた後、純水で 200mL にメスアップした。

また、0.4M クエン酸-NaOH バッファーを用いて pH 5.5, 6.0, 6.5 及び 7.0 の基質溶液を、0.4M MOPS-NaOH バッファーを用いて pH 6.5, 7.0 及び 7.5 基質溶液を調製した。また 0.25M MES-NaOH バッファー 40mL, 2 % (w/v) ポリガラクトロン酸溶液 50mL を加え純水で 100 mL にメスアップし、pH 6.0 及び 6.5 基質溶液を調製した。

調製した 1 % (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液を遠心分離 (15 000 rpm • 15 分 • 20°C) 後、上澄み液をビーカーに集めた。これをさらにメンプラン (セルロースアセテート膜: 0.45 μm , Advantec) 濾過によって濾過滅菌した。その後これらを基質として酵素活性を測定した。

ポリガラクトロナーゼ活性の pH 依存性

種々のバッファーを使って調製した pH 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.5, 7.0 及び 7.5 基質溶液を使用し、ポリガラクトロナーゼ活性を求めるために、酵素反応総体積 2.2mL 系 (1 % (w/v) ポリガラクトロン酸-0.1M 各バッファー基質溶液 2.0mL, 粗抽出液 200 μL) において酵素反応を行った。

クエン酸バッファー使用酵素活性測定系の高感度鉄試薬改良法への影響

ポリガラクトロナーゼ活性測定法における酵素反応体積 2.2mL 系のクエン酸ナトリウム-クエン酸バッファー濃度に対応させるために、(1.7mL 純水及び 0.5mL 0.4M クエン酸ナトリウム-クエン酸 (約 pH 6.1) バッ

ファー) 混合溶液を調製した。

D-ガラクトロン酸が 0 ~ 10 μg 含まれるように 0 ~ 100 μL の 0.1mg/mL D-ガラクトロン酸標準溶液をそれぞれの試験管に取り、混合溶液 10 μL を添加し、純水を加えて試料体積を 500 μL にした。

これらの試料を用いて高感度鉄試薬改良法によって標準曲線を作成し、Factor を求めた。この実験操作を 3 重に 3 回行った。

ポリガラクトロナーゼ活性の温度依存性

1 % (w/v) ポリガラクトロン酸-0.1M 酢酸ナトリウム-酢酸 (pH 4.5) バッファー基質溶液を用いて 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 及び 70°C における、*Typhula ishikariensis* 粗抽出液の酵素活性を活性測定法に従って測定した。

粗抽出液中のエキソポリガラクトロナーゼ活性の測定

0.0496% (w/v) ポリガラクトロン酸-0.1M 酢酸ナトリウム-酢酸 (pH 4.5) バッファー基質溶液または 0.1% (w/v) Di-GA-0.1M 酢酸ナトリウム-酢酸 (pH 4.5) バッファー基質溶液 2.0mL に粗抽出液 200 μL を加えて、酵素反応を 40°C で開始した。

開始後 10, 20, 30, 40, 50 及び 60 分で反応混液 10 μL を取り、酵素反応停止液 (純水 490 μL 及び高感度鉄試薬改良法試薬 1 500 μL) に入れて攪拌し、酵素反応をアルカリへの暴露によって停止させ、各反応時間での還元糖を PGase 活性測定法に従って発色した。この溶液の A_{690} を測定し、D-ガラクトロン酸を標準物質とした標準曲線に基づいて酵素反応混液 10 μL 中の各時間での還元糖量 (μg) を求めた。

次にこれら還元糖量から 0 分における基質由来還元糖量 (還元末端量) の酵素反応混液 10 μL 相当分を差し引いた。

更に、10, 20, 30, 40, 50 及び 60 分における反応混液中に存在する還元糖量から粗抽出液由来の還元糖量を、予め測定した粗抽出液の還元糖濃度を用いて反応混液 10 μL 中に存在する粗抽出液由来の還元糖量を計算して、その値 ($0.9982\mu\text{g} \pm 2.41 \times 10^{-3}$ (SE); (CV 6.84%)) を更に差し引いた。

各時間における還元糖遊離量をガラクトロン酸換算量の μmol (in 10 μL) に変換後、10, 20, 30, 40, 50 及び 60 分における還元糖 mol 数を、はじめから基質溶液 2.0 mL 中に存在していたグリコシド結合の mol 数 (5.4 μmol : ポリガラクトロン酸保存溶液の平均重合度 27.4 及び各基質の分子量から計算) に対する相対値即ち切断したグリコシド結合の割合 (%) として表した。

0.1% (w/v) Di-GA 基質の場合には、最初から Di-GA 基質溶液 2.0mL 中に存在していたグリコシド結合の mol 数は秤量重量から計算した Di-GA の mol 数を使用した。

タンパク質の定量

粗抽出液のタンパク質濃度は Bradford (1976) 及び Read and Northcote (1981) の方法に改良を加えた高感度 CBB G-250 色素結合法 (Ikuma et al. 2002) によって BSA を標準物質として決定した。

色素試薬は 0.025% (w/v) CBB G-250-12.5% (v/v) メタノール-70.83% (w/v) リン酸を使用した。BSA 標準溶液は 0.1mg/mL-0.04% (w/v) アジ化ナトリウムを使用した。BSA 標準溶液のタンパク質濃度は $A_{280}^{1\% (w/v)} = 6.60$ (Kirschenbaum 1970) を用いて決定した。発色は 0.8mL タンパク質溶液 (0 - 9 μ g protein), 0.2mL CBB G-250 色素試薬で行った。

結果及び考察

タンパク質含量

Typhula ishikariensis 培養粗抽出液のタンパク質濃度を決定するために、BSA を標準物質として CBB 色素試薬を用いた高感度タンパク質定量法 (Ikuma et al. 2002) による標準曲線を作成し、タンパク質 1 μ g 当たりの A_{595} を決定した。標準曲線作成実験は 3 重を行い、Factor は $0.03414 \pm 8.50 \times 10^{-4}$ (SE); (CV 4.32%) で、相関係数は 0.9986 となり高い直線性を示した。この Factor を用いて、粗抽出液のタンパク質濃度を求めた。その結果、粗抽出液に含まれるタンパク質濃度は $0.328 \text{ mg/mL} \pm 1.56 \times 10^{-2}$ (SE); (CV 1.35%) となった。

ポリガラクトロナーゼ活性含量

Typhula ishikariensis が産生するポリガラクトロナーゼ活性の含有量を明らかにするため、常法 (Takeuchi et al. 2002) に従い rate-assay 法によって反応時間 9 分間 (0, 3, 6 及び 9 分) の酵素活性測定を行った。培養粗抽出液のポリガラクトロナーゼ活性測定は酵素反応総体積 2.2mL 系 (1% (w/v) ポリガラクトロン酸 (pH4.5) 基質溶液 2.0mL および粗抽出液 200 μ L) において 40°C で行った。

反応混液 10 μ L における 1 分間あたりの還元糖増加量は、0.08763, 0.04480, 0.05725, 及び 0.05548 μ g/min (平均値 $0.06129 \mu\text{g}/\text{min} \pm 9.20 \times 10^{-3}$ (SE), CV 30.02%) となり活性が低く、9 分間の rate-assay 法による酵素活性の測定では十分な再現性が得られなかった。それ故に活性測定時間を 30 分間に延長し、10, 20 及び 30 分における反応混液中の還元糖量を測定し、還元糖増加量を見積もった。その結果活性値は低下したが、0.04601 μ g/min (in 10 μ L) $\pm 7.81 \times 10^{-4}$ (SE); (CV 8.98%) となり CV 値は 1/3 以下になり再現性は大きく向上した。従って、*Typhula ishikariensis* 培養粗抽出液の酵素活性に関しては、10 分間隔法によって測定を重ねることで真値を推定することができると判断し、酵素反応時間を 30 分

間に設定し、10, 20 及び 30 分における反応混液中の還元糖量を測定することによって酵素活性を見積もった。

結果として *Typhula ishikariensis* 培養粗抽出液 1 mL当たりの酵素活性は $0.2607 \mu\text{mol}/\text{min} \pm 4.43 \times 10^{-3}$ (SE); (CV 8.98%) と見積もられた。雪腐菌核病菌 *S. borealis*, 及び菌核病菌 *S. sclerotiorum* の培養粗抽出液 1 mL 当たりのポリガラクトロナーゼ活性 $11.87 \mu\text{mol}/\text{min}$ 及び $12.61 \mu\text{mol}/\text{min}$ (Takeuchi et al. 2002) に対して、*Typhula ishikariensis* 培養粗抽出液 1 mL 当たりのポリガラクトロナーゼ活性は $2.19\% \pm 3.73 \times 10^{-2}$ (SE); (CV 8.98%), 及び $2.07\% \pm 3.51 \times 10^{-2}$ (SE); (CV 8.98%) の値を示し、*Typhula ishikariensis* のポリガラクトロナーゼ活性の含有量は *S. borealis* 及び *S. sclerotiorum* に較べて非常に少なかった。

Typhula ishikariensis の小麦フスマ培養において菌糸が生長するためには *S. borealis* と較べて長期間の培養を必要とすることと、ポリガラクトロナーゼ活性が *S. borealis* に比べて著しく低いこととの間には相関関係があると思われる。*Typhula ishikariensis* の植物感染においてはポリガラクトロナーゼ以外の他の酵素系が関与している可能性も考えられるが、*Typhula ishikariensis* は腐生性即ち死物寄生性が高いこと、換言すると病原性が弱いこととポリガラクトロナーゼ活性が低いことは強く関連するものと思われる。従って、これまでに報告 (Tomiyama 1955) された *Typhula ishikariensis* の雪腐菌核病についての結果を考慮すると、ポリガラクトロナーゼが本菌の病原性に深く寄与しているものと思われる。

ポリガラクトロナーゼ活性の温度依存性

1% (w/v) ポリガラクトロン酸-0.1M 酢酸ナトリウム-酢酸 (pH4.5) バッファー基質溶液を用いて 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 及び 70°C (恒温槽: THERMO MINDER DX-10, TAITEC) における、*Typhula ishikariensis* 粗抽出液のポリガラクトロナーゼ活性を測定した (図 1)。結果は、60°C 最大活性 ($0.365 \text{ U/mL} \pm 9.80 \times 10^{-3}$ (SE); (CV 14.2%)) に対して、各温度における活性値の相対値 (%) で示した (図 2)。図 1 に示すように、65°C 及び 70°C での活性値 (65°C ($0.240 \text{ U/mL} \pm 7.44 \times 10^{-3}$ (SE); (CV 16.4%)), 70°C ($0.107 \text{ U/mL} \pm 5.96 \times 10^{-3}$ (SE); (CV 29.3%))) は 60°C 最大活性に較べて著しく減少した。65 及び 70°C での活性測定において、10, 20 及び 30 分における還元糖量の増加量は 10 分以後、次第に増加の割合が減少していたことから、酵素は 65°C 以上の温度においては 10 分以後は緩やかに失活したものと思われる。60°C から 5°C までの範囲においては、活性は温度の低下とともに緩やかに低下し、5°C における活性は $0.144 \text{ U/mL} \pm 3.47 \times 10^{-3}$ (SE); (CV 12.7%) であった。結果として 5°C での 60°C に対する相

対活性は約 $39.5\% \pm 9.49 \times 10^{-3}$ (SE) ; (CV 12.7%) であり, 50°Cに対する相対活性は $42.2\% \pm 1.01 \times 10^{-2}$ (SE) ; (CV 12.7%), 及び40°Cに対する相対活性は $50.9\% \pm 1.22 \times 10^{-2}$ (SE) ; (CV 12.7%) であった (図2)。

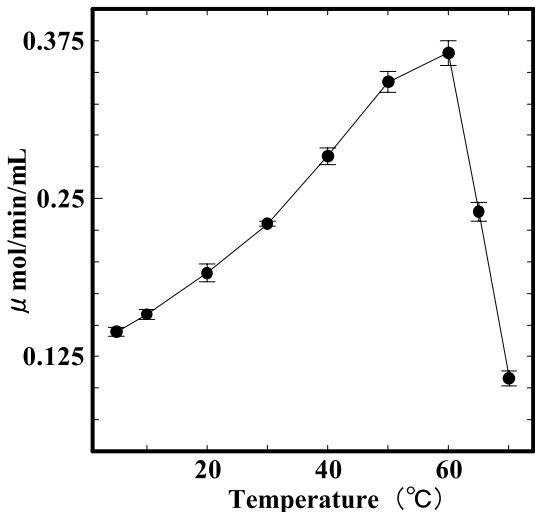


図1. 粗抽出液ポリガラクトロナーゼ活性の温度依存性. 反応総体積2.2mL系 (2.0mL 1% (w/v) ポリガラクトロン酸 (pH4.5) 基質溶液及び200μL 粗抽出液)において酵素活性を測定した.

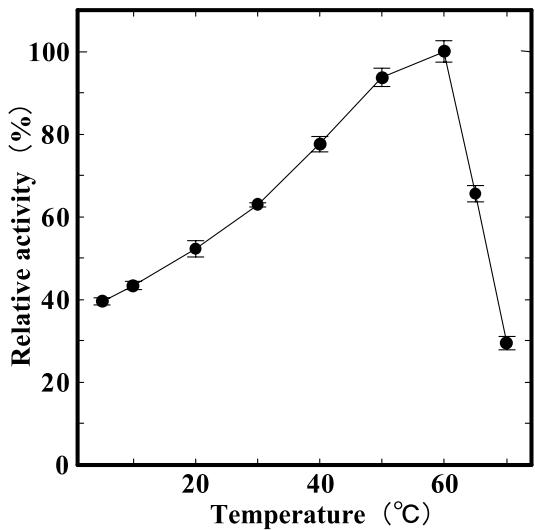


図2. 粗抽出液ポリガラクトロナーゼ活性の温度依存性における60°Cに対する相対活性. 反応総体積2.2mL系 (2.0mL 1% (w/v) ポリガラクトロン酸 (pH4.5) 基質溶液及び200μL 粗抽出液)において酵素活性を測定した.

従って *Typhula ishikariensis* 培養粗抽出液の 5 °Cにおける40°C相対活性は, *S. borealis* 粗抽出液のポリガラクトロナーゼ活性についての 5 °Cでの40°C相対活性 (ca. 35% : Takeuchi et al. 2002) にくらべて非常に高い値を示した。この事実から *Typhula ishikariensis* のポリガラクトロナーゼ活性は好冷性雪腐菌核病菌 *S. borealis* に較べて非常に高い好冷性, 即ち低温適応性を有していると結論できる。また, 最大活性温度について

ては好冷菌 *S. borealis* の場合は40°Cであったが, *Typhula ishikariensis*においては60°Cで, 20°Cも高くなり *Typhula ishikariensis* のポリガラクトロナーゼ活性は低温での活性も高かったが, 高温域においても高く, 温度安定性が非常に高かった。

しかし *Typhula ishikariensis* の場合, 最大活性を与える60°Cにおける粗抽出液 1mL当たりの酵素活性の値は $0.365 \mu \text{mol}/\text{min}$ すなわち $0.365 \text{U}/\text{mL} \pm 9.80 \times 10^{-3}$ (SE) ; (CV 14.2%) であり, *S. borealis* 粗抽出液における40°C最大活性 (pH4.5) $11.87 \text{U}/\text{mL}$ (Takeuchi et al. 2002) に対して約3.24%の値しか示さず, *Typhula ishikariensis* のポリガラクトロナーゼ活性含有率は *S. borealis* に比べて非常に低かった。

以上の結果, 培養粗抽出液中に微量ながら存在するポリガラクトロナーゼ活性の低温適応性によって, *Typhula ishikariensis* は温度変化にさらされても環境変化を克服して, 安定した酵素の働きを維持し, 植物感染の際に, *Typhula ishikariensis* がより確実に宿主へ侵入する事を可能にしているものと思われる。

ポリガラクトロナーゼ活性の pH 依存性

Typhula ishikariensis 培養粗抽出液のポリガラクトロナーゼ活性の最適 pH を, pH の異なる 1% (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液を使用して調べた (図3)。

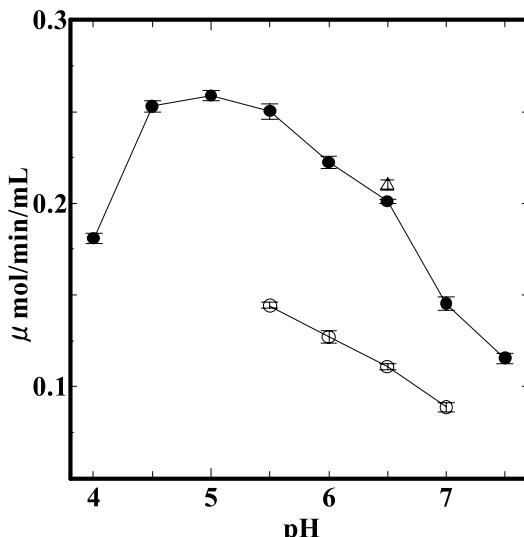


図3. 粗抽出液ポリガラクトロナーゼ活性の pH 依存性. 反応総体積2.2mL系 (1% (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液2mL, 粗抽出液200μL)において, 40°Cでの酵素活性を測定した. ●: 各バッファーを用いて調製した 1% (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液を用いて, pH4.0~5.5, pH6.0~6.5, 及び pH7.0~7.5での酵素活性を測定し, 各々の基質調製に使用したバッファーは, 酢酸ナトリウム-酢酸バッファー, MES-NaOH バッファー, 及び MOPS-NaOH バッファーであった. △: MOPS-NaOH バッファーを用いて調製した 1% (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液を用いて pH6.5での酵素活性を測定した. ○: クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを用いて調製した 1% (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液を用いて pH5.5~7.0での酵素活性を測定した.

pH6.0及び6.5の基質溶液は0.1M クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを用いて調製したが、その過程において基質溶液中に白濁が生じたため、懸濁（サスペンション）系で酵素活性測定を行った結果、粗抽出液1mL当たりの活性値はpH6.0では $0.127\mu\text{mol}/\text{min} \pm 3.43 \times 10^{-3}$ (SE) ; (CV 14.3%) で、pH6.5では $0.111\mu\text{mol}/\text{min} \pm 1.59 \times 10^{-3}$ (SE) ; (CV 7.62%) であった。各々のpHでの活性値はpH4.5における粗抽出液1mL当たりの活性値 $0.2528\mu\text{mol}/\text{min}$ に対してそれぞれ約50%及び44%であった。

一方、0.1M MOPS-NaOH (pH7.0) バッファー基質溶液を用いて得られた活性値 $0.145\mu\text{mol}/\text{min} \pm 3.84 \times 10^{-3}$ (SE) ; (CV 13.9%) は、pH4.5における活性値に対して約57.3%であった。

pH7.0における粗抽出液のポリガラクツロナーゼ活性がpH6.0及びpH6.5における粗抽出液のポリガラクツロナーゼ活性に比べて高かったため、アルカリ性及び中性付近で最適活性を持つアイソザイム群が粗抽出液中に存在するのではないかとも考えられた。これを確認するために、0.1M クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファー (pH6.0及び6.5) の代替バッファーとして0.1M MES-NaOH バッファーを用いて、酵素活性を測定した。

その結果0.1M MES-NaOH バッファー pH6.0及び6.5の基質溶液で得られた活性値 (pH6.0は $0.222\mu\text{mol}/\text{min} \pm 3.21 \times 10^{-3}$ (SE) ; (CV 7.67%)、及びpH6.5は $0.201\mu\text{mol}/\text{min} \pm 1.28 \times 10^{-3}$ (SE) ; (CV 3.37%)) は、pH4.5における活性値と比較してpH6.0では87.2%、およびpH6.5では79.1%であった。これらの活性値は、0.1M クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを用いたpH6.0及び6.5活性値に対してそれぞれ172.9%、及び179.4%で、0.1M MES-NaOH バッファーを使用した場合には活性値が大きく上昇した。

以上の結果、基質溶液に用いたバッファーの違いによって活性値の差が生じたため、pH5.5~7.0の範囲においては異なるバッファーを用いた基質溶液で活性測定を行い、活性値を見積もることが必要であると判断した。

そこで更にpH6.5は0.1M MOPS-NaOH バッファーを用いた基質溶液で酵素活性を測定した。その結果得られた活性値 ($0.210\mu\text{mol}/\text{min} \pm 2.27 \times 10^{-3}$ (SE) ; (CV 6.99%)) はpH4.5における活性値と比較して82.4%の値を示し、0.1M MES バッファーを用いた基質溶液 (pH6.5) を使って測定した活性値 (($0.201\mu\text{mol}/\text{min}$) と比較して約4%ほどの違いはあったが、バラツキの範囲内ではほぼ一致した。

従ってpH6.5での活性値は0.1M MES-NaOH バッファー及び0.1M MOPS-NaOH バッファーでの値の信頼性が高いと思われる。

これらの結果によって0.1M クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを用いた活性値は低く見積もられることが明らかになったため、同バッファーを用いてpH5.5及び7.0基質溶液を作成し、調製過程で生じる白濁による沈殿を遠心分離によって除去したもの、および除去しないものについて高感度フェノール硫酸法を用いた全糖量の決定を行った。その結果、沈殿が除去されていないクエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを用いて調製した1% (w/v) ポリガラクツロン酸基質溶液の全糖濃度はMOPS-NaOH バッファー及び酢酸ナトリウム-酢酸バッファーを用いて調製した基質のものと殆ど差がなかった。一方、遠心分離により沈殿除去したクエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを用いて調製した基質溶液の全糖濃度はMOPS-NaOH バッファー及び酢酸ナトリウム-酢酸バッファーを用いて調製したものに較べて約68~71%の低下を示した。これらの結果は、クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを用いての基質溶液調製時に生じる白濁沈殿がポリガラクツロン酸由来のものであるということを示唆する。従って1%ポリガラクツロン酸-0.1M クエン酸ナトリウム-クエン酸 (pH6.0及び6.5) バッファー基質溶液での活性値の低下は基質濃度の低下に起因していると考えられる。

更にクエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーに含まれるクエン酸が、高感度鉄試薬定量法において Fe^{3+} を阻害、或いは拮抗的に作用し、その結果活性値が低く見積もられる可能性も考慮して、クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを添加した高感度鉄試薬定量法においてD-ガラクツロン酸を標準物質として標準曲線を作成した。その結果、 A_{690} はクエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを添加した場合約2%上昇したが、Factorについては約1%しか増加せず、クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーの高感度鉄試薬定量法に対する顕著な影響は観察されなかった（結果は示さない）。

結果として、クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファー基質溶液で測定したポリガラクツロナーゼ活性が低く見積もられた原因は確定できたと考えられる。

以上の結果から、*Typhula ishikariensis* 培養粗抽出液のpH6.0及びpH6.5の活性値としてはMES-NaOH バッファーを用いて得られた値を採用した。

また、pH4.0における活性測定において基質ブランクの吸光度がpH4.5のものに対して約85%程度であった。この原因としては、低いpHをもつ試料によって高感度鉄試薬改良法における A_{690} の発色が減衰する事が挙げられる。よってpH4.0における活性値については、発色が100%得られた場合における吸光度で、すなわち測定により得られた吸光度を0.85で補正（割算）して、還元糖增加量を求めた。図4に示すように、*Typhula*

ishikariensis 培養粗抽出液のポリガラクトロナーゼ活性は pH5.0において最大であり、pH4.5から5.5の範囲にかけては、最大活性と同等の値 (ca.97-98%) を示した。またポリガラクトロナーゼ活性についての pH3.5以下の測定は行わなかったが、pH4.5から4.0において活性は減少していた事から、pH3.5以下の活性についても同様に減少することが予想される。一方最大活性を示す pH5.0からは、pH の上昇に伴い活性値は徐々に減少した。しかし pH6.5においては活性値は pH5.0の約80%を示し、*Typhula ishikariensis* 粗抽出液のポリガラクトロナーゼ活性は中性付近の pH においても安定していたことを示している。

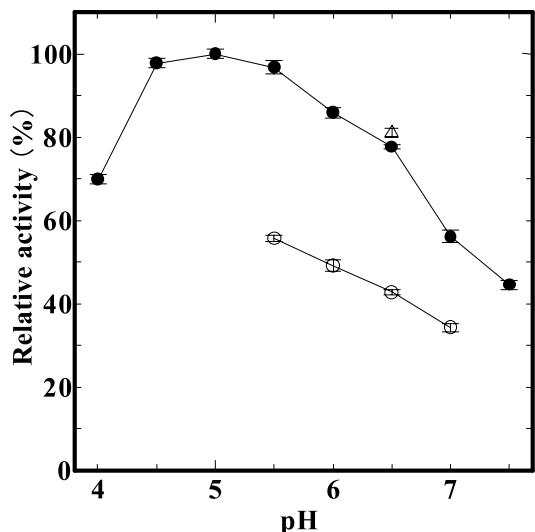


図4. 粗抽出液ポリガラクトロナーゼ活性の pH 依存性における pH5.0に対する相対活性。反応総体積2.2mL系 (1 % (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液 2 mL, 粗抽出液 200μL)において、40°Cでの酵素活性を測定した。●：各バッファーを用いて調製した 1 % (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液を用いて、pH4.0～5.5, pH6.0～6.5, 及び pH7.0～7.5での酵素活性を測定し、各々の基質調製に使用したバッファーは、酢酸ナトリウム-酢酸バッファー、MES-NaOH バッファー、及び MOPS-NaOH バッファーであった。△：MOPS-NaOH バッファーを用いて調製した 1 % (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液を用いて pH6.5での酵素活性を測定した。○：クエン酸ナトリウム-クエン酸バッファーを用いて調製した 1 % (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液を用いて pH5.5～7.0での酵素活性を測定した。

以上の結果は、*Typhula* 属菌の pH5.0以下の生育抑制及び、*S.borealis* の pH6.0以上の生育抑制を報告した富山(1955)の結果を、培養条件は異なるが裏付けるものであると思われる。更に、*Typhula ishikariensis* が产生するリパーゼ（脂質の重合体であるクチクラ層を分解するものと考えられる）活性において、至適 pH が中性またはアルカリ性であり、広い pH 範囲 (pH4.5～8.5)において活性が見られることが星野ら(1997)によって報告されていることから、*Typhula ishikariensis* は幅広い pH 域において安定であり、従って植物への感染

においても安定した酵素の働きを幅広い pH 域において確保しているものと想像される。

エキソポリガラクトロナーゼ活性

好冷性雪腐菌核病菌 *Typhula ishikariensis* 培養粗抽出液のポリガラクトロナーゼ活性は好冷性雪腐菌核病菌 *S.borealis* のものに較べると非常に低く、また小麦フスマ培養には長期間を要する (*Typhula ishikariensis*: 7ヶ月, *S.borealis*: 2ヶ月) ことから、酵素の挙動について調べる必要があると考えられた。

ポリガラクトロナーゼには end 及び exo 型が存在するため、*Typhula ishikariensis* の場合にはどのポリガラクトロナーゼを產生しているのかを調べた。更に、エキソポリガラクトロナーゼ活性をエンド活性と定量的に比較検討するために、エンドアッセイは通常の基質 1 % (w/v) ポリガラクトロン酸-0.1M 酢酸ナトリウム-酢酸 (pH4.5) バッファーの代わりに、0.1% (w/v) Di-GA-酢酸ナトリウム-酢酸 (pH4.5) バッファー基質とグリコシド結合濃度が同じ 0.0496% (w/v) ポリガラクトロン酸基質を使用して行った。図5に時間経過に伴う 0.0496% (w/v) ポリガラクトロン酸基質溶液及び 0.1% (w/v) Di-GA 基質溶液に対するグリコシド結合の切断割合をプロットしたものを示す。*Typhula ishikariensis* 培養粗抽出液は、ポリガラクトロン酸に対して時間経過に伴って A_{690} 、即ち遊離還元糖量の一定した増加を与えるエンドポリガラクトロナーゼ活性を示した。一方 Di-GA に対しては一定の時間経過に伴う A_{690} 、即ち遊離還元糖の増加は全く見られず、60分間の酵素活性測定において実験バラツキの範囲内で目だった活性を示さなかった。

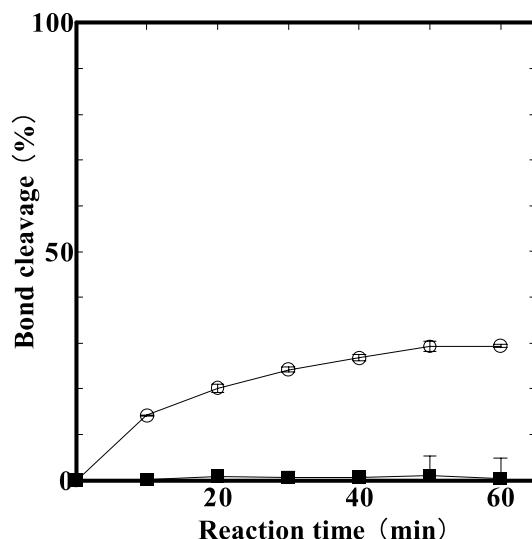


図5. エキソポリガラクトロナーゼ活性。各時間における 0.0496 % (w/v) ポリガラクトロン酸 (pH4.5) 基質溶液および 0.1 % Di-GA (pH4.5) 基質溶液に対する、粗抽出液のグリコシド結合切断割合をプロットした。○：0.0496% ポリガラクトロン酸基質。■：0.1% Di-GA 基質。

従って *Typhula ishikariensis* 培養粗抽出液中にはエキソポリガラクトロナーゼ活性は含まれず、ポリガラクトロナーゼ活性は低いが、すべての活性はエンドポリガラクトロナーゼによるものと判断した。

小麦フスマ（ペトリディッシュ）培養における PDA 前培養期間の影響

PDA 培養（5 °C）における *Typhula ishikariensis* の菌糸生長は *S. borealis*（約 2 ヶ月）に較べて非常に遅く、シャーレ（最大外径×全高 94×21mm）上に菌糸が繁茂するまで 3～4 ヶ月を必要とした。また、約 3 ヶ月を過ぎると菌核を形成するため、小麦フスマ培地への移植の際、PDA 培養の期間によって、*Typhula ishikariensis* のフスマ培地への移植後の生育の挙動が変わるものと思われた。従って、*Typhula ishikariensis* の PDA 培養について、長期間（約 7 カ月半）培養によって菌核が形成されたもの、及び未だ菌糸伸長が活発で菌核を形成していない 1 ヶ月間培養のものをフスマ培地に移植し、その後の菌糸伸長の速さを調べた。

シャーレごとの生長のばらつきを調べるために、各湿潤条件について 4 シャーレずつ作成した。各湿潤条件における 4 シャーレの菌糸面積の平均値を培養日数に対してプロットしたものを図 6 に示す。

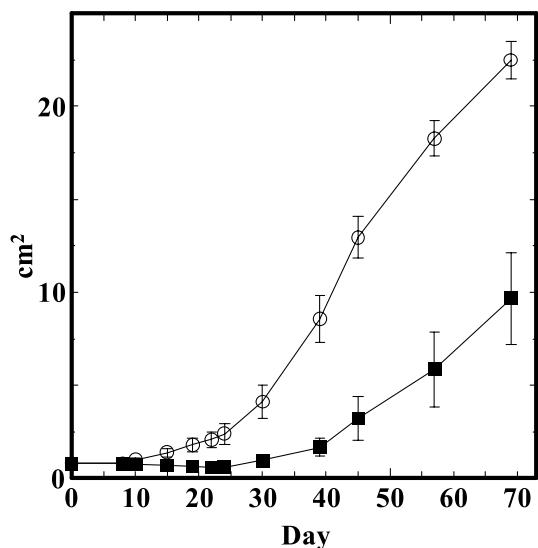


図 6. 小麦フスマ（ペトリディッシュ）培養における PDA 培養期間の影響。培養日数に対して 4 シャーレの平均値をそれぞれプロットした。どちらも直径 1 cm のコルクボーラーを用いて PDA 培地ごとフスマ培地（フスマ：水 (w/v) = 3 : 5）に移した。○：PDA 培地上で約 1 ヶ月間培養された *Typhula ishikariensis*。■：PDA 培地上で約 7 ヶ月間培養された *Typhula ishikariensis*。

長期間 PDA 培養した後、フスマ培地上に移植したものの伸長の速さは、PDA 培地 1 ヶ月培養のものと比べて非常に遅かった。長期間 PDA 培養されたものは、フスマ培地上で 1 ヶ月間菌糸伸長が開始されず、1 ヶ月以上経過後ようやく菌糸伸長が開始された。一方、PDA

培地において未だ菌核を形成していない活発に生長している 1 ヶ月培養のものは、フスマ培地上に移植後、約 1 週間で菌糸伸長を開始し、その後菌糸面積はスムーズに増加した。

このことは、PDA 培地上において長期間培養し菌核を形成した *Typhula ishikariensis* は休眠状態にあり、フスマ培地上へ移植後も未だ代謝活動が十分に行われていないことを示唆している。一方、PDA 培地上で 1 ヶ月間培養され、未だ菌糸伸長が活発に行われているものは、フスマ培地上に移植後も、より早期にフスマを分解することが可能である。よって長期間 PDA 培養されたものは、菌核を形成したために、フスマ培地移植後も代謝活動が十分に行われていないので、代謝エネルギー要求性が低くペクチン分解酵素の産生が遅延し、菌糸伸長が行われにくいものと思われる。

小麦フスマ（ペトリディッシュ）培養における最適湿潤条件

培養粗抽出液作成の為に小麦フスマ培地上（小麦フスマ 30g 及び純水 50mL（フスマ：純水 = 3 : 5 (w:v)）で *Typhula ishikariensis* を培養したところ、培養後 1～2 ヶ月経てようやく培地上で菌糸生長を開始し、菌糸確認後三角フラスコ（500mL）中に菌糸が繁茂するまでにはさらに 5～6 ヶ月と非常に長期間を要した。

この培養条件（フスマ：純水 (w/v) = 3 : 5）で *S. borealis* が約 2 ヶ月間で三角フラスコ中に菌糸を繁茂させるのに対し、*Typhula ishikariensis* が 7 ヶ月間と非常に長い期間を要することから、*Typhula ishikariensis* の成長はこの培養条件では抑制されているものと思われた。

Typhula ishikariensis は湿度を好み、また光が成長を阻害すると報告（Tomiyama 1955）されてきたので、フスマ培地における湿度が低い為に *Typhula ishikariensis* の成長が抑制されていると考え、湿潤条件の異なる小麦フスマ培地を作成し *Typhula ishikariensis* を冷暗所、低温（5 °C）において培養することによって、*Typhula ishikariensis* にとってより好ましい湿潤条件を検討した。

図 7（69 日間）は各湿潤条件における 4 シャーレの菌糸面積の平均値及び標準誤差を培養日数に対してプロットしたものである。3 : 5（フスマ：水 (w:v)）の割合で作成したフスマ培地で 1 ヶ月間培養した菌糸面積の平均値を 100% として、各湿度条件のシャーレにおける菌糸面積の相対値（%）は、3 : 2, 3 : 3, 3 : 7, 及び 3 : 9 について各々 $31.7\% \pm 4.52$ (SE); (CV 28.52%), $36.9\% \pm 3.00$ (SE); (CV 16.25%), $263\% \pm 51.6$ (SE); (CV 39.2%), 及び $316\% \pm 57.4$ (SE); (CV 36.3%) であった。1 ヶ月間の培養結果からは、培養日数の経過に伴い水分含量の多いフスマ培地ほど菌糸生長の速さが大きくなることが示され、最も水分含量の多い 3 : 9（フ

スマ：水 (w:v) 培養において菌糸生長が最も早かった。しかしながら、それ以後になった場合には、3 : 7 (スマ：水 (w:v)) の割合で作成したスマ培地における菌糸生長が、最も水分含量の多い 3 : 9 (スマ：水 (w:v)) のものを追い越した。従って *Typhula ishikariensis* の最適スマ培養条件はスマ：水 (w:v) = 3 : 7 であると結論した。

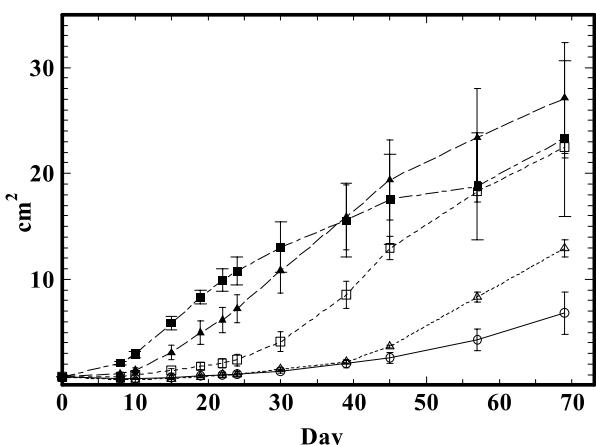


図 7. 小麦スマ (ペトリディッシュ) 培養における温潤条件。培養日数に対して 4 シャーレの平均値をそれぞれプロットした。スマ：水 (w/v) の割合は以下の通りである。
○, 3:2 ; △, 3:3 ; □, 3:5 ; ▲, 3:7 ; ■, 3:9.

この様な結果は、*Typhula ishikariensis* が湿度を好み、従って湿度が低い培地においてはその成長が著しく抑制されることを示す。これは余り湿度を好まない *S. borealis* とは対照的に、湿度を好むとされる *Typhula ishikariensis* 特有の性質であり、Tomiyama (1955) が得た結果を裏付けるものと思われる。

参考文献

- Bradford, M. M. 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
- Cervone, F., Scala, A., Foresti, M., Cacace, M. G., and Noviello, C. 1977. Endopolygalacturonase from *Rhizoctonia fragariae*. Purification and characterization of two isoenzymes. *Biochim. Biophys. Acta*, **482**: 379-385.
- Davail, S., Feller, G., Narinx, E., and Gerday, C. 1994. Cold adaptation of proteins. Purification, characterization, and sequence of the heat-labile subtilisin from the antarctic psychrophile *Bacillus TA41*. *J. Biol. Chem.* **269**: 17448-17453.
- Di Pietro, A. and Roncero, M. I. 1996. Purification and characterization of an exo-polygalacturonase from the tomato vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *FEMS Microbiol. Lett.* **145**: 295-299.
- Feller, G., Zekhnini, Z., Lamotte-Brasseur, J., and Gerday, C. 1997. Enzymes from cold-adapted microorganisms. The class C beta-lactamase from the antarctic psychrophile *Psychrobacter immobilis* A 5. *Eur. J. Biochem.* **244**: 186-191.
- Georlette, D., Jonsson, Z. O., Van Petegem, F., Chessa, J., Van Beeumen, J., Hubscher, U., and Gerday, C. 2000. A DNA ligase from the psychrophile *Pseudoalteromonas haloplanktis* gives insights into the adaptation of proteins to low temperatures. *Eur. J. Biochem.* **267**: 3502-3512.
- Hodge, J. E. and Hofreiter, B. T. 1962. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In *Methods in carbohydrate chemistry*. Edited by R. L. Whistler and M. L. Wolfrom. Academic press, New York, Vol. 1 pp.380-394.
- 星野保, 松本直幸, Anne Marte Tronsmo, 島貫忠幸, 坂本智美, 扇谷悟, 石崎紘三. 1997. 雪腐病菌 *Typhula ishikariensis* の生産する低温活性リバーゼ. 低温領域における新しい工学 講演要旨集. 通商産業省工業技術院北海道工業技術研究所. pp39-40.
- Hoyoux, A., Jennes, I., Dubois, P., Genicot, S., Dubail, F., Francois, J. M., Baise, E., Feller, G., and Gerday, C. 2001. Cold-adapted beta-galactosidase from the antarctic psychrophile *Pseudoalteromonas haloplanktis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 1529-1535.
- Iguchi, K., Kishida, M., and Sakai, T. 1996. Purification and characterization of three extracellular protopectinase with polygalacturonase activities from *Trichosporon penicillatum*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **60**: 603-607.
- Ikuma, T., Takeuchi, K., Takahashi, Y., Sagisaka, K., and Takasawa, T. 2001. High sensitive colorimetric method of reducing sugar using ferric iron reagent. *Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci.* **22**: 109-116. [In Japanese.]
- Keon, J. P. and Waksman, G. 1990. Common amino acid domain among endopolygalacturonases of ascomycete fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 2522-2528.
- Kester, H. C. and Visser, J. 1990. Purification and characterization of polygalacturonases produced by the hyphal fungus *Aspergillus niger*. *Biotechnol.*

- Appl. Biochem. **12**: 150-160.
- Kim, S. Y., Hwang, K. Y., Kim, S. H., Sung, H. C., Han, Y. S., and Cho, Y. 1999. Structural basis for cold adaptation. Sequence, biochemical properties, and crystal structure of malate dehydrogenase from a psychrophile *Aquaspirillum arcticum*. J. Biol. Chem. **274**: 11761-11767.
- Kirschenbaum, D. M. 1970. Selected data for molecular biology. In *Handbook of Biochemistry*. Edited by H. Sober. 2nd ed., pp. C-71-C-98. Chemical Rubber Company, Cleveland, Ohio.
- Martel, M. B., Letoublon, R., and Fevre, M. 1998. Purification and characterization of two endopolygalacturonases secreted during the early stages of the saprophytic growth of *Sclerotinia sclerotiorum*. FEMS Microbiol. Lett. **158**: 133-138.
- Martel, M. B., Letoublon, R., and Fevre, M. 1996. Purification of endo polygalacturonases from *Sclerotinia sclerotiorum*: Multiplicity of the complex enzyme system. Curr. Microbiol. **33**: 243-248.
- Nagai, M., Katsuragi, T., Terashita, T., Yoshikawa, K., and Sakai, T. 2000. Purification and characterization of an endo-polygalacturonase. From *Aspergillus awamori*. Biosci. Biotechnol. Biochem. **64**: 1729-1732.
- Park, J. T. and Johnson, M. J. 1949. A submicrodetermination of glucose. J. Biol. Chem. **181**: 149-151.
- Pathak, N., Mishra, S., Sanwal, G. G. 2000. Purification and characterization of polygalacturonase from banana fruit. Phytochemistry, **54**: 147-152.
- Polizeli, M. D., Jorge, J. A., and Terenzi, H. F. 1991. Pectinase production by *Neurospora crassa*: purification and biochemical characterization of extracellular polygalacturonase activity. J. Gen. Microbiol. **137** (Pt 8) : 1815-1823.
- Read, S. M. and Northcote, D. H. 1981. Minimization of variation in the response to different proteins of the Coomassie blue G dye-binding assay for protein. Anal. Biochem. **116**: 53-64.
- Shastri, P. N., Patil, M., and Shastri, N. V. 1988. Production, purification and properties of *Geotrichum candidum* polygalacturonase: regulation of production by pyruvate. Indian J. Biochem. Biophys. **25**: 331-335.
- Takasawa, T., Sagisaka, K., Yagi, K., Uchiyama, K., Aoki, A., Takaoka, K., and Yamamoto, K. 1997. Polygalacturonase isolated from the culture of the psychrophilic fungus *Sclerotinia borealis*. Can. J. Microbiol. **43**: 417-424.
- Takeuchi, K., Ikuma, T., Sagisaka, K., Saito, I., and Takasawa, T. 2002. Cold adaptation of polygalacturonase activity from the culture of the psychrophilic snow mold *Sclerotinia borealis*. Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci. **22**: 243-255. [In Japanese.]
- Takeuchi, K., Ikuma, T., Takahashi, Y., Sagisaka, K., and Takasawa, T. 2001. High sensitive phenol-sulfuric acid colorimetric method. Res. Bull. Obihiro Univ. Nat. Sci. **22**: 103-107. [In Japanese.]
- Tobias, R., Conway, W., and Sams, C. 1993. Polygalacturonase isozymes from *Botrytis cinerea* grown on apple pectin. Biochem. Mol. Biol. Int. **30**: 829-837.
- Tomiyama, K. 1955. Studies on the snow blight disease of winter cereals. Hokkaido Natl. Agric. Exp. Stn. Rep. **47**: 1-234. [In Japanese.]
- Tucker, G. A., Robertson, N. G., and Grierson, D. 1981. The conversion of tomato-fruit polygalacturonase isoenzyme 2 into isoenzyme 1 in vitro. Eur. J. Biochem. **115**: 87-90.
- Waksman, G., Keon, J. P., and Turner, G. 1991. Purification and characterization of two endopolygalacturonases from *Sclerotinia sclerotiorum*. Biochim. Biophys. Acta, **1073**: 43-48.
- Wintrode, P. L., Miyazaki, K., and Arnold, F. H. 2000. Cold adaptation of a mesophilic subtilisin-like protease by laboratory evolution. J. Biol. Chem. **275**: 31635-31640.

Summary

The properties of polygalacturonase activity produced by bran culture of the psychrophilic snow mold *Typhula ishikariensis* were investigated, and conditions for bran culture were examined. Polygalacturonase activity ($40^{\circ}\text{C} \cdot \text{pH}4.5$) which was produced in the bran culture of *Typhula ishikariensis* was $0.261 \text{ U/mL} \pm 4.43 \times 10^{-3}$ (SE); CV8.98%. This activity was correspondent to 2.19% of the content of the psychrophilic snow mold *S. borealis* and 2.07% of the content of the mesophilic white mold *S. sclerotiorum*, so the value was very much low. However, for the activity at 5°C , the relative activity to the maximum activity at 50°C was 42.1%, in addition, the relative activity to

the activity at 40°C was 50.7%, indicating very high values. Thus, polygalacturonase activity of *Typhula ishikariensis* showed good cold adaptation which was very higher than not only the mesophile *S.sclerotorum* but also the psychrophile *S.borealis*. Optimum pH for the enzyme reaction at 40°C was 5.0. On the other hand, the activity between pH4.5 and 5.5 showed ca. 97-98% of the activity at pH5.0, and therefore optimum pH range seemed to be wide. For the bran culture condition, *Typhula ishikariensis* grew well in the wetter condition than the psychrophile *S.borealis*.

Key words : *Typhula ishikariensis*; Psychrophile; Polygalacturonase; Cold adaptation; Cell wall degrading enzyme

翻訳者、中島敦

齋藤 一

Atsushi Nakajima, A Translator

Hajime Saito

(受理: 2003年4月30日)

1

太平洋戦争中、英米文学者は何をしていたのか。宮崎芳三は、著書『太平洋戦争と英文学者』において、戦争にひとまず真摯に対応した少数の英文学者とそれ以外の多数派を区別している。前者には、真珠湾攻撃に高揚して「屠れ米英われらの敵だ！分捕れ沙翁もわがものだ！」と自著『英文學史』に書き付けた大和資和の「日本の立場」の空疎さを冷静に批判した織田正信を始め、中野好夫、福原麟太郎、壽岳文章が含まれる。宮崎は、彼らの仕事に戦争という危機へのさまざまな応答ぶりを、言いかえれば批評の可能性を見出そうとしている。ただし、宮崎は、こうした特別な英文学者の批評的な仕事を顕彰するばかりではなく、「勉強ひとすじにがんばって戦争をすりぬける」ことを是としていた大多数の英米文学者の存在を浮き彫りにすることをも狙っているのである。⁽¹⁾ 多数派の非政治性という政治的姿勢こそ現在も変わらぬ英文学の本質なのであり、それこそ真剣に議論すべき問題である——宮崎のメッセージをごく簡単に要約するならば、このようになるであろうか。

少数者のエピソードの紹介に終始するのではなく、多数の英文学者と関わるシステムの存在を浮き彫りにする宮崎の仕事は、日本人にとって英文学とは何だったのか、どうあるべきかという問題を考察する者にとっての貴重な出発点である。⁽²⁾ ただし、宮崎の結論を誤解してはならない。「勉強ひとすじにがんばって戦争をすりぬけ」というとしていた者たちを、テキストを熱心に講読するあまり戦争が始まった事に気がつかなかったような仙人のごとき人々だったと考えてはならない。彼／女らの中の少なからぬ人々は、いわば「勉強ひとすじにがんばって」戦争と関わったからである。彼／女らは、例えは敵国である米英の書物を積極的に翻訳するという仕事を「がんばって」こなしたのである。

米英と闘う日本において、なぜその米英の書物を翻訳

紹介しなければならなかったのか。敵を知り己を知れば百戦危うからず、敵の発想を翻訳紹介によって知る必要もあるという発想が存在したのは言うまでもないが、⁽³⁾ 西欧人が西欧人のために書いた西欧文明批判を日本で翻訳紹介し、西欧人ですら批判する西欧は別の何物か、すなわち日本によって超克されなければならないことを暗示するというプロパガンダが行われていたことを忘れてはいけない。

そのようなプロパガンダの有効な手段として、当時有力だった総合誌や文芸誌あるいは新聞等に数多く掲載された翻訳書の広告の存在を忘れるわけにはいかないだろう。例えば、『中央公論』1942年3月号に掲載されていた柴田賢一訳のヴァン・ルーン『太平洋物語』(青年書房)の広告には、次のような紹介文があった。「茫茫たる太平洋は如何にして探検されたか。きら星の如き島々は、如何にして白人の手に歸したか。ヴァン・ルーンは鋭いメスによって剔りつゝ、白人によって汚辱された太平洋の姿を描く。正に白人自らの不遜と残虐を語る自己暴露の書だ。」また、『改造』1942年4月号に掲載された「アプトン・シンクレア著 庄野満雄・島田昇太郎譯『世界の終り』」という翻訳小説の広告は、この翻訳小説を次のように紹介していた。

獨英米の三少年を主人公とし、第一次世界大戦の勃發・経過・講和會議の實況を描き、その當時の米國國民の生活を微細に寫した本書は前大戦の側面史であると共に老大國英吉利の没落の暗示した、著者の最も圓熟せる技法によって書かれた興味津々たる傑作長編である。

『文學界』1942年2月号に掲載された「R・プリフォート作大木和郎譯『滅びゆく我が英帝國』」という広告の惹句も同工異曲である。「河上徹太郎氏——英國の國体や社会的勢力の動きや國際的立場の変遷を叙して、本書は實に明快である（「道德と教養」より）。」このように、

1942年当時の雑誌が「老大國英吉利の没落」や「滅びゆく我が英帝國」を語る（あるいは語っていることにさせられた）英米人の著作の翻訳を広告したのには理由がある。

その理由は、1942年4月から7月にかけて、『文藝』や『文學界』といった文芸誌のみならず、『改造』『中央公論』といった総合誌にも掲載された、紀行文「H. M. トムリンソン著・吉武好孝譯『海と密林の旅』」の広告（『新潮』1942年5月号）において容易に読みとることができる。

（図1）当時、新潮社が盛んに売り込んでいたこの翻訳書の広告の紹介文には、次のような文句があった。

著者は英人でありながら、その犀利公正の眼を以て、此の書に於いて舊西洋文明の批判をなし、東洋文明への憧れを示し、東洋に新秩序起るべき必然を憚らず豫言してゐるところは、著者の文化史觀の卓越せることを物語るもので、本書は大東亞南方圏の最もよき紹介書なりと信ずる。



図1

西洋文明を批判する西洋人の著作を翻訳紹介することで、日本の南方進出を暗に正当化するこの短い文章は、いわゆる「敵性言語」や文化を研究するがゆえに厳しい立場に追い込まれていた英米文学者たちや翻訳者たちに残されていた生き残りの方法を示していると言つてよいだろう。

トムリンソンの翻訳者であった吉武好孝は、自らが生き残るチャンスを逃さなかった。異例なほど多くの媒体に掲載されていた図1の広告に誘われて、『海と密林の旅』を書店で買うか立ち読みした読者は、おそらく吉武の手になる「はしがき」にも目を通すことになったであろうが、その「はしがき」は、ここで問題にしている英米文学者の生き残り戦術の典型例である。全文を引用しておく。

本書は、先ず第一に、今度の大東亞戰を契機として、いろいろな意味で我々日本人の最も大きな興味の焦點となりつつある所謂南方共栄圏内に於ける一英人作家の旅行記であるが、これを書いた時代は、同地域に於て、少くとも表面的には歐洲文化の王座がなほ揺らいでゐないやうに思はれた一九二四年である。

原著者H. M. トムリンソンは、幾つかの小説や、すぐれた旅行記の作者として、今日の英文壇に獨特な地位を占めてゐるすぐれた作家であるが、就中、紀行文學に於ては、藝術的な香氣の高い彼獨特な文体を創造し、一新境地を拓いた作家として、小説に於けるモームなどにも比肩されていい作家である。

彼は、小説家、旅行記作家である上に、美しく洗練された感覚をもつた立派な詩人でもある。従つて、彼の文學は、單なる事實や事件を平面的に述べるのではなくて、それらを受け取った作者自身の原始的な氣分と心持とを克明に描き分けることを特徴とする。そして、そのやうな原始的な刹那の感覚を尊ぶ彼の世界觀の根底には、いつも、文化的なものや文明人風なものに強く反対しようとするはげしい情熱が流れてゐる。

このやうな氣持をもつた彼の心は、古い歐洲文化の秩序を否定し、絶えずそれを脱け出さうとし、原始的なものをより多く残してゐる東洋の生活に、本能的に強まつた憧憬のやうなものを感じてゐる。

従つて、この旅行記は、ただ単に普通の意味の旅行記ではなく、いはば、一つの大きな散文詩のやうなものであるから、讀者諸君は、多くの知識や見聞のみを本書に素めないで、寧ろ、そこにおとなしく、然もかなり手きびしく述べられてゐる歐洲舊文化に對する原作者の批判を感じて行つて貰ひたい。

なほ序ながら、本書は、原著者の名紀行書の一つ "Tide-marks" を前後の數章を省いて、翻譯したもので、同著者による他の名著「海と密林」("The Sea and the Jungle") の姉妹篇であるところから、本書の題名をこのやうにしたこと、なほまた、拙譯文は、原文が我々日本人の讀者にとって特に分りにくいと思はれる極めて少數の箇所の他は、なるべく原文を忠實に譯したものであることを、茲にお断りして置く。

南方をよりよく知るといふ意味で、本書が多少とも我が國の文化の發達に役立つことを希ふ所以である。⁽⁴⁾

余計な解説は不要であろう。太平洋戦争最中の1942年、吉武のような翻訳者たちは、ルーン、シンクレア、プリフォート、そしてトムリンソンを、日本にとって都合のよい英米人へと祭り上げる作業に従事していたのである。⁽⁵⁾

ただし、このように結論したからといって、私は、これらの翻訳者たちが、日本植民地主義を公然と批判して逮捕投獄されるべきだったと言っているわけではない。彼／女らには、西欧植民地主義批判を翻訳し紹介するという作業を通じて国策へと協力するのではなく、こうした作業を通じて国策へと抵抗するという可能性は残されていなかったのかどうかを考えてみたいのである。私がそう思う最大の理由は、1942年の日本には、中島敦の『光と風と夢』という作品が存在していたからである。この作品は、西欧植民地主義批判をテーマとしつつも、数多の西欧植民地主義批判の翻訳紹介本とは異なる反応を読者に引き起こしていたのである。

2

まず、中島敦の『光と風と夢』という小説は、晩年サモア島に住み、現地における英米独の植民地支配を鋭く批判したR. L. スティーヴンソンを主人公とした反西欧植民地主義的な作品であったということ、そしてそれゆえに日本の南方進出を正当化するという文脈において歓迎されたということをひとまず確認しておきたい。

ただし、タイトルが暗示するように、当初この小説は、サモア島のエキゾティックな風物を読者に紹介する作品として読まれることを期待されていたのも事実である。作者の中島敦が、1940年頃から書きつづっていた原稿「ツシタラの死」を一高の先輩深田久彌に託した後、深田は河上徹太郎にこの原稿を推薦、河上もこの原稿を『文學界』に一挙掲載することを決定したのだが、その際、タイトルを「光と風と夢」に変更したことはよく知られている。その河上が、『文學界』1942年6月号に寄稿した書評は、このタイトル変更の方針に沿って書かれた文章である。

本誌の先月號に載った新人中島敦氏の「光と風と夢」は、必ずしも傑作ではないかも知れぬが、少く共私には文壇に於ける新しい能力の出現として、印象の深いものであつた。内容は、R. L. スティーブンソンが病を得てサモアの島に後半生を療養と執筆と土人との交渉のうちに送る實録體の小説である。先づ眼を惹くものは、絢爛たる南洋の風物であり、又世紀末の知的作家の心が、そこに健康への憧れと都会恐怖症との間に動

搖するその消長である。〔中略〕その他此の作品には、讀者によつて感性の實驗臺として色々な利用法があらう。とにかく我々の知らない世界に、我々みたいな人間が行つた場合が鮮かに描けてゐるのだから。然しそれは讀者の自由にお任せして、殊更触れまい。⁽⁶⁾

『文學界』グループの人であった中村光夫も、『日本讀書新聞』(1942年5月11日)に掲載された「子供と藝術家と夢」という文芸時評において、「『古潭』では少し枯れすぎてゐると思はれたほどの氏の老成した筆は、この長編では暢び暢びと跳つて、僕等の（またおそらく作者自身も）見たことのないサモア島の風物を縦横に活寫してくれる」と書くことで、この小説のエキゾティックな魅力を語ることを忘れていない。

ところが、「ツシタラの死」というオリジナルのタイトルを変更してまでこの小説におけるテーマのエキゾティズムを強調しようと試みた河上その人は、この小説が掲載された5月号の編集後記（『文學界後書』）においては、別種のテーマについて触れてもいた。

今度僕と深田久彌君とで共同推薦した二百枚の長編「光と風と夢」の作者は、本誌二月號に短編二つを寄せられたので記憶してゐる讀者もあらうが、南洋で公務を執る傍ら、博覧強記の讀書家で、日本のアントール・フランスといった新人作家だと、私は思つてゐる。○此の種の作家の出現は、大きく言へば日本文化の進展途上に於ける一象徴として、色々なことを私に考へさせる。又内容からいつても、太平洋上の孤島に於ける歐洲諸國の勢力争ひ、そこに世紀末の都市文明を逃れて病を養ふ知的作家の精神の中の快癒と頽廃の相克、さう考へるとテーマとしても現在の我々の關心を十分惹くものがあると信ずる。⁽⁷⁾

この文章においては、河上は作品の主要なテーマとして「太平洋上の孤島に於ける歐洲諸國の勢力争ひ」を指摘しているが、6月号の「古典の發想」で強調される事になる、サモア島の異国情緒については触れていないことにも注目すべきである。河上は、この小説のエキゾティックな魅力を語ろうとする一方で、テーマの政治性を讀者にアピールしてもいたのである。

1942年当時、河上以外にも、この長編小説における政治的テーマの重要性を指摘した評者は少なからず存在していた。例えば、南川潤・大井廣介・佐々木基一「文藝時評」(『現代文學』1942年6月号)の中で、南川はどこまでが中島の創作なのか分からないと嘆息し、大井が駄作だと切り捨てているのに対して、佐々木は政治的テーマに高評価を与えなかったものの、その重要性は認めていた。

この作品に盛られてゐる文學觀は、何のことはない小林秀雄そつくりそのまゝだが、文學が単純に大衆的なものであらねばならぬという自己反省が、同時に、自己への不信を醸すことになりながら、その間隙を子供っぽい人道主義と、目も眩むばかりの強い光線と色彩によつて塗りたくつてゐる。植民地爭奪の内幕と原住民の反抗は、南海の孤島の一挿話として面白く讀める。然し白人と原住民、白人と白人との間の争ひといふ餘りに現実的なテーマは、この作品の中では、主人公がサモア人たちの感謝を表す道路工事を子供のやうに嬉しがる實感に比べて遙かに力が弱い。さういふ處にこの作品の性格が明瞭に浮かびあがつてゐるやうに私は思へるのだ。⁽⁸⁾

また、左翼批評家として有名だった岩上順一の「藝術の論理」(『日本評論』1942年6月号)は、『光と風と夢』は本格的な歴史小説ではないものの、西欧列強による植民地主義の実態をある程度明らかにした点は、高く評価できると書いていた。

「光と風と夢」は、少年小説「宝島」の作家R. L. スティーヴンソンのサモア島に於ける晩年を素材とし、前世紀末に於ける列強の勢力角逐の眞實相を描き出さうとしたものである。そこに實現された歴史性は、深く構造的なものとまではなつてない。たとへば一八九〇年代のサモア島の土地の過半を占める歐洲商會の農場に於ける農民の生活と、その外部にある土着人達との生活との内的關系はいかなるものであつたかゞ解つてゐる。土着ポリネシア人の生活のいかなる點に喰ひこむことによつて、列強諸國はこれらの土着民の自治組織を動かし得たのか。——と凡そこれらることは解つてはゐない。にもかゝはらずこれらの民族生活の構造を利用しつゝ互ひに地盤を争ふ列強が、いかに内亂と分裂紛争とを惹起せしめることに於て自己の支配を浸透せしめて來たかゞ、ある程度明瞭にされて行く。この作品のこの點に於ける歴史的眞實性は、たしかにすぐれた一面である。⁽⁹⁾

佐々木や岩上のように、『光と風と夢』における西欧植民地主義批判というテーマを取り上げた評者が存在したのも当然である。この小説は、実在の人物、R. L. スティーヴンソンの書いたテクストの翻訳、特に、サモア島における英米独の植民地支配への批判を大量に含んだ『ヴァイリマ書簡』(Vailima Letters) や『歴史脚注』(A Footnote to History, 1896) といったテクストの翻訳を大胆かつ大量に用いて、「歐洲諸國の勢力争ひ」とそ

れに巻き込まれてゆく主人公スティーヴンソンを描いた作品だったからである。⁽¹⁰⁾

『文學界』1942年5月号の74頁から151頁までを占めていたこの作品は、全16章構成であった。⁽¹¹⁾ そのうち、直接、政治を扱っている章を列挙してみよう。

5章 90-5頁〔5: 124-31〕 スティーヴンソン『歴史脚注』(サモア島における英米独の植民地支配への痛烈な批判) の見事な要約

6章 95-100頁〔6: 131-7〕 前章の後日談

10章 117-23頁〔12: 171-7 13: 177-9〕 ラウペパ軍とマターファ軍との内戦

11章 123-4頁〔15: 184-5〕 前章の後日談

14章 135-7頁〔18: 198-201〕 サモア島人へのスティーヴンソンの演説

これだけで、全頁数の20パーセント弱となる。さらに、直接的には、政治的内容を扱ってはいない章においても、サモア島の首都アピアに住む欧米人や英米独各国の現地政府要人との交渉などについて書き込まれている場合が多い。この小説の少なくとも3割以上は、サモア島における「歐洲諸國の勢力争ひ」についての記述であると言つても過言ではない。つまり、この作品は、サモアにおける光と風と夢についての小説であったと同時に、一種の政治小説でもあったのだ。

実際、この政治小説の主人公スティーヴンソンは、サモア島の政治にコミットする政治的人間である。もちろん、こう断言してしまうと語弊があるかもしれない。彼は、「土民」の反植民地主義闘争を組織する活動家ではない。彼には、内戦の予感に興奮する「土人」や自分が惹かれつつある政治的急進主義を冷静に反省する慎重さがある(10:118-9 [12: 172])。ある程度距離を置いて事態の推移を見つめる「蔑むべき氣象観測者」(10: 121

[12: 175])を自認してもいる。また、ヘンリー・ジェイムズなどの「筋の無い小説」の流行や(12: 128 [16: 189-90]), 真の文学には告白がなければならないという雑誌記事(15: 141 [19: 207])について考え、自らの文学について懊惱する小説家もある。しかし、この傍観者たる小説家は、白人を糾弾することをためらわない白人なのである。

剣ではなくペンで戦うスティーヴンソン。

昔の懐かしい顔の一つが眼の前に浮かんで来て仕方がない。無用の感傷を避けるため、仕事の中に逃れる。先日から掛かつてゐるサモア紛争史、或ひはサモアに於ける白人横暴史だ。(4: 89 [4: 124])

自らの無力を嘆き、同胞たる「白人」たちの鉄面皮を糾弾するスティーヴンソン。

兎に角、目前に危険を感じられる内亂と、又、それを誘發すべき白人の壓迫とを、何とかして防がねばならぬ。しかも、斯うした事柄に於ける私の無力さ！私はまだ選舉權さへ有つてゐない。アピアの要人達と會つて話して見るのだが、彼等は私を眞面目に扱つてゐないやうに思はれる。辛抱して私の話を聞いて呉れるのも、實は、文學者としての私の名聲に對してのことには過ぎない。私が立去つたあとでは、屹度舌でも出してゐるに相違ない。

自分の無力感が、いたく私を嗤む。この愚劣と不正と貪慾とが日一日と烈しくなつて行くのを見ながら、それに對して何事をも為し得ないとは！（6：96-7
〔6：133〕）

首都アピアの市街地から自宅までの道路工事を請け負った現地の労働者を慰勞するパーティの席上で、彼らの団結と決起を促し、獅子吼するスティーヴンソン。

スティーヴンソンは、自分の見たアイルランドや、スコットランド高地や、或ひはハワイに於ける原住民族の現在の慘めさに就いて語つた。そして、其等の轍をふまないために、今こそ我々は繁縟一番すべきである、と。

「私は、サモアとサモアの人々を愛してをります。私は心から此の島を愛し、生きてゐる限りは住居に、死んだら墓地にと、固く決めてゐるのです。だから、私の言ふことを、口先だけの警戒と思つてはいけないのだ。今や諸君の上に大きな危機が迫つて來ている。〔中略〕條約による土地委員会とチーフ・ジャスティスとは、間もなく任期を完了するでせう。すると、土地は諸君に戻され、諸君はそれを如何に使はうと自由になるのです。奸惡なる白人共の手の伸びるのは其の時です。土地測量器を手にした者共が、諸君の村へやつて來るに違ひない。諸君の試練の日が始まるのです。諸君が果たして金であるか？鉛の屑であるか？」（14: 136 〔18: 199-200〕）

このように、白人の植民地主義を糾弾する白人であるスティーヴンソンを主人公とするこの小説は、當時どのように読まれることを期待されていたのか。この点については、この小説を掲載した『文學界』1942年5月号の記事、特にフランスの代表的知識人の一人として日本でも有名だったポール・ヴァレリーについての記事を検討す

ると明らかになるだろう。

『文學界』1942年5月号は、『光と風と夢』が掲載された号として記憶されるべきだろうが、同時にヴァレリー特集号としても記憶されるべきである。そもそも、なぜこの時期にヴァレリーについて語る必要があったのという疑問が当然出るだろうが、それに答えるには青野季吉の「永遠の型」というエッセイを検討した方がよいだろう。青野は、かつて読んだ難解なヴァレリーも「こんどの世界戦争、わけても大東亜戦争の「啓示」」のおかげで「判りすぎる位判るし、思ひ当たる節々ばかりだと言つても、言ひ過ぎはしない」と前置きした上で、ヴァレリーの有名なエッセイ「方法的制覇」（'Une Conquête Méthodique,' 1896）を「舊いヨーロッパの終焉を暴露してゐる」テクストとして紹介している。⁽¹²⁾ このエッセイは、西欧列強の急速な模倣を後発国に可能ならしめた「方法」に対して、ヨーロッパという「精神」を再検討し、「方法」によって「凡庸」化する世界へのオルタナティブとして再利用可能かどうかを考察したものであり、明らかに将来枢軸国として知られる事になる後発国ドイツやイタリア以外の先進国、特にフランスに向けて執筆されたものである。しかし、青野はこうした分脈を棚上げして、日本にとって都合のよい部分のみを紹介したのである。

「凡そ大國民の状態に到達する民族、或ひは、更に古く更に完全な諸々の大國民が既にある一時代に於いて、再びかかる地位を回復する民族といふものはすべて、——先進國民に於ては幾世紀もの経験を要したところを、一舉に模倣せんとし、——そして——計画的に建設される都市はすべて常に幾何學的設計の上に建てられると同様に——検討を経た方法に従つて自らを悉く組織するものである。獨逸、イタリア、日本は、隣國の隆盛と現代の進歩との分析が供給し得た限りの完璧な科学的概念に立つて、極めて遅れ馳せに再出發した、かかる國民である。…」

これは僕らにとって、特に興味の深い一節であるが、ヴァレリーは、いまから四年前の「現下の思ひ出」の中に、この一節を特に引用して、この論文がかかれてから「既に四十一年になる。しかしながら、そこに出でてゐる觀念の或るものは、未だあらゆる意義を失つてゐるものやうに思はれる。極東のみならず他の地方でさへ現在起つてゐるところは、私には思ひ出の感がするのである」と斷つてゐる。⁽¹³⁾

もちろん、青野も、このエッセイが書かれ讀まれた文脈を知つてはいた。例えば、「地上のあらゆる凡庸性の決定的勝利」と云ふやうな〔ヴァレリーの〕言葉は、その

まま受け容れ難い」⁽¹⁴⁾と書く事で、このエッセイが「凡庸」な日独伊によって実現された「方法」を分析し対応すべき「舊いヨーロッパ」に向けて書かれたことを暗示してしまっている。しかし、青野は、このヨーロッパ人のために書かれたテクストを、あたかも日本人に対してヨーロッパの終焉と枢軸国の勝利を言祝ぐために書かれたテクストであるかのように流用しているのである。

このように、青野が、ヴァレリーのテクスト、特に「方法的制覇」と「現下の思ひ出」を引用して、西欧を批判しつつ日本の大きな存在を語る西欧人としてのヴァレリー像を語っているのは、創業したばかりの筑摩書房が無謀にも企画した辰野隆・落合太郎・鈴木信太郎監修『ポオル・ヴァレリイ全集』の第1回配本（1942年2月15日）、第7巻「精神について（1）」と深い関係があった。この第7巻には、佐藤正彰訳「方法的制覇」、「ヴィクトル・カンボン氏への手紙」、そして、青野が日本人読者のために引用してみせた「現下の思ひ出」が収録されていた。つまり、この第7巻に収められていたエッセイを順に紹介していくと、西欧人ヴァレリーをして日本の存在の独自性を語らしめる青野のエッセイになるのである。青野のエッセイは、実質的には、『精神について』の広告のようなものだったと言ってよいだろう。⁽¹⁵⁾

この雑誌の中心人物であった河上と亀井勝一郎による「對談新著評論」も青野のエッセイに負けず劣らずの時局迎合ぶりである。『全集』第7巻に収録されていた「ペタン元帥への答辞」を取り上げる河上と亀井は、フランスという国に愛国心を持つヴァレリーが尊敬するのはペタン・フォッシュという軍人に過ぎないが、日本の軍人は天皇に一身を捧げるのだと語った後、次のように対話を続ける。

亀井「『ペタン元帥への答辞』といふやうな文章の中にはヴァレリイの切ない夢があるね。……つまりヴァレリイには「海行かば」といふことがない。」
河上「ないね。大体、海行かば——といふ覺悟は國家が與へてくれる。個人が持つてゐるものは限られたものだ。だから、日本に生まれると幸福なんだよ。ヴァレリイだつて、日本に生まれたら恐らく“海行かば”になれるんだ。これだけ知性があればね。しかもヴァレリイは、日本なんといふものは實によく識つてゐる。つまりヨーロッパを利用しヨーロッパを征服するに違ひないといふことを日露戦争以前に預言してゐるのだ。『日本は、ヨーロッパは自分のために作られたものと、考へてゐるに相違ない。』（「方法的制覇」）」⁽¹⁶⁾

このように、ヴァレリーという虎の威を借る狐たちの言葉が躍る誌面の約半分を割いて一挙掲載されたのが、

サモア島における西欧植民地主義を批判する西欧人スティーヴンソンを主人公とする長編小説『光と風と夢』であった。この事実が何を意味するのかは、もはや明らかであろう。作者の中島敦が南洋府で教科書編纂の仕事をしていた頃、作者の手を離れた『光と風と夢』という小説は、1942年9月と10月に『文學界』誌上において掲載された、西欧近代を超克し得る日本独自の理念の存在をアピールするという目標の下に行われた座談会「近代の超克」の参加者やその周辺の人々によって、西欧植民地主義と大東亜共栄圏との差異を強調するという文脈に組み込まれていたのである。⁽¹⁷⁾『光と風と夢』は、ヴァレリー小特集と共に、「近代の超克」座談会の露払いだったと考えるべきなのかもしれない。

こうしてみると、『光と風と夢』は、本論文の第1節で紹介した、勉強一筋に戦争協力してしまった翻訳者たちの仕事より、はるかに優れたプロパガンダの手段であったとすら言えるかもしれない。例えば、この時局的な小説は、『文學界』に200枚一挙掲載という型破りの編集方針のおかげで、異例の評判を得ていたという証言があるが、⁽¹⁸⁾こうした評判のせいもあって、第17回芥川賞の候補として推挙され（たが見事に落選し）たことで話題になったことはよく知られている。また、1942年7月15日に筑摩書房から出版された単行本『光と風と夢』は、敗戦間近の1945年3月20日の時点で再版が一万部発行されていたという事実があるが、これなどこの小説が戦時中に一般読者の注目を集めていた証拠となり得るであろう。⁽¹⁹⁾この小説が、当時の読者にもたらした影響力は、すでに紹介したトムリンソンの著書の広告などとは比較にならないほど大きかったはずだ。

1941年末、深田久彌から送られてきた『光と風と夢』の原稿（「ツシタラの死」）を読んだ河上徹太郎は、深田への返書の中で、「とにかくこんなにはつきりした人間像は珍しいし、舞台は面白いし、内容は時局的だし、イメージは豊富だし、僕はすつかり惚れ込んで、長さに構はず載せたいのだ」と書いた。⁽²⁰⁾中島敦の手を離れた「ツシタラの死」という原稿は、『文學界』グループの手によって、「光と風と夢」というタイトルの下に、優秀な時局的小説として世に出たのである。

3

時局的小説としての『光と風と夢』。しかし、話は單純ではない。この時局的小説に、いわば反時局性を感じた読者が存在したのである。例えば、戦時にこの小説を読んだ安岡章太郎は、戦後に当時を回想して次のように書いている。

「光と風と夢」が當時の「文藝春秋」に轉載されたか

どうか——されなかつたとしたら何で讀んだのか——そのへんの記憶はアヤフヤだが、とにかく學生の私が讀んでみて、これが芥川賞の水準に達しない作品だとは到底思へなかつた。かといつて、當時のいはゆる國策にそはない反時局的な作品であるとも見えない。ただ、何となく當時のジャーナリズムが軍部その他の意向をおそれて敬遠しさうなといふ氣配は、作品の何處からともなく感じられた。⁽²¹⁾

これは戦後の回想であり、しかも本人自らが「記憶はアヤフヤ」と断っているのであるから証言としての信憑性は低いが、『光と風と夢』という作品が何か異様な印象を読者に与えていたことはうかがい知れるだろう。もう少し信憑性のある証言として有名なのは、芥川賞選考委員の一人だった久米正雄が、『文藝春秋』1942年9月号に寄稿した審査作へのコメントである。

「光と風と夢」は、「松風」と對蹠的な野心作であり、學究的な才氣と、研究者の執拗とをタップリする程備へた作品で、どつちかと云へば、私などは壓倒され勝ちなものがつた。正直なところ、素晴らしく辣腕で、力作なのは分つたが、いゝのか悪いのか分からぬ気がした。只、誰が何と云はうと、賞賛すべきは、これだけの世界的規模を持った作品が、吾が南方研究者の手で、作られてゐると云ふ事。是は直ちに英譯して、戦時下の英國民に讀ませたら、どう感じるだらうと思はれた事。——その點で、無理にも推賞したい野心は湧いたが、結局、それは國際文化振興協會にホンキで推薦することにして、私は卑怯ながら敬遠する氣になつた。⁽²²⁾

多くの中島研究者にとって、安岡や久米の「いゝのか悪いのか分からぬ」「卑怯ながら敬遠する氣になつた」という評言は、いわば文学の問題として讀まれるべきものであるようだ。彼／女らの多くは、久米の証言が『光と風と夢』の時局性に触れていることを認めないか、あるいは認めてそれを否定しようとしてきたのである。この小説を太平洋戦争という露骨な政治的状況から守りたいという意志があるのだろうか。⁽²³⁾しかし、この小説における政治的テーマと、その受容の文脈についての本章の議論をふまえるならば、サモア島における西欧植民地主義への批判が大量に書き込まれているこの小説を英訳して「戦時下の英國民に讀ませ」ることを提案してみせつても、一転して「卑怯ながら敬遠する氣になつた」と結論する久米の評言を、文学作品としての巧拙あるいは文壇的評価についてのコメントとしてのみとらえるのは無理であろう。この評言は、この作品が、久米にとっても、本章で議論してきた意味において「時局的」であ

ると感じられたこと、そして同時にいわば反「時局的」にも感じられたことの証言として読むのが妥当であろう。

なぜ「時局的」であるというお墨付きを得たこの小説が、安岡や久米には反「時局的」だと感じられたのだろうか。残念ながら、彼らはこの「なぜ」について説明していないので、本論では状況証拠から推論を試み、二つの可能性を指摘してみたい。

第一に、これは素朴な議論になるが、この小説の主要テーマの一つ、サモア島における西欧植民地主義批判のある部分が、明らかにドイツ批判であったこと、そしてこのことが一部の読者の不興を買う可能性があったことを指摘しておこう。

まず、確認しておきたいのは、基本的に、1930年代から敗戦に至る10数年は、ドイツ文学にとって良い時代だったという事実である。戦前におけるドイツ文学や思想の研究や紹介について、日本のドイツ文学者がナチス文学の翻訳紹介等によって日本のファシズムや戦争協力体制の形成に貢献したのかどうかを問いつておこう。ドイツ文学者の一人である池田浩士は、自著『ファシズムと文学』の「あとがきにかえて」において、次のように述べている。

一九三三年一月から一九四五年八月までの日本では、ドイツ文学の分野に関するかぎり、困難な状況からの逃避の手段に文学がなりえたということすら、ほとんどなかった。この期間に、ナチ党員作家と消極的協力者とを合わせて、ともかくナチス・ドイツの顔をもった作家の作品が、合計八〇冊以上、邦訳されている。計画されながら出版に至らなかつたものを加えれば、その数は百に迫る。⁽²⁴⁾

1942年前後においても、状況は同様であった。『文學界』に限って言えば、実業之日本社「ドイツ民族作家全集」という翻訳全集の広告が1942年1月号と3月号において、白水社「現代独逸國民文學」の広告は1942年4月号と5月号において掲載されていた。また、ゲオルゲに師事した詩人にして文学史家であったエルンスト・ベルトラム⁽²⁵⁾の『ニーチェ』(浅井真男訳、筑摩書房、1941年)や創元社『ニイチエ選集』の広告が、それぞれ1942年1月号と同3月号に掲載されてもいた。一種のドイツ文学・思想のバブル期だったと言つてよいだろう。

『文學界』の同人たちも、このバブルに便乗していた。正確には、彼らこそが、このバブル的状況を作り出した張本人であったと言うべきかもしれない。例えば、1942年3月号には、「最近、ニイチエが青年の間に讀まれ出したと聞くが、我々にとってはニイチエは、よき外科医だと言える」と説く青野季吉「自己と實驗」や、⁽²⁶⁾ベルトラム『ニーチェ』の書評である西村孝次「言葉について

て」が掲載されていたし、4月号では、河上徹太郎「前線へ出た「私」」が、ベルトラム『ニーチェ』について、「殊にその中の「獨逸的生成」の一章の如き、例へば日本が今英米に代つて大東亜を指導してゆく世界史未聞の体制について、直接適切な暗示を受けることが出来るのである」と絶賛していた。⁽²⁷⁾ ちなみに、こうしたニーチェ贊美に同調して、同じ4月号に掲載された「即戦體制下文學者的心」という「同人座談會」の中で、亀井勝一郎が次のように語っている。

ゲーテは最後にペルシャの詩人の立場を求めだした。ニイチエは日本に來ようとしたのだ。同じ事で隅々八雲とかケーベルが來るのだ。ニイチエの最後の願ひを書いてくれたやつがベルトラムだ、印度の学生、日本の學生ばかり自分の弟子にして居るでせう。ベルトラムの「ニイチエの日記」を讀んでみるとさうだよ、何か難しくゴテゴテ云つて居るが、あれは業とか自らといふ言葉なんだ。佛教で云つて居る事を一生懸命ベルトラムは詳しく云つて居るだけだよ。⁽²⁸⁾

少なくとも『文學界』においては、数々のドイツ文学翻訳全集やニーチェを積極的に紹介するということは、英米どころか友邦ドイツをも超克した日本文化の優秀性を讃えることであったようである。

1942年前半におけるこのようなドイツ・ブームのただ中で、読者は『文學界』5月号に掲載された「光と風と夢」の、例えば次のような文章をどのように読んだであろうか。

一八八一年、五つの稱號の中、「マリエトア」「ナトイテレ」「タマソアリイ」の三つを有つ大酋長ラウペバが推されて王位に即いた。「ツイアアナ」の稱號を有つタマセセと、もう一つの稱號「ツイアトゥア」の持主マターファとは代る代る副王の位に即くべく定められ、先づ初にタマセセが副王となつた。

其の頃から丁度、白人の内政干渉が烈しくなつて來た。以前は會議及び其の實權者ツラファレ（大地主）達が王を操つてゐたのに、今は、アピアの街に住む極く少数の白人が之に代つたのである。元來アピアには、英、米、獨、の三國がそれぞれ領事を置いてゐる。併し、最も權力のあるのは領事達ではなくして、獨逸人の經營に係る南海拓殖商會であつた。（5: 90）

残念ながら私は、主人公スティーヴンスンの明らかなドイツ批判が、いわば「政治的に正しくなかった」と廣く読者に了解されたという証拠を見つけ出すことはできなかつたのだが、『文學界』3月号や4月号における同

人たちのドイツ贊美を読んでいた読者は、久米や安岡のような不安感を覚えたかもしれない。その可能性を否定することは難しいのではないか。

「時局的」な『光と風と夢』が、反「時局性」を帯びるに至つたもう一つの可能性については多少説明を要する。

もう一度確認しておきたいのだが、この作品が「時局的」でありうる条件は、まずは西欧人スティーヴンスンが、サモア島における西欧植民地主義を批判しているという主題を強調すること、そして西欧人ですらも批判する西欧植民地主義をいわば〈超克〉する日本植民地主義の存在を暗示することであった。このとき重要なのは、西欧植民地主義と日本植民地主義は別物であるという前提が、広く人々の間に共有されていることである。両者の類似は抑圧され、両者の差異が前景化されなければならない。というのも、もし両者の類似がたやすく認知されてしまうならば、西欧人による西欧植民地主義批判をテーマとする作品は、日本人による日本植民地主義批判の偽装としてとらえられかねないからである。逆に言えば、西欧植民地主義批判をテーマとした翻訳書なり小説作品が、反「時局的」であると判断されるには、西欧植民地主義批判が実は日本植民地主義批判であると受け取られること、両者の類似性が前景化されなければならないということになる。しかし、1942年の時点で、作家が自作の中で両者の類似性をはっきり指摘することは、厳しい検閲や投獄を覚悟しなければならなかつたであろう。

中島は、自分の作品における西欧植民地主義批判は日本植民地主義批判であると明言するような闘士ではなかつた。しかし、西欧植民地主義批判を口にする主人公のスティーブンスンは、実は作者の中島敦の分身であるかのように読めてしまうような書き方はしていたのである。ここで注目しておきたいのは、この小説における「私」の問題、すなわち一人称による語りの問題である。⁽²⁹⁾ この小説が、三人称の語りと一人称の語りを交互に組み合わせた作品であることはよく知られているが、この点を問題にしたいのである。

ここで、すでに本章の第2節（31頁）で引用した箇所の抜粋を、もう一度引用しておこう。

自分の無力感が、いたく私を噛む。この愚劣と不正と貪慾とが日一日と烈しくなつて行くのを見ながら、それに対する何事をも為し得ないとは！（6: 96-7）

「私は、サモアとサモアの人々を愛してをります。〔中略〕奸惡なる白人共の手の伸びるのは其の時です。」（14: 136）

これらの文章における「私」は「白人」スティーヴン

スンであり、その「白人」が「〔白人の〕愚劣と不正と貪慾」に憤り、その「白人」が「奸惡なる白人共」を批判しているのだと読まれる限りにおいて、これらの文章、あるいは『光と風と夢』という小説は、1942年当時、「非白人」の国家である日本において「時局的」でありえたことはすでに確認した。しかし、当時、これらの「私」は、「白人」スティーヴンスンに他ならないという前提が、読者の間で共有されていたと断言できるだろうか。この文章は、書かれたテクストの内容と作者の考え方とを区別し、客観的な距離を確保してくれる三人称の語りではなく、両者の距離を接近させてしまうリスクを持つ一人称の語りである。ある種の文脈が整えば、「〔白人の〕この愚劣と不正と貪慾」に対する「自分の無力感が、いたく私を噛む」という一人称の語りは、サモア島における西欧植民地主義を批判するスティーブンスンの言葉であると同時に、作者の中島が、スティーブンスンに自分自身の声を仮託して、西欧植民地主義批判とは別の何かを語ろうとしているのではないかと、読者に了解されかねない危うさを抱えていたのではないか。

この可能性は検討に値する。まず、『光と風と夢』を掲載した『文學界』においては、小説作品の語りの形式が問題化されていたという事実を確認しておこう。当時すでに〈一人称〉あるいは〈三人称〉という概念を持ちだして、小説作品の語りの問題を論じていたのは中島健蔵である。『文學界』1940年3月号には、「島木健作『或る作家の手記』に就て（同人アンケート）」なる記事が掲載されていた。島木の『或る作家の手記』（1940年）とは、満州旅行で見聞した日本人開拓民の苦闘や現地の官僚機構における様々な矛盾を批判し改善を訴える目的で書かれた小説であるが、この作品のコメントをアンケート形式にて同人から集めてみようという企画がこの記事である。実際にアンケートに答えたのは、この企画を発案した林房雄の他、阿部知二、亀井勝一郎、青野季吉、そして中島健蔵であったが、中島が寄稿した文章は「私について」というタイトルだった。この短いエッセイは、基本的には三人称の語りで書かれている『或る作家の手記』の主人公である太田耕作には、作者の島木健作の姿や意見があまりにも詰め込まれて過ぎていることを指摘しつつ、次のように述べている。

『或る作家の手記』の中には、二人の太田が居るやうである。つまり第三人稱を用ひながら、第三人稱としての機能に分裂と混亂があることが認められた。小説を讀んだといふよりは、もつと別の頭の働きにぶつかったやうに思ったのも、それが原因である。もう少し細かく云へば、自分の體験を、十分に客觀化するために、第三人稱に表現する形が、今までの島木君の小説

に見られたのだが、さういふ一步退いた態度が、此の小説では少なからず崩れてゐる。それにも拘わらず、思ひ切つて直截に、第一人稱的な表現を取らなかつたために、太田という人物が却つて不必要にいら立たしげな表情で映つて来る。⁽³⁰⁾

この後、中島健蔵は、『或る作家の手記』という作品は、太田耕作という島木健作に極めてよく似た作中人物が登場するのであるから、客觀性を志向する三人称形式の小説にこだわらず、もっとシンプルに「私」＝島木健作の手記として発表すべきだったかもしれないという主張を展開してゆくのだが、その主張の是非はここで問題としない。問題にしたいのは、『文學界』においては、すでに1940年3月の時点で、作家と作中人物との関係が、語りの人称の問題として意識されているという事実である。この事実をふまえると、『文學界』1942年5月号に掲載された、三人称の語りと一人称の語りが交錯した『光と風と夢』は、この雑誌の同人や読者にとって、作中の「私」と作者の中島敦との密接な関係を強く喚起させる作品だったと言ってもよいのではないだろうか。

この点、興味深いことに、この小説を世に出した人々が、主人公のスティーヴンスンと作者の中島敦を、両者とも南洋に向かったという点を強調しながら、重ね合わせて紹介していたという事実がある。周知のごとく、中島が南洋に向かったのは、「ツシタラの死」という原稿を深田に渡した後のことなのだが、そうした事実とは別に、中島とスティーブンスンは同一視されつつあった。既に引用した『文學界』1942年5月号の河上徹太郎の「文學界後書」からの引用の中にも、中島敦を「南洋で公務を執る傍ら、博覧強記の讀書家」として紹介する言葉があったが、この評言は他の評者によって反復されていた。例えば、「文藝時評」において、素材が面白いのか作者の文学が面白いのか判然としないと評していた南川潤は、河上の言葉そのままに「作者は南洋で公務を執る傍ら、博覧強記の讀書家」とあると書いていた。⁽³¹⁾ 本論文33頁注番号22の引用の中にも、久米正雄が中島を「吾が南方研究者」と紹介する言葉がある。更に言えば、中島がスティーヴンスンに同一化していることを指摘する論者も存在した。河上徹太郎は、『文學界』6月号の「古典の發想」では「作者中島氏はどうやらステイブンスンの境地に共感乃至同情してゐるやうである」と明言していたし、⁽³²⁾ 中村光夫も「作者はこの生涯實生活の上では大人になり切れなかつた薄倖な「ストオリ―・テラー」に何か血の繋がりに似た愛情を覚えてゐる」と書いていた。⁽³³⁾ このように、作者が自らの執筆対象から距離を取っていることを読者に印象付けやすい三人称ではなく、作者と対象との同一化を印象付ける一人称で書かれた、

「〔白人の〕この愚劣と不正と貪慾」に対する「自分の無力感が、いたく私を噛む」といった文章が書き込まれた小説作品が、南洋に向かったスティーヴンソンに自己同一化した作家、スティーブンソンに倣うかのように「南洋で公務を執る」日本人作家の手になるものだと知らされた読者は、『光と風と夢』という作品に〈西欧人による西欧人植民地主義批判〉という時局的テーマ以上の何かを感じなかっただろうか。

残念ながら、これは仮説に過ぎない。実際に、安岡や久米のような読者が「時局性」と反「時局性」を感じた理由としては、例えば中村光夫の「舊知（六號雜記）」（『文學界』1942年6月号）という短い記事の存在を指摘しておくべきなのかもしれない。この記事は、『光と風と夢』という長編小説が、一高時代の習作と類似しているということを、次のように語っている。

書くものも一風變つてゐて、その頃はまだ満洲事変の起ころぬ前であつたが、満洲に取材した小説を交友會雑誌に發表したことがあつた。考へて見れば氏のエクゾテイズムもずゐぶん根柢の深いものである。〔中略〕そしてこれと同じことは氏の今度の力作「光と風と夢と」についても云へる。これは「古譚」にくらべて更に作者の特質がいろいろはつきり出てゐるだけに、ほとんどそつくりと云つていい程氏の舊作に似通つてゐる。スティーブンソンのいはば植民地的憂鬱とも云ふべき素朴な正義感も、一種の智的な自嘲も、氏の高等學校の作品にそのまま見出される。そして喘息の出てくるところまで同じである。⁽³⁴⁾

ここで中村は重要なことを書いている。つまり、『光と風と夢』には「スティーブンソンのいはば植民地的憂鬱とも云ふべき素朴な正義感」が込められているが、中島は満州に取材した作品においても「素朴な正義感」を込めていたということである。中村は、サモア島を扱った新作と満州を扱った旧作を「素朴な正義感」において「似通つてゐる」と書くことによって、西欧植民地主義批判を日本植民地主義批判へと関係付けようと試みているのである。残念ながら、『文學界』の読者が、中村のコメントによって、『光と風と夢』の「時局性」に疑念を抱いたという証拠はない。しかし、中村の書評は、少なくとも西欧人による西欧植民地主義批判を読む読者が、日本植民地主義を棚上げしにくくなるような情報を開示してはいるのである。

中村の仕事は、日本植民地主義を肯定するという文脈において消費されようとしていた小説作品を、その文脈から救ってみせたという意味において、ポストコロニアル批評の先駆として評価できるかもしれない。しかし、

これは中島自身が行ったことではない。私は、中島と同様に、日本において西欧植民地主義批判をテーマとした英文学作品を読み、翻訳し、あるいは教育する立場にある者として、中島自身が行ったことの限界と可能性についてこだわり続けたいと思う。中島は、西欧植民地主義を批判する西欧人であるスティーブンソンの反植民地主義文書を翻訳しながら、彼を主人公とした作品を書いたが、それを三人称の語りで統一せず、一人称の「私」をテクストに持ち込むことで、作中人物の「私」であるスティーブンソンの声が、作者の中島自身の声として読まれ得るような工夫をした。そして、あたかも南洋に向かったスティーブンソンを反復するかのように、自ら南洋に向かってしまった。中島は、西欧植民地主義批判を無責任に紹介するのではなく、西欧人による西欧植民地主義批判を盛んに紹介することで日本の南方進出を正当化するという国策に回収され得ない批評的な重みをテクストに刻みこむ方法を、私たちに示しているのではないだろうか。

若くして逝った中島敦は、小説家として知られている。事実、その通りであろう。しかし、彼は、西欧と日本との差異を強調する国策のただ中において、西欧植民地主義批判の国策迎合的翻訳者であり、反国策的裏切り者でもあった。約言すれば、彼は、翻訳（translation）の二重の意味を見事に実践してみせたのである。中島敦が60年前に直面していた状況が反復してきている現在、私たちには彼を反復するという選択肢もある。⁽³⁵⁾

注

本論文は、筆者（齋藤）が2001年7月7日に立命館大学で行った講演「中島敦、スティーブンソンを読み破る——中島敦『光と風と夢』のコンテクストについて」（講演速記録は『立命館言語文化研究』〔14巻1号、2002年、65-73頁〕に掲載されている）を、全面的に書き直したものである。

*

1. 宮崎芳三『太平洋戦争と英文学者』（研究社、1999年），131頁。
2. 『日本の英学一〇〇年』全3巻（研究社、1968-71年）は、豊田実以来の英学史研究の集大成であるが、著名な英語英文学者の業績紹介にとどまっている点が惜しまれる。
3. この種の「敵を知り己を知れば百戦危うからず」的な英語学習のススメの実例は、川澄哲夫編『資料日本英学史二——英語教育論争史』（大修館書店、1978年）の第5章「太平洋戦争と英語（一）」、特に第3節「大東亜戦争」と英語の将来」（560-89頁）において確認することができる。なお、注4後半の下線

- 部を参照せよ。
4. H. M. トムリンソン『海と密林の旅』吉武好孝訳（新潮社、1942年），1-3頁。なお、このように、西欧植民地主義批判すなわち日本植民地主義の正当化という文脈で出版された翻訳や解説書は少なくない。私の手元にある書籍をもう一冊紹介しておく。榎原巖著『英帝國崩壊の豫言者——トマス・カーライル』（三省堂、1943年）である。これは J. A. Froude や D. A. Wilson 等の基本的参考書を手際よくまとめた優れたカーライル入門書だが、やはり次のような時局的言辞には嘆息せざるを得ない。「カーライルは一九世紀末葉にいたつて再燃した大英帝國主義の偉大な精神的支柱の一つであつた。そのカーライルが今や、大英帝國崩壊の前夜に於て再び取り上げられ、讀まれようとしてゐる。これは一つの大きな歴史的奇觀である。ギボンは英帝國勃興の最も輝かしいときにたつて「ローマ帝國衰亡史」を書き國民に向かふべき方向を示さうとした。大英帝國勃興の歴史は既に多く書かれた。今、我らが求めるものは、大英帝國崩壊の素因をたづねることでなければならぬ。我らのカーライル研究が大英帝國主義の精神史の一端に触れることを得れば、この新しき願望に對して一つの示唆となるであらう。／戦に勝つためには敵を知らなければならぬ。大東亞戦争の目的完遂のためには尚ほ多くのことを學ばねばならぬ。我々はカーライルを通じて英國を知り、彼を通じて英國が今日の悲運に向つて突進して來た死の一路を跡づけなければならない。」（7頁）
 5. トムリンソン『海と密林の旅』の広告（図1）は文芸誌『新潮』に掲載されたものだが、ほぼ同じものが総合誌である『中央公論』（57巻2号〔1942年6月〕、本欄40頁）にも出ていた。つまり、こうした英米小説や紀行文の広告は文芸誌にのみ掲載されたわけではなかったのである。
 6. 河上徹太郎「古典の發想——文藝時評」、『文學界』9巻6号（1942年6月），8-9頁。
 7. 河上徹太郎「文學界後書」、『文學界』9巻5号（1942年5月），152頁。
 8. 南川潤・大井廣介・佐々木基一「文藝時評」、『現代文學』6巻6号（1942年6月），56-7頁。
 9. 岩上順一「藝術の論理」、『日本評論』17巻6号（1942年6月），179-80頁。
 10. この小説がスティーブンソンのテクストの翻訳そのままではないかという感想は発表当時から存在したが、その感想を実証したのが、岩田和男の「『光と風と夢』と Vailima Letters」（『一橋大学研究年報 自然科学／人文科学研究』1号〔1959年〕、339-3

98頁）である。この論文から第5章についての記述を引用しておく。「五 スティーブンソンが定住する三年前までのサモアの性状、白人の内政干渉、特にドイツ人の南海拓殖会とこれに対する土人の反感、ラウペペ王の流謫策は、Footnote to History の数十ページの内容を、これ以上簡潔にはまとめられないと思われるほど簡潔に縮約したもの。次に、叛軍の首領マターファと、傀儡の王として帰国を許されたラウペペとの関係等は、Feb. 10 '89のタイムズ紙への公開状 To the Editor of the Times などを利用したもの。」（358頁）

11. テキストは『文學界』9巻5号（1942年5月）から引用し、章・頁番号も同号に従った。なお新しい全集（『中島敦全集1』筑摩書房、2001年）の章・頁番号もできる限り付記した。できる限りというのは、周知のごとく、『文學界』初出のテクストは「ツシタラの死」と題された原稿を相当短縮変更したものであり、『全集』に再録されたテクストは初出テクストの短縮変更箇所を訂正追加した単行本『光と風と夢』（筑摩書房、1942年）に依っているため、両者には相当な異同が存在し、そのため完全な対応関係を指摘することは困難である、ということを意味する。
12. 青野季吉「永遠の型」、『文學界』9巻5号（1942年），15頁。
13. 同上，16頁。
14. 同上，16頁。
15. 当時筑摩書房の社員であった中村光夫は『憂しと見し世』（筑摩書房、1974年）の「ヴァレリイ全集」（72-80頁）において有益な情報を紹介しているものの、肝心の第7巻における時局迎合的編集については沈黙している。
16. 河上徹太郎、亀井勝一郎「對談新著評論」、『文學界』9巻5号（1942年），40頁。
17. 「近代の超克」座談会は、河上徹太郎他『近代の超克』（富山房、1979年）で手軽に読める。
18. 中村光夫は『憂しと見し世』で次のように証言している。「雑誌に数百枚の長編を一挙に載せることは、近頃では珍しくなりましたが、その頃はまだ編集の新機軸であったので、中島敦の名は一挙に文壇に知れわたりました。」（103頁）なお、芥川賞選考委員の一人だった川端康成も、石塚友二「松風」（初出：『文學界』1942年2月号）と「光と風と夢」が共に落選したことを批判しつつ、「けれども、ただ、「松風」も「光と風と夢」も「文學界」に發表の當時、反響が高く、相当の人々に讀まれもしたので、一應世に出て認められた作品であるから、さう

- いふ意味では、作者と共に私も慰められるわけである」と書いている。(『中島敦研究』, 310頁)
19. 中島敦『光と風と夢』(筑摩書房, 初版: 1942年, 再版: 1945年) の奥付を参照せよ。
 20. 『中島敦全集 別巻』(筑摩書房, 2002年), 476頁。
 21. 安岡章太郎「束の間の「光」」, 「月報1」, 『中島敦全集』1巻(筑摩書房, 1976年)。
 22. 『中島敦全集 別巻』(筑摩書房, 2002年), 284頁。
 23. 久米の評言に対しては数多くのコメントがあるが、本論文で参考にしたのは、久米の評言が『光と風と夢』のテーマの政治性を捉えていることを認めながら、この作品は決して「時局的」ではなかったと論じる佐々木充、作者中島はさほど意識してもいなかつた西欧植民地主義への怒りを久米はかなり無理に読み込んでしまっていると論じた安廣英仁子、そして、主人公スティーヴンソンを政治行動と文学作品を明確に区別する人物として造詣した中島を高く評価する渡邊ルリの見解である。佐々木充「昭和十七年 中島敦『光と風と夢』 丹羽文雄『海戦』」, 『国文学 解釈と鑑賞』48巻11号(1983年), 64-9頁。安廣英仁子「中島敦論——「光と風と夢」に見る雄飛への意志」, 『山口国文』7号(1984年), 34-43頁。渡邊ルリ「「光と風と夢」試論」, 『叙説』(奈良女子大国語国文学研究室)15号(1988年), 74-118頁。
 24. 池田浩士「あとがきにかえて」, 『ファシズムと文学——ヒトラーを支えた作家たち』(白水社, 1978年), 303-15頁。なお、池田の論点をフェミニズムの観点から再考し、この当時の(男性)ドイツ文学者における反体制的身振りの問題を徹底的に暴いた高田理恵子「忘却のメカニズム——芳賀檀をめぐる言説」(『桃山学院大学 人間科学』14号〔1998年1月〕, 63-92頁)と、この論文を拡大発展させた高田の著書『文学部をめぐる病——教養主義・ナチス・旧制高校』(京都: 松籟社, 2001年)は必読である。
 25. ベルトラム(Ernst Bertram, 1884-1957) ドイツの詩人・文学史家。1919年、ボン大学で学位を取得、1922年、ケルン大学の教授に就任した。ゲオルゲの影響の下に象徴主義的な詩を多く発表し、ヨーロッパにおけるゲルマン精神を探求した。著書に『ニーチェ研究』(1918年), 『詩集』全3巻(1922年), 『ドイツ的形姿』(1934年)などがある。(三省堂編集所編『コンサイス外国人名事典』〔3版, 三省堂, 1999年〕の記述を参考にした。)
 26. 青野季吉「自己と實驗」, 『文學界』9巻3号(1942年3月), 22頁。
 27. 河上徹太郎「前線へ出た「私」」, 『文學界』9巻4号(1942年4月), 18頁。
 28. 同人座談會「即戰體制下文學者之心」, 『文學界』9巻4号(1942年4月), 90-1頁。
 29. 濱川勝彦「中島敦「光と風と夢」の一側面——サモア紛争史の意味」, 『序説』(奈良女子大国語国文学研究室)12号(1986年), 24-32頁。この論文はサブタイトルが強く示唆するように、一人称の語りと三人称の語りを交互に変更し、文学的内省と政治的反省を組み合わせたこのテクストの文壇的な価値やその技巧の巧拙を語ってきた伝統的な中島研究を批判し、伝統的研究においては等閑視されてきた「サモア紛争史の意味」の問い合わせを試みている点において、本論文の先駆である。
 30. 中島健蔵「私について」, 『文學界』7巻3号(1940年3月), 136頁。
 31. 南川潤、大井廣介、佐々木, 55頁。
 32. 河上徹太郎「古典の發想」, 『文學界』9巻6号(1942年6月), 8-9頁。
 33. 中村光夫「子供と藝術家と夢」, 『日本讀書新聞』199号(1942年5月11日)。
 34. 中村光夫「舊知(六号雜記)」, 『文學界』9巻6号(1942年6月), 112-3頁。
 35. 英文学者、中島によるスティーヴンソンの反植民地主義テクストの反復と対照的なのは、英文学者、相良次郎『Stevenson』(研究社, 1938年)である。「彼は1881年の初めより、英國のトランスヴァール共和国侵略を、人道的な見地より憤激を以つて見て居たが、遂に彼は英國の此の領土拡張の為の侵略を激越過激な口調で非難攻撃する文を書いた。自衛の為の戦争ならば大いにやるべし、併し自由平和の國民を侵す領土拡張や英雄主義の為の血腥い戦争は断固排撃する、自分はそれを敢えてする人間と同胞たることを恥とする、と彼は敢然所信を發表してグラッドストンを始め満天下に戦を挑まんとした。〔中略〕妻の分別が彼の道徳的爆發を抑へたのは此の時ばかりではなかつたが、其等の爆發の多くが、決して無批判な感傷的なものではなかつたことは敬服に値する。例へば彼を現在の日本人であらしめたならば、言論統制なくとも、決して公式的なお上品なセンチメンタルな博愛無抵抗主義的平和主義を唱へはしまい。むしろ積極的に東洋平和の聖戦に筆或は寧ろ剣を執つて起つたであらう。」(72-3頁)

平成14年度 帯広畜産大学研究業績

■原著論文

分 野	題 目	著 者 名	誌 名	発行年月
獣 医 学	An immunohistochemical study of endocrine cells in the abomasum of vagotomized calf	R.H.SOEHARTONO N. KITAMURA N. YAMAGISHI K. TAGUCHI J. YAMADA H. YAMADA	J. Vet. Med. Sci. 64 (1) : 11-15	2002年
獣 医 学	The Localization of the Cytochrome P450 Side-Chain Cleavage Enzyme in the inactive testis of the naked mole-Rat	H. ENDO K. OKANOYA T.J. PARK M. SASAKI K. TANEMURA J. KIMURA Y. HAYASHI	Zool. Sci. 19: 673-678	2002年
獣 医 学	Comparative functional morphology of the masticatory apparatus in the long-snouted crocodiles	H. ENDO R. AOKI H. TARU J. KIMURA M. SASAKI M. YAMAMOTO K. ARISHIMA Y. HAYASHI	Anat. Histol. Embryol. 31: 206-213	2002年 8月
獣 医 学	Functional morphology of the mastication muscles in the lesser and greater mouse deer	H. ENDO J. KIMURA M. SASAKI M. MATSUZAKI H. MATSUBAYASHI H. TANAKA K. FUKUTA	J. Vet. Med. Sci. 64 (10) : 901-905	2002年10月
獣 医 学	The renal structure in an Asian elephant (<i>Elephas maximus</i>)	H. ENDO N. AKIHISA M. SASAKI M. YAMAMOTO K. ARISHIMA	Anat. Histol. Embryol. 31 : 269-272	2002年10月
獣 医 学	Functional morphology of the fore-limb muscles in an Aardvark	H. ENDO T. SAKAI T. ITOU H. KOIE J. KIMURA M. SASAKI B.J. STAFFORD M. YAMAMOTO K. ARISHIMA	Mammal Study 27: 121-125	2002年12月

獣 医 学	Tree-dimensional image analysis of the thin abdominal wall in the naked mole-rat and the lesser mouse deer.	H. ENDO K. OKANOYA H. MATSUBAYASHI J. KIMURA M. SASAKI K. FUKUTA N. SUZUKI	Jpn. J. Zoo Wildl. Med 2003年3月 8 (1) : 69-73
獣 医 学	Size relationship between the skull and flat skin in the three species of canis	H. ENDO T. SAKAI Y. HAYASHI K. WATANABE M. MATSUZAKI M. SASAKI	Jpn. J. Zoo Wildl. Med 2003年3月 8 (1) : 75-78
獣 医 学	Relationship between liver disorders and protection against <i>Eimeria stiedai</i> in rabbits immunized with soluble antigens from bile of infected rabbits	S. HANADA Y. OMATA Y. UMEMOTO Y. KOBAYASHI H. FURUOKA T. MATSUI R. MAEDA A. SAITO	Veterinary Parasitology 2003年2月 111: 261-266
獣 医 学	Integrin-linked kinase controls neurite outgrowth in N1E-115 neuroblastoma cells.	T. ISHII E. SATOH M. NISHIMURA	J. Biol. Chem. 2002年4月 276(46): 42994-43003.
獣 医 学	The mechanism underlying the protective effect of the thearubigin fraction of black tea (<i>Camellia sinensis</i>) extract against the neuromuscular blocking action of botulinum neurotoxins.	E. SATOH T. ISHII Y. SHIMIZU S. SAWAMURA M. NISHIMURA	Pharmacol. Toxicol. 90: 2002年4月 199-202.
獣 医 学	Reversible impairment of endothelium-dependent relaxation in golden hamster carotid arteries during hibernation.	H. SAITO S. THAPALIYA H. MATSUYAMA M. NISHIMURA T. UNNO S. KOMORI T. TAKEWAKI	J. Physiol. 2002年5月 540: 285-294.
獣 医 学	紅茶抽出液のボツリヌス毒素中和物質の単離精製。	沢村信一 坂根 巍 佐藤栄輝 石井利明 清水祥夫 西村昌数 梅原 薫	日薬理誌 2002年6月 120: 116-118

獣 医 学 A mechanism of the thearubigin fraction of black tea (<i>Camellia Sinensis</i>) extract protecting against the effect of tetanus toxin.	E. SATOH T. ISHII Y. SHIMIZU S. SAWAMURA M. NISHIMURA	J. Toxicol. Sci. 27: 441-447.	2002年9月
獣 医 学 紅茶由来ボツリヌス神経毒素中和物質の食品への応用.	沢村信一 坂根 巍 佐藤栄輝 石井利明 清水祥夫 西村昌数	日本食品科学工学会誌 49: 60-64.	2002年10月
獣 医 学 Effects of extracellular Ca ²⁺ on phagocytosis and intracellular Ca ²⁺ concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows.	R.J.T. DUCUSIN Y. UZUKA E. SATOH M. OTANI M. NISHIMURA S. TANABE T. SARASHINA	Res. Vet. Sci. 75: 27-32.	2003年3月
獣 医 学 Palytoxin-induced increase in cytosolic-free Ca ²⁺ in mouse spleen cells.	E. SATOH T. ISHII M. NISHIMURA	Eur. J. Pharmacol. 465: 9 -13.	2003年3月
獣 医 学 Integrin-linked kinase controls neurite outgrowth in N1E-115 neuroblastoma cells.	T. ISHII E. SATOH M. NISHIMURA	J. Biol. Chem. 276 (46) : 42994-43003	2001年
獣 医 学 Channel induction by palytoxin in yeast cells expressing Na ⁺ , K ⁺ ATPase or its chimera with sarco / endoplasmic reticulum Ca ²⁺⁺ ATPase.	K. ITO I. TOYODA M. HIGASHIYAMA D. UEMURA M.H. SATO S.H. YOSHIMURA T. ISHII K. TAKEYASU	FEBS Lett. 543: 108-112	2003年
獣 医 学 Inactivation of integrin-linked induces berrant tau phosphorylation via sustaint activation of glycogen synthase kinase 3 β in N1E-115 neuroblastoma cells.	T. ISHII H. FURUOKA Y. MUROI M. NISHIMURA	J. Biol. Chem. 278 (29) : 26970-26975	2003年
獣 医 学 Redescription of <i>Neospora caninum</i> and its differentiation from related coccidia	J.P. DUBEY B.C. BARR J.R. BARTA I. BJERKAS C. BJORKMAN B.L. BLAGBURN D.D. BOWMAN	Int. J. Parasitol. 32 (8) : 929-946	2002年7月

D. BUXTON
 J.T. ELLIS
 B. GOTTSSTEIN
 A. HEMPHILL
 D.E. HILL
 D.K. HOWE
 M.C. JENKINS
 Y. KOBAYASHI
 B. KOUDELA
 A.E. MARSH
 J.G. MATTSSON
 M.M. MCALLISTER
 D. MODRY
 Y. OMATA
 L.D. SIBLEY
 C.A. SPEER
 A.J. TREES
 A. UGGLA
 S.J. UPTON
 D.J.L. WILLIAMS
 D.S. LINDSAY

獣 医 学	Malignant retroperitoneal paraganglial tumour in a cow	K. MATSUDA T. MOCHIZUKI Y. KOBAYASHI H. FURUOKA T. MATSUI T. UMEMURA	J. Comp. Pathol. 128 (1) : 75-78	2003年1月
獣 医 学	Ancient DNA reveals genetic lineage of <i>Sus scrofa</i> among archaeological sites in Japan	Y. MORII N. ISHIGURO T. WATANOBE M. NAKANO H. HONGO A. MATUSI T. NISHIMOTO	Anthropol. Sci. 110 (3) : 313-328	2002年6月
獣 医 学	Prehistoric introduction of domestic pigs onto the Okinawa Islands: Ancient mitochondrial DNA evidence	T. WATANOBE N. ISHIGURO M. NAKANO H. TAKAMIYA A. MATSUI H. HONGO	J. Mol. Evol. 55: 222-231	2002年8月
獣 医 学	Multiple nuclear pseudogenes of mitochondrial DNA exist in the genome	N. ISHIGURO A. NAKAJIMA M. HORIUCHI M. SHINAGAWA	Mamm. Genome 13: 365-372	2002年9月

獣 医 学 A genetic method to distinguish crossbred inobuta from Japanese wild boars	N. ISHIGURO Y. NAYA M. HORIUCHI M. SHINAGAWA	Zool. Sci. 19: 1313-1319	2002年12月
獣 医 学 Variation in mitochondrial DNA of Vietnamese pigs: relationships with Asian domestic pigs and Ryukyu wild boars	H. HONGO N. ISHIGURO T. WATANOBE N. SHIGEHARA T. ANEZAKI V.T. LONG D.V. BINH N.T. TIEN N.H. NAM	Zool. Sci. 19: 1329-1335	2002年12月
獣 医 学 Bacteriological and genetic assessment of game meat from Japanese wild boars	Y. NAYA M. HORIUCHI N. ISHIGURO M. SHINAGAWA	J. Agri. Food Chem. 51: 345-349	2003年1月
獣 医 学 Amino acid polymorphisms of PrP gene in Mongolian sheep	A. GOMBOJAV N. ISHIGURO M. HORIUCHI D. SERJMYADA B. BYAMBAA M. SHINAGAWA	J. Vet. Med. Sci. 65 (1) : 75-81	2003年1月
獣 医 学 Susceptibility of transgenic mice expressing chimeric sheep, bovine and human PrP genes to sheep scrapie	A. GOMBOJAV I. SHIMAUCHI M. HORIUCHI N. ISHIGURO M. SHINAGAWA T. KITAMOTO I. MIYOSHI S. MOHRI M. TAKATA	J. Vet. Med. Sci. 65 (3) : 341-347	2003年3月
獣 医 学 健康牛のクリプトスピロジウム汚染の実態調査	更科孝夫 坂井宏明 対馬良典 長沢秀行 田辺茂之 宇塚雄次	用水と廃水 44 (4) : 19-22	2002年4月
獣 医 学 北海道十勝管内の放牧牛におけるコクシジウムの感染実態	宋 守博 田辺茂之 宇塚雄次	獣畜新報 JVM 55 (5) : 361-363	2002年5月
獣 医 学 猫の急性单球性白血病の1例	田辺茂之 宇塚雄次 古岡秀文	日獣会誌 55 (9) : 596-600	2002年9月

古林与志安
大池三千男
更科孝夫

獣 医 学 乳頭デイッピングにヨード剤を用いない農家の子牛における甲状腺腫の発生例	須藤貴之 結田康一 宇塚雄二 田辺茂之 更科孝夫	獣畜新報 JVM 55 (10) : 801-804	2002年10月
獣 医 学 Expression of mRNA of chemokine receptor CXCR4 in feline mammary adenocarcinoma	S. TANABE T. NAKADAI H. FURUOKA T. OMACHI Y. KOBAYASHI Y. OMATA T. KOYAMA E. HONDO Y. UZUKA T. SARASHINA R.J.T. DUCUSIN T. SHIDA M.E. DORF	Vet. Rec. 151: 729-733	2002年12月
獣 医 学 Cryptosporidium infection of cattle in Tokachi district, Hokkaido	H. SAKAI Y. TSUSHIMA H. NAGASAWA R.J.T. DUCUSIN S. TANABE Y. UZUKA T. SARASHINA	J. Vet. Med. Sci. 65 (1) : 125-127	2003年1月
獣 医 学 Technical parameters affecting image characteristics in vivo MR microscopy of the mouse	K. YAMADA E.R. WISNER J.S. DE ROPP R.A. LECOUTEUR L.D. TRIPP	Vet. Radiol. Ultrasound 43 (6) : 518-527	2002年11月
獣 医 学 Studies on serological cross-reaction of <i>Neospora caninum</i> with <i>Toxoplasma gondii</i> and <i>Hammondia heydorni</i> .	Y. NISHIKAWA F.G. CLAVERIA K. FUJISAKI H. NAGASAWA	J. Vet. Med. Sci. 64 (2) : 161-164	2002年2月
獣 医 学 Tick infestation of sika deer (<i>Cervus nippon</i>) in the western part of Yamaguchi prefecture, Japan.	H. INOKUMA T. FUJIMOTO E. HOSOI S. TANAKA K. FUJISAKI M. OKUDA T. ONISHI	J. Vet. Med. Sci. 64 (7) : 615-617	2002年7月

獣 医 学	Effect of partial incision of the zona pellucida by piezo-micromanipulator for in vitro fertilization using frozen-thawed mouse spermatozoa on the developmental rate of embryos transferred at 2-cell stage.	Y. KAWASE T. IWATA O. UEDA N. KAMADA T. TACHIBE Y. AOKI K. JISHAGE H. SUZUKI	Biol. Reprod. 66: 381-385	2002年 4月
獣 医 学	Partial incision of the zona pellucida using piezo-micromanipulator improves in vitro fertilization using low-motility spermatozoa of infertile transgenic mice.	Y. KAWASE N. KAMADA H. SUZUKI	J. Mamm. Ova Res. 19: 26-31	2002年 6月
獣 医 学	Comparison of macrophage scavenger receptor-A knockout mice with wild type ones in the immune response against repeated infestation with <i>Haemaphysalis longicornis</i> .	S. KABAMOTO N.A. BHAGAT H. SUZUKI M. YOU T. KAMIO N. TSUJII F.G. CLAVERIA H. NAGASAWA I. IGARASHI Y. TOYODA K. FUJISAKI	J. Vet. Med. Sci. 64: 355-359	2002年 9月
獣 医 学	Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant SAG 2 for diagnosis of <i>Toxoplasma gondii</i> infection in cats.	X. HUANG X. XUAN E.N. KIMBITA B. BATTUR T. MIYAZAWA S. FUKUMOTO M. MISHIMA L.H. MAKALA H. SUZUKI C. SUGIMOTO H. NAGASAWA K. FUJISAKI T. MIKAMI I. IGARASHI	J. Parasitol. 88: 804-807	2002年11月
獣 医 学	Characterization of <i>Toxoplasma gondii</i> SAG 2 expressed in insect cells by recombinant baculovirus and evaluation of its diagnostic potential in an enzyme-linked immunosorbent assay.	X. HUANG X. XUAN H. SUZUKI C. SUGIMOTO H. NAGASAWA K. FUJISAKI T. MIKAMI I. IGARASHI	Clin. Diagn. Lab. Immunol. 9 : 1343-1347	2002年11月

獣 医 学	The mechanism underlying the protective effect of the thearubigin fraction of black tea (<i>Camellia sinensis</i>) extract against the neuromuscular blocking action of botulinum neurotoxins.	E. SATOH T. ISHII Y. SHIMIZU S. SAWAMURA M. NISHIMURA	Pharmacol. Toxicol.	2002年4月
獣 医 学	A mechanism of the thearubigin fraction of black tea (<i>Camellia sinensis</i>) extract protecting against the effect of tetanus toxin.	E. SATOH T. ISHII Y. SHIMIZU S. SAWAMURA M. NISHIMURA	J. Toxicol. Sci.	2002年12月
獣 医 学	Existence of phenol oxidase in the argasid tick <i>Ornithodoros moubata</i> .	K. KADOTA E. SATOH M. OCHIAI N. INOUE N. TSUJI I. IGARASHI H. NAGASAWA T. MIKAMI F.G. CLAVERIA K. FUJISAKI	Parasitol. Res.	2002年8月
獣 医 学	紅茶抽出液のボツリヌス毒素中和物質の単離精製	沢村信一 坂根 巖 佐藤栄輝 石井利明 清水祥夫 西村昌数 梅原 薫	日薬理誌	2002年11月
獣 医 学	紅茶由来ボツリヌス神経毒素中和物質の食品への応用	沢村信一 坂根 巖 佐藤栄輝 石井利明 清水祥夫 西村昌数	日食科工誌	2002年12月
獣 医 学	Recombinant FHV-1 expressing <i>Toxoplasma gondii</i> ROP 2 antigen inducible protective immunity in cats	M. MISHIMA X. XUAN N. YOKOYAMA I. IGARASHI K. FUJISAKI H. NAGASAWA T. MIKAMI	Parasitol. Res.	2002年4月
獣 医 学	Canine herpesvirus ORF 2 is a membrane protein modified by N-linked glycosylation	Y. NISHIKAWA M. KIMURA X. XUAN L. MAKALA	Virus Res.	2002年7月

	H. NAGASAWA T. MIKAMI H. OYSUKA		
獣 医 学	Diagnosis of equine piroplasmosis in Xinjiang province of China by the ELISA using recombinant antigens	X. XUAN B. CHAHAN X. HUANG N. YOKOYAMA L. MAKALA I. IGARASHI K. FUJISAKI S. MARUYAMA T. SAKAI T. MIKAMI	Vet. Parasitol. 2002年2月
獣 医 学	Immune responses of interferon gamma knock out mice to repeated Haemophysalis longicornis (Acari: Ixodidae) nymph infections	B. BATTSETSEG K. MAMIRO N. INOUE L. MAKALA H. NAGASAWA Y. IWAKURA Y. TOYODA T. MIKAMI K. FUJISAKI	J. Med. Entomol. 2002年1月 39 (1) : 173-176
獣 医 学	Tetracycline-regulated RNA interference in <i>Trypanosoma congolense</i>	N. INOUE K. OTSU D.M. FERRARO J.E. DONELSON	Mol. Biochem. Parasitol. 2002年4月 120 (2) : 309-313
獣 医 学	Phenotype and function of murine peritoneal cavity macrophage derived - dendritic cells	L.H.C. MAKALA Y. NISHIKAWA M. MISHIMA N. INOUE X. XUAN H. SUZUKI K. FUJISAKI T. MIKAMI H. NAGASAWA	J. Vet. Med. Sci. 2002年9月 64 (9) : 813-820
医 学	Exposure to electric field (EF) : Its palliative effect on some clinical symptoms in human patients	S. HARAKAWA F. DOGE A. SAITO	Res. Bull. Obihiro Univ. 2002年 Natl. Sci. 22 (4) : 1-7
医 学	An essential virulence protein of <i>Brucella abortus</i> , VirB4 requires an intact nucleoside triphosphate-binding domain	M. WATARAI S. MAKINO T. SHIRAHATA	Microbiology 2002年1月 148: 1439-1446

医 学	Modulation of Brucella-induced macro-pinocytosis by lipid rafts mediates intracellular replication	M. WATARAI S. MAKINO Y. FUJII K. OKAMOTO T. SHIRAHATA	Cell. Microbiol. 4 : 341-356	2002年 6 月
医 学	Macrophage plasma membrane cholesterol contributes to Brucella abortus infection of mice	M. WATARAI S. MAKINO M. MICHIKAWA K. YANAGISAWA S. MURAKAMI T. SHIRAHATA	Infect. Immun. 70: 4818-4825	2002年 9 月
医 学	Production, characterization, and interspecies reactivities of monoclonal antibodies against human class A macrophage scavenger receptors.	R. TOMOKIYO K. JINNOUCHI M. HONDA Y. WADA N. HANADA T. HIRAOKA H. SUZUKI T. KODAMA K. TAKAHASHI M. TAKEYA	Atherosclerosis 161: 123-132	2002年 6 月
医 学	Hydrocephalus, situs inversus, chronic sinusitis, and male infertility in DNA polymerase lambda-deficient mice: Possible implication for the pathogenesis of immotile cilia syndrome.	Y. KOBAYASHI M. WATANABE Y. OKADA H. SAWA H. TAKAI M. NAKANISHI Y. KAWASE H. SUZUKI K. NAGASHIMA K. IKEDA N. MOTOYAMA	Mol. Cell. Biol. 22: 2769-2776	2002年 7 月
医 学	Renal damage and salt-dependent hypertension in aged transgenic mice overexpressing endothelin-1 .	T. SHINDO H. KURIHARA K. MAEMURA Y. KURIHARA O. UEDA H. SUZUKI T. KUWAKI K.H. JU Y. WANG A. EBIHARA H. NISHIMATSU N. MORIYAMA M. HUKUDA Y. AKIMOTO H. HIRANO	J. Mol. Med. 80: 105-116	2002年 7 月

		H. MORITA M. KUMADA Y. YAZAKI R. NAGAI K. KIMURA		
医 学	Role of <i>Lkb1</i> the causative gene of Peutz-Jegher's syndrome, in embryogenesis and polyposis.	K. JISHAGE J. NEZU Y. KAWASE T. IWATA M. WATANABE A. MIYOSHI A. OSE K. HABU T. KAKE N. KAMADA O. UEDA M. KINOSHITA, D.E. JENNE M. SHIMANE H. SUZUKI	Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 8903-8908	2002年10月
医 学	Alpha-tocopherol transfer protein is specifically localized at the implantation site of pregnant mouse uterus.	D.E.KAEMPF-ROTZOLL K. IGARASHI J. AOKI K. JISHAGE H. SUZUKI O. TAMAI O. LINDERKAMP H. ARAI	Biol. Reprod. 67: 599-604	2002年10月
医 学	Chk 2 -deficient mice exhibit radio-resistance and defective p53-mediated transcription.	H. TAKAI K. NAKA Y. OKADA M. WATANABE N. HARADA S. SAITO C.W. ANDERSON E. APPELLA M. NAKANISHI H. SUZUKI K. NAGASHIMA H. SAWA K. IKEDA N. MOTOYAMA	EMBO J. 21: 5195-5205	2002年11月
医 学	Effects of erythropoietin on glial cell development; oligodendrocyte maturation and astrocyte proliferation.	M. SUGAWA Y. SAKURAI Y. ISHIKAWA-IEDA H. SUZUKI H. ASOU	Neurosci. Res. 44: 391-403	2002年12月

医 学	Developmental expression of EphB 6 in the thymus: lessons from EphB 6 knockout mice.	M. SHIMOYAMA H. MATSUOKA A. NAGATA N. IWATA A. TAMEKANE A. OKAMURA H. GOMYO M. ITO K. JISYAGE N. KAMADA H. SUZUKI T. NODA T. MATSUI	BBRC. 298: 87-94	2002年12月
医 学	Assessment of potential tumor-seeking manganese metalloporphyrin contrast agent in mouse model	Y. TAKAHARA H. SAKAHARA H. MASUNAGA S. ISOGAI H. TAKEDA S. NAKAJIMA I. SAKATA	Magnetic Resonance in Medicine 47: 549-553	2002年 5 月
医 学	Therapeutic and imaging capacity of tumor-localizing radio-sensitive Mn-porphyrin	S. NAKAJIMA T. FUJII N. MURAKAMI T. ABURANO I. SAKATA	Cancer letter 191: 173-178	2002年 7 月
畜 产 学	A comparative study on digestive parameters in an indigenous fat-tailed and a conventional Dorper sheep fed on maize stover crop residue	A.B. MWENYI C. WOLLNY M. BLUMMEL J. BANDA J. TAKAHASHI	Asian-Aust. J. Anim. Sci. 16: 529-533	2003年 3 月
畜 产 学	Methane emission, nutrient digestibility, energy metabolism and blood metabolites in dairy cows fed silages with and without galacto-oligosaccharides supplementation	B. SANTOSO S. KUME K. NONAKA K. KIMURA H. MIZUKOSHI Y. GAMO J. TAKAHASHI	Asian-Aust. J. Anim. Sci. 16: 534-540	2003年 3 月
畜 产 学	Chemical characterization of the oligosaccharides in beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>) and minke whale (<i>Balaenoptera acutorostara</i>) milk.	T. URASHIMA H. SATO J. MUNAKATA I. ARAI T. SAITO M. TETSUKA Y. FUKUI K.M. KOVACS	Com. Biolchim. Physiol. Part B 132: 611-624	2002年

畜産学	Viability of cryopreserved and vitrified embryos and fertility after direct transfer in ewes.	A. OKADA K. YOSHII Y. MIZUOCHI T. ANDOU S. JOUJOU S. WACHI M. TOGAWA N. ISHIDA M. ASADA Y. FUKUI	J. Reprod. Dev. 48: 189-195	2002年4月
畜産学	Birth of calves derived from intracytoplasmic sperm injection (ICSI) without exogenous oocyte activation treatment	H. WEI Y. FUKUI	Zygote 10: 149-153	2002年5月
畜産学	Birth of lambs after direct transfer of vitrified ovine embryos	A. OKADA S. WACHI K. IIDA S. JOUJOU M. TOGAWA M. ASADA Y. FUKUI	J. Reprod. Dev. 48: 309-312	2002年6月
畜産学	Effect of polyvinyl alcohol (PVA) concentration during vitrification of in vitro matured bovine oocytes	M. ASADA S. ISHIBASHI S. IKUMI Y. FUKUI	Theriogenology 58: 1199-1208	2002年10月
畜産学	Fertility of estrus-induced ewes during the non-breeding season and artificially inseminated with frozen semen imported from New Zealand	Y. FUKUI K. IIDA A. OKADA S. JOUJOU S. WACHI M. TOGAWA	J. Reprod. Dev. 48: 485-488	2002年10月 10月
畜産学	Changes in the number of pre-antral follicles and hormone concentrations in the bovine fetal ovary	Y. MURANISHI T.J. ACOSTA A. MIYAMOTO Y. FUKUI	J. Reprod. Dev. 48: 453-460	2002年12月
畜産学	Cell cycle synchronization of donor nuclei and effect of activation treatments of bovine oocytes after intracytoplasmic injection	S. IKUMI M. ASADA K. SAWAI Y. FUKUI	J. Reprod. Dev. 49: 37-43	2003年1月
畜産学	Effect of local interaction of interactive oxygen species with prostaglandin F 2 on the release of progesterone in ovine corpora lutea in vivo	K. HAYASHI A. MIYAMOTO A. KONARI M. OHTANI Y. FUKUI	Theriogenology 59: 1335-1344	2003年3月

畜産学	オープンソースを利用した牛枝肉画像データベースの構築とその可能性	口田圭吾 植田美緒 大澤剛史 加藤貴之	コンピュータ&エデュケーション 13 : 69-73	2002年11月
畜産学	コンピュータモニタ画面による牛肉色評価の基礎的検討	口田圭吾 植田美緒 岡本圭介 鈴木三義 三好俊三 鶴田 徹	日本畜産学会報 73 (4) : 521-528	2002年11月
畜産学	受精卵クローン牛枝肉横断面の画像解析による類似性の評価	口田圭吾 小笠原匡教 日高 智 酒井稔史 南橋 昭 山本裕介	日本畜産学会報 74 (1) : 1 - 8	2003年2月
畜産学	画像解析による黒毛和種の牛胸最長筋形状評価法と種雄牛の影響	口田圭吾 菊地 彩 加藤浩二 日高 智 鈴木三義 三好俊三	日本畜産学会報 74 (1) : 23-30	2003年2月
畜産学	枝肉のよりきれいな横断面画像を記録し評価するために	口田圭吾	北海道肉牛研究会報 7 : 56-62	2003年2月
畜産学	Intake and grazing behavior of Hokkaido native horses on winter woodland pasture	M. KAWAI H. HISANO Y. MASUDA N. YABU Y. YAMAMOTO S. MATSUOKA	Proc. the Xth International Congress of AAAP, 214	2002年9月
畜産学	The effect of different moisture contents at ensiling on silo degradation and digestibility of structural carbohydrates of orchardgrass	M.S. YAHAYA M. KAWAI J. TAKAHASHI S. MATSUOKA	Anim. Feed Sci. Technol. 101: 127-133	2002年10月
畜産学	The effect of growth stage at ensiling on degradation of structural carbohydrates of lucerne silage	M.S. YAHAYA H.V. Nguyen M. KAWAI J. TAKAHASHI S. MATSUOKA	Malaysian J. Anim. Sci. 7 (2) : 49-54	
農学	Chabges in levels of bioactive substances in stem bases of orchardgrass after defoliation	S. YAMAMAOTO K. GOTO	Grassland Science 48 (1) : 7-11	2002年4月

農	学	耐塩性の異なる植物における塩ストレ ス下での Ca の動き	海野洋揮 前田良之 山本紳朗 岡本明治 武長 宏	日本土壤肥料学雑誌 73 (6) : 715-718	2002年12月
農	学	Development of near-isogenic dou- bled haploids of wheat carrying dif- ferent null <i>Wx</i> alleles and their starch properties	H. MIURA M. WICKRAMASHINHE R. SUBASINGHE E. ARAKI K. KOMAE	Euphytica 123 (3) : 353-359	2002年
農	学	Molecular cloning of the wheat <i>CK2a</i> gene and detection of its link- age with <i>Vrn-A1</i> on chromosome 5A	K. KATO S. KIDOU H. MIURA S. SAWADA	Theor. Appl. Genet. 104 (6 / 7) : 1071-1077	2002年
農	学	Effects of substitution of waxy- wheat flour for common flour on dough and baking properties	N. MORITA T. MAEDA M. MIYAZAKI M. YAMAMORI H. MIURA I. OHTSUKA	Food Sci. Technol. Res. 8 (2) : 119-124	2002年
農	学	Dough and baking properties of high-amyllose and waxy wheat flours	N. MORITA T. MAEDA M. MIYAZAKI M. YAMAMORI H. MIURA I. OHTSUKA	Cereal Chem. 79 (4) : 491-495	2002年
農	学	Characterization of <i>QEet.ocs-5A.1</i> a quantitative trait locus for ear emer- gence time on wheat chromosome 5 AL	K. KATO H. MIURA S. SAWADA	Plant Breed. 121 (5) : 389-393	2002年
農	学	Detection of chromosomes carrying genes for seed dormancy of wheat using the backcross reciprocal mono- somic method	H. MIURA N. SATO K. KATO Y. AMANO	Plant Breed. 121 (5) : 394-399	2002年
農	学	Genetic identification of a female partialsterile mutant in soybean	K.K. KATO R.G. PALMER	Genome 46: 128-134	2003年2月
農	学	Molecular mapping of sterile gene st 8 derived from w 4 -mutable line in soybean.	K.K. KATO R.G. PALMER	J. of Heredity	印刷中
農	学	大区画水田における田面の高低差が直播 水稻の初期生育と分げつに及ぼす影響	佐々木良治 柴田洋一 鳥山和伸	日作紀 71 (3) : 308-316	2002年9月

農	学	Genetic diversity of <i>Verticillium albo-atrum</i> in Japan	M. SUGIMOTO M. KOIKE K. OKUMURA H. NAGAO Y. EBIHARA A. SUMINO	Biodiversity in Plant Pathology (European Foundation for Plant Pathology) : 161-166	2002年 7月
農	学	Ribotyping and virulence to aphid of entomopathogenic <i>Verticillium lecanii</i> in Japan	M. SUGIMOTO M. KOIKE H. NAGAO	Biodiversity in Plant Pathology (European Foundation for Plant Pathology) : 167-171	2002年 7月
農	学	Genetic, morphological, and virulence characterization of the entomopathogenic fungus <i>Verticillium lecanii</i>	M. SUGIMOTO M. KOIKE N. HIYAMA H. NAGAO	J. Invertebrate Pathology 82 (2) : 176-187	2002年 3月
農	学	アルファルファ草地におけるアブラムシ類の一次寄生蜂および高次寄生蜂の季節的消長	妹尾 望 落合陽子 仲島義貴	日本応用動物昆虫学会誌 46 (2) : 96-98	2002年 5月
農	学	ナミヒメハナカメムシ <i>Orius sauteri</i> (Poppius) (Hemiptera: Anthocoridae) の生存と繁殖に及ぼすショ糖の影響	前田聖子 仲島義貴 田頭栄子 高木正見	日本応用動物昆虫学会誌 46 (3) : 169-173	2002年 8月
農	学	Flexible use of patch marks in an insect predator: effect of sex, hunger state and patch quality	Y. NAKASHIMA M. TESHIBA Y. HIROSE	Ecol. Entomol. 27 (5) : 581-587	2002年10月
農	学	Sex differences in foraging behaviour and oviposition site preference in an insect predator <i>Orius sauteri</i> .	Y. NAKASHIMA Y. HIROSE	Entomol. exp. Appl. 106 (1) :79-86	2003年 1月
農芸化学	Chemical characterization of oligosaccharides in beluga (<i>Delphinapterus leucas</i>) and Minke whale (<i>Balaenoptera acutorostrata</i>) milk	T. URASHIMA H. SATO J. MUNAKATA T. NAKAMURA I. ARAI T. SAITO M. TETSUKA Y. FUKUI H. ISHIKAWA C. LYDERSEN K.M. KOVACS	Comp. Bioche. Physiol. 132B: 611-624	2002年 8月	
農芸化学	Determination of each neutral oligosaccharide in Japanese women milk during the course of lactation	W. SUMIYOSHI T. URASHIMA T. NAKAMURA I. ARAI T. SAITO	Brit. J. Nutr. 89: 61-69	2003年 2月	

N. TSUMURA
 B. WANG
 J. BRAND-MILLER
 Y. WATANABE
 K. KIMURA

農芸化学 Biosynthesis of Chloroplastidic and Extra-chloroplastidic Terpenoids in Liverwort Cultured Cells: ^{13}C Serine as a Probe of Terpene Biosynthesis via Mevalonate and Non-mevalonate Pathways	D. ITOH K. KAWANO K. NABETA	J. Natural Products. 66 (3) : 332-336	2000年3月
農芸化学 赤ワイン中のリスペラトロール含量に及ぼす気象要因および熟成の影響	安井美裕 柚木恵太 内藤彰彦 川口政憲 大西正男	食科教誌. 49 (4) : 220-227	2002年4月
農芸化学 Sexual differences in gonad fatty acid compositions in dominant limpets species from the Sanriku Coast in northern Japan	H. KAWASHIMA M. OHNISHI H. UCHIYAMA	J. Oleo Sci. 51 (7) : 503-508	2002年7月
農芸化学 食酢発酵液より分離した中酸度生成菌 NCI 1193の同定およびエタノール酸化系酵素遺伝子の塩基配列	高桑直也 山根衣佳 後藤英嗣 小田有二 深谷正裕 塚本義則 大西正男	釀協. 97 (9) : 645-650	2002年9月
農芸化学 Apoptosis induction by wheat-flour sphingoid bases in DLD-1 human colon cancer cells	T. SUGAWARA M. KINOSHITA M. OHNISHI T. MIYAZAWA	Biosci. Biotechnol. Biochem. 66 (10) : 2228-2231	2002年10月
農芸化学 Distribution of 9-methyl sphingoid base in mushrooms and its effects on the fluidity of phospholipid liposomes	N. TAKAKUWA M. TANJI Y. ODA M. OHNISHI	J. Oleo Sci 51 (11) : 741-747	2002年11月
農芸化学 Existence of cerebroside in <i>Saccharomyces kluyveri</i> and its related species	N. TAKAKUWA M. KINOSHITA Y. ODA M. OHNISHI	FEMS Yeast Res. 2 : 533-538	2002年
農芸化学 Isolation and characterization of the genes encoding Δ^8 -sphingolipid desaturase from <i>Saccharomyces kluyveri</i> and <i>Kluyveromyces lactis</i>	N. TAKAKUWA M. KINOSHITA Y. ODA M. OHNISHI	Curr. Microbiol. 45: 459-461	2002年

農芸化学	Subulatin, an antioxidantic caffeic acid derivative isolated from the in vitro cultured liverwort, Jungermannia subulata, Lophocolea heterophylla, and Scapania parvitexta	H. TAZAKI M. ITO M. MIYOSHI J. KAWABATA E. FUKUSHI T. FUJITA M. MOTOURA T. FURUKI K. NABETA	Biosci. Biotechnol. Biochem. 66 (2) : 255-261	2002年2月
農芸化学	Sugar and starch contents of processing potatoes during reconditioning	K. HIRONAKA K. ISHIBASHI M. MINAMI H. KOAZE	Food Preser. Sci. 29 (2) : 95-100	2003年3月
農業工学	自脱コンバイン用収量計測システムに関する研究(第1報)光学式センサと重量式センサの収量モニタへの適用	帖佐直 小林恭 大黒正道 柴田洋一 大嶺政朗	農機誌 64 (6) : 145-153	2002年11月
農業工学	Comparative analysis in the processing of sweetpotato flour from chips and from grates	D.L.S. TAN K. MIYAMOTO K. ISHIBASHI K. MATSUDA T. SATOW	Acta Horticulture (ISHS) 583: 211-221	2002年8月
農業工学	十勝地方の大規模畑作地帯における防除作業の実態調査	佐藤禎稔 宮本啓二 松田清明	農作業研究 (日本農作業学会誌) 37 (3) : 153-160	2002年9月
農業経済学	食料小売店舗の大規模化と消費者行動—英国食品市場を対象としたナッシュ均衡の仮説的適用—	仙北谷 康 Michael Bourlakis	2002年度日本農業経済学会 論文集 191-193	2002年11月
農業経済学	EUにおける再生可能エネルギー普及政策と導入背景	徐世旭 佐々木市夫	農業経営研究 40 (2) : 112-117	2002年9月
農業経済学	欧州連合(EU)のエネルギー事情と再生可能エネルギー普及	徐世旭 佐々木市夫	2002年度日本農業経済学会論文集: 404-409	2002年11月
農業経済学	Prospects for rice industry according to the results of the WTO renegotiation in 2004	S.W. SEO M.Y. HUH	The Korean J. of Agricultural Economics 43 (4) : 99-120	2002年12月
環境科学	The immature stages of <i>Steyskalomyza hasegawai</i> Kurehashi, 1982 (Diptera; Dryomyzidae) from Japan	M. IWASA	Jap. J. Sanit. Zool. 53 (2) : 133-139	2002年7月

環境科学	Banded karyotypes of the hairy-footed flying squirrel <i>Belomys (Trogopterus) pearsonii</i> (Mammalia, Rodentia) from Taiwan	T. OSHIDA L-K. LIN H. YANAGAWA T. KAWAMICHI M. KAWAMICHI V. CHENG	Caryologia 55 (3) : 207-211	2002年10月
環境科学	北海道におけるエコブリッジ（樹上性動物用ブリッジ）の現状と課題	柳川 久 上田理恵	第2回「野生生物と交通」 2003年2月 研究発表会講演論文集： 45-52	
環境科学	道路建設に伴うコウモリ類への保全対策とそのモニタリング	谷崎美由記 前田敦子 柳川 久	第2回「野生生物と交通」 2003年2月 研究発表会講演論文集： 53-60	
環境科学	道路周辺のエゾシカと事故数との関係 —国道273号を例として—	野呂美紗子 柳川 久	第2回「野生生物と交通」 2003年2月 研究発表会講演論文集： 75-80	
環境科学	Effects of competitive exclusion by the dominant <i>Sasa tsuboiana</i> on associate species	Y. KONNO	J. Veg. Sci. 19 (1) : 1-10	2002年6月
畜産科学	強酸性電解水による乳頭清拭の効果	荒井威吉 仙田晶嗣 山上貴礼 無量谷亜希 中村 正 浦島 匡	北畜会報. 44: 59-63	2002年3月
畜産科学	イエメン産の伝統的自然発酵乳“ラバン”的菌叢ならびに官能特性の解析	荒井威吉 中島景典 丸山千弘玲 中村 正 戸羽隆宏 浦島 匡	ミルクサイエンス 51 (2) : 63-67	2002年7月
生殖科学	Local changes in the blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F _{2α} injection in the cow.	T.J. Acosta N. Yoshizawa M. Ohtani A. Miyamoto	Biology of Reproduction. 2002年 66: 651-658	
生殖科学	Effect of mitogens, supplement of beta-mercaptoethanol and fetal bovine serum supplementation in whole blood culture medium for bovine chromosome analysis.	M. Takagi M. Tsuno M. Ohtani T.J. Acosta A. Miyamoto K. Miyazawa K. Sato	Asian-Australian Journal of Animal Science. 15: 615-621	2002年

生殖科学	Effects of LH and PGF _{2α} in equine dominant follicles observed by MDS.	AY. Kojima S. Kobayashi TJ. Acosta M. Kudo A. Miyamoto M. Takagi K. Miyazawa K. Sato	J. Veterinary Medical Science. 64: 119-122	2002年
生殖科学	Bovine retained placenta: Hormonal concentrations in fetal and maternal placenta.	M. Takagi S. Fujimoto M. Ohtani A. Miyamoto MPB. Wijayagunawardane TJ. Acosta K. Miyazawa K. Sato	Placenta. 23: 429-437	2002年
生殖科学	The cooperative action of angiotensin II with subluteolytic administration of prostaglandin F _{2α} inducing luteolysis and the estrus in the cow.	K. Hayashi J. Tanaka KG. Hayashi M. Hayashi M. Ohtani A. Miyamoto	Reproduction. 124: 311-315	2002年
生殖科学	Changes in the number of preantral follicles and hormone concentrations in the bovine fetus.	Y. Muranishi TJ. Acosta A. Miyamoto Y. Fukui	Journal of Reproduction and Development. 48: 553-560	2002年
生殖科学	The mRNA expression of angiotensin and endothelin system members in bovine ovarian follicles during final follicular growth.	B. Berisha D. Schams A. Miyamoto	Journal of Reproduction and Development. 48: 553-560	2002年
生殖科学	Intraluteal release of prostaglandin F _{2α} and E ₂ during corpora lutea development in the cow.	S. Kobayashi TJ. Acosta K. Hayashi B. Berisha T. Ozawa M. Ohtani D. Schams A. Miyamoto	Journal of Reproduction and Development. 48: 583-590	2002年
生殖科学	Annual changes in serum LH and testosterone concentrations in male Sika deer (<i>Cervus Nippon</i>) .	Y. Kameyama A. Miyamoto S. Kobayashi T. Kuwayama Y. Ishijima	Journal of Reproduction and Development. 48: 613-617	2002年

生殖科学	The expression of angiotensin and endothelin system members in bovine corpus luteum during estrous cycle and pregnancy.	B. Berisha D. Schams A. Miyamoto	Endocrine. 19: 305-312	2002年
生殖科学	Local interaction of reactive oxygen species with prostaglandin F ₂ α on the release of progesterone in ovine corpora lutea in vivo.	K. Hayashi A. Miyamoto A. Konari M. Ohtani Y. Fukui	Theriogenology. 59:1335-1344	2002年
生殖科学	Changes of prostaglandin secretion in the regressing bovine corpus luteum.	K. Hayashi T.J. Acosta B. Berisha S. Kobayashi M. Ohtani D. Schams A. Miyamoto	Prostaglandins & Other Lipid Mediators. 70:339-349	2002年
生殖科学	Relationship between plasma oxytocin and placental retention time immediately after foaling in Heavy Draft Mares.	M. Ishii S. Kobayashi T.J. Acosta H. Ogata H. Shimizu Y. Takeuchi R. Kajiyama Y. Yamamoto T. Okamoto T. Nozawa T. Kukino T. Yamanoi A. Miyamoto	Journal of Equine Science. 13: 101-107.	2002年
生殖科学	Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in the cow.	T.J. Acosta KG. Hayashi M. Ohtani D. Schams A. Miyamoto	Reproduction 125:759-767	2003年
植物生理学	Involvement of gibberellin and cytokinin in the formation of embryogenic cell clumps in carrot (<i>Daucus carota</i>).	Y. TOKUJI K. KURIYAMA	J. Plant Physiol. 160 (2) : 133-141	2003年2月
生物有機化学	Improvement in the properties of 3-phenyl-3-trifluoromethyl diazirine based photoreactive bis-glucose probes for GLUT 4 following substitution on the phenylring	M. HASHIMOTO J. YANG Y. HATANAKA Y. SADAKANE K. NAKAGOMI G.D. HOLMAN	Chem. Pharm. Bull 50: 1004-1006	2002年5月

生物有機化学	Synthesis of tag introducible (3-trifluoromethyl) phenyldiazirine based photoreactive phenylalanine	M. HASHIMOTO Y. HATANAKA Y. SADAKANE K. NABETA	Bioorg. Med. Chem. Lett. 12: 2507-2510	2002年10月
栄養化学	Resistant starch as a prediotic and symbiotic: state of the art	DL. TOPPING M. FUKUSHIMA AR. BIRD	Proceedings of the Nutrition Society 62 (1) : 171-176	2003年2月
文 学	幼少年期の自伝（四）一大岡昇平と三つの自伝一	柴口順一	帯広畜産大学学術研究報告 人文社会科学論集 11 (2) : 1-11	2003年3月
英 文 学	Cultural Conflicts in <i>The Inheritors-Golding's Wavering Attitude towards Order-</i>	H. TOKIOKA	Letters and Essays. 38: 4-13	2002年11月
英 文 学	中島敦、スティーブンソンを読み破る——『光と風と夢』のコンテクストについて	齋藤 一	立命館言語文化論集 14 (1) : 65-73	2002年5月
法 学	「不完全履行」概念の現代的展開とその有用性	長坂 純	帯畜大研報人文社会 11 (2) : 12-26	2003年3月
社 会 学	地域開発とともに『物語』の生成と『不安』のコミュニケーション	関 礼子	松井健編『開発』と環境の 文化学、榕樹書林	2002年12月
心 理 学	学生の授業評価を規定するものは何か—平成13年度後期・学生による授業評価の分析	渡邊芳之	帯畜大研報人文社会 11 (2)	2003年3月

平成14年度 帯広畜産大学研究業績

■ 総 説

分 野	題 目	著 者 名	誌 名	発行年月
獣 医 学	The current status of major tick borne diseases in Zambia.	L.M. MAKALA P. MANGANI K. FUJISAKI H. NAGASAWA	Vet. Res. 34 (1) : 27-45	2003年 2 月
獣 医 学	マダニとマダニ媒介性疾病を防圧するためのワクチン開発	藤崎幸蔵	動生協会会報 35 (3) : 1 - 5	2002年 7 月
農芸化学	Evolution of milk oligosaccharides and lactose	M. MESSEER T. URASHIMA	Trends Glycosci. Glycotech. 14: 153-176	2002年 9 月
農芸化学	Oligosaccharides specificity of galectins: a search by frontal affinity chromatography	J. HIRABAYASHI T. HASHIDATE Y. ARATA N. NISHI T. NAKAMURA M. HIRASHIMA T. URASHIMA T. OKA M. FUTAI W. MULLER Y. YAGI K. KASAI	Biochim. Biophys. Acta 1572: 232-254	2002年10月
農芸化学	第2部門 土壌化学・土壤鉱物有機成分	筒木 潔	日本土壤肥料科学雑誌 73 (特集号) : 609-614	2002年10月
農業工学	バイオガスプラント技術的課題	梅津一孝	バイオガスシステムによる 家畜ふん尿の有効活用	2002年 4 月
農業工学	バイオガスの生産技術と利用技術	梅津一孝 西崎邦夫	北海道における自然エネルギー利用技術	2002年12月
農業経済	十勝における酪農経営法人の経営分析 一大樹町日昭牧場を対象として-	樋口昭則	畜産情勢研究事業報告書 中央畜産会,全国農林統計 協会連合会	2002年 3 月
農業経済	畑作酪農地域における法人化モデル	樋口昭則	新世紀対応酪農基盤確立 調査事業最終報告書 日本草地畜産種子協会	2003年 3 月
生殖科学	Vasoactive peptides in bovine ovulatory follicles	J. TOMAS T.J. ACOSTA A. MIYAMOTO	Animal frontier sciences	2002年

英語教育 デジタルAV機器を使ってL L授業の活 性化を図る試みーD V D、ミニディスク、 電子ブックを利用する英語教育の実践ー	H. TOKIOKA	JACET 北海道支部 ニュースレター 16: 14-17	2003年3月
法 学 フォローアップ条文にない民法ー使者ー	長坂 純	法学セミナー 576: 47	2002年12月
法 学 フォローアップ条文にない民法ー相当 因果関係ー	長坂 純	法学セミナー 576: 39	2003年2月
法 学 フォローアップ条文にない民法ー準事 務管理ー	長坂 純	法学セミナー 578: 45	2003年2月
社会学 汚染・環境問題	関 礼子	岩上ほか編『ソーシャル ワーカーのための社会学』 有斐閣	2002年10月
社会学 新潟水俣病をめぐる制度・表象・地域	関 礼子	東信堂	2003年
心理学 書評「心理学におけるフィールド研究 の現場」	渡邊芳之	質的心理学研究 1 (1)	2002年4月

平成14年度 帯広畜産大学研究業績

■ 著 書

分 野	題 目	著 者 名	誌 名	発行年月
獣 医 学	小腸と大腸の解剖	佐々木基樹 北村延夫 山田純三	小動物外科専門誌 6 (3) : 6-16 インターナー. 東京.	2002年 6 月
獣 医 学	肛門の解剖	佐々木基樹 北村延夫 山田純三	小動物外科専門誌 6 (6) : 4-11 インターナー. 東京.	2002年12月
獣 医 学	Skull osteometry in the least horse-shoe bat (<i>Rhinolophus cornutus</i>) from Hachijo Island, Japan.	H. ENDO B.J. STAFFORD M. SASAKI	Men. Natn. Sci. Mus., Tokyo. 38: 249-254	2002年12月
医 学	医学大辞典	藤崎幸蔵 (部分執筆)	医学書院	2003年 3 月
医 学	P D Tハンドブック P D Tの原理と光感受性物質の動向	奥中哲弥 中島 進	医学書院 pp. 1-10	2002年 9 月
畜 産 学	Greenhouse Gases and Animal Agriculture	J. TAKAHASHI B.A. YOUNG	Elsevier, Amsterdam, pp. 1-362	2000年 4 月
畜 産 学	Global Perspective in Forest Conservation and Sustainable Agriculture	J. TAKAHASHI T. ISHII K. MIYAZAWA Y. KUSHI H. MIURA T. TETSUKA H. SAITO H. KONO Y. SASAKI K. SHIMADA T. MUNEOKA T. TAKAHASHI K. UMETSU T. KISHIMOTO M. TANI	Dairy Japan Co. Ltd. Tokyo, pp 1-77	2002年11月
畜 産 学	Nutritional options for abatement of methane emission from farm animals. In: Global Perspective in Livestock Waste Management. H. K. Ong, I. Zulkifli, T. P. Tee and J. B. Liang eds.	J. TAKAHASHI M. MII Y. GAMO K. KIMURA K. UMETSU I. ARAI	Malaysian Society of Animal Production. Serdang , pp149-155.	2002年 5 月
畜 産 学	In Vitro Maturation and Fertilization of Minke Whale, <i>Balaenoptera acutorostrata</i> , Follicular Oocytes In: Molecular and Cell Biology of Marine Mammals (Ed.C.J.Pfeiffer)	Y. FUKUI	Krieger Publishing Company, Florida, U.S.A. pp.344-355	2002年

畜産学 繁殖生理・ミンククジラの体外受精に挑むイルカ・クジラ額(村山 司 編集)	福井 豊	東海大学出版会 pp. 239-255	2002年12月
農芸化学 Distribution of cerebroside in genus <i>Saccharomyces</i> and its closely related yeasts, and cloning of cerebroside metabolism-related genes	N. TAKAKUWA K. YAMANE M. KINOSHITA Y. ODA M. OHNISHI	In Advanced Research on Plant Lipids, (Eds. Murata, N. et al.) Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 229-232	2003年2月
農芸化学 Properties and physiological effects of plant cerebroside species as functional lipids	K. AIDA N. TAKAKUWA M. KINOSHITA T. SUGAWARA H. IMAI J. ONO M. OHNISHI	In Advanced Research on Plant Lipids, (Eds. Murata, N. et al.) Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 233-236	2003年2月
農芸化学 地球環境調査計測事典 第1巻 陸域編 1 第5編第3節 1 土壌有機物の分離法, 2 非腐植物質の分離分析方法, 3 土壤 腐植物質含有量の測定方法	筒木 潔	フジテクノシステム 東京 1032-1039	2002年12月
農業工学 Greenhouse Gases and Animal Agriculture	K. UMETSU R. KONDO	Elsevier	2002年5月
農業工学 Global Prospective in Livestock Waste Management	K. UMETSU T. KISHIMOTO J. TAKAHASHI	Malaysian Society of Animal Production	2002年5月
農業経済学 農業の与件変化と対応策	樋口昭則 淡路和則	農林統計協会	2002年11月
農業経済学 農業の与件変化と対応策 (第2章 稲作農家の計画外流通米出荷行動における地域差)	徐世旭 (樋口昭則・淡路和則編著)	農林統計協会	2002年11月
農業経済学 農業の与件変化と対応策 (第III部第3章 農作業受委託の進展と農業統計: 177-200)	香川文庸 (樋口昭則・淡路和則 編著)	農林統計協会	2002年11月
農業経済学 農作業料金の経済分析	香川文庸	農林統計協会	2003年2月
環境科学 外来種ハンドブック	押田龍夫 柳川 久	地人書館	2002年9月
環境科学 Present status of remnant forests in Obihiro, eastern Hokkaido, Japan in "Global Perspective in Forest Conservation and Sustainable Agriculture"	Y. KONNO	Dairy Japan, Tokyo 39-46	2002年10月

畜産科学 畜産食品の事典 (IV. 畜産食品と微生物) 10. 細菌数の検査法, 11. 原料乳の 微生物学的性状, 12. 乳房炎起因菌, 16. チーズの汚染微生物)	朝倉書店 編集者: 細野明義, 沖谷昭絵, 吉川正明, 八田一	2002年11月
栄養化学 食による生体機能調整の新展開 「食品の摂取とコレステロール代謝」	福島道広	日本食品出版株式会社 東京 pp.73-86
文 学 大岡昇平と歴史	柴口順一	翰林書房 2002年5月
法 学 私たちの生活と法	長坂 純 他	成文堂 2002年4月
法 学 民法IV 債権各論	長坂 純 他	青林書院 2002年12月

平成14年度
帯広畜産大学大学院畜産学研究科
修士学位論文題目

畜産管理学専攻

1. ウシの卵子の細胞質内精子注入法(ICSI)における最適活性化処理法に関する研究
(松浦淳子, 家畜育種増殖学)
2. 単一限定培地を用いた個別培養システムによるウシ胚の体外生産に関する研究
(小山田隆博, 家畜育種増殖学)
3. 乳用牛における在群期間を用いた生涯生産性の遺伝的改良に関する研究
(藤田千賀子, 家畜育種増殖学)
4. ウシとクジラ胎子卵巣内における前胞状卵胞数とホルモン濃度の変化に関する研究
(村西由紀, 家畜育種増殖学)
5. *In vitro* ルーメンメタン生成及び亜硝酸塩・硝酸塩還元に及ぼすマニピュレータの影響
(蒲生夕子, 家畜生産機能学)
6. 正規化変換に基づく超幾何分布の近似と畜産データに対する応用
(大内田征二, 畜産経営管理学)
7. 多項母集団に対するブートストラップ検定と農業データへの応用
(藤井 宏, 畜産経営管理学)
8. 消費者ニーズからみた十勝産牛肉の安全性と信頼確保の取り組みに関する経済的評価
(吉田滋範, 畜産資源経済学)

畜産環境科学専攻

1. Epiphyteとしての *Verticillium lecanii* と生物防除への利用
(東尾俊基, 作物科学)
2. 小麦粉色相に関与する遺伝的および環境的要因の解析
(藤田由美子, 作物科学)
3. アズキ、ダイズおよびインゲンマメの種子の大きさと出芽および初期生育との関係
(何 寧, 作物科学)
4. 鮎沼西岸における微地形及び水位と植生の関係
(山岸 裕, 草地学)

The 2002 Academic Year
Index of Master's Theses for
the Graduate School of Obihiro
University of Agriculture and
Veterinary Medicine

**Master's Course of Animal Production
and Agricultural Economics**

2. Studies on In Vitro Production of Bovine Embryos by Individual Culture Systems Using a Chemically Defined Medium
(Takahiro OYAMADA, Animal Genetics and Reproduction)
3. STUDY ON GENETIC IMPROVEMENT FOR LIFETIME PRODUCTION BY HERDLIFE IN DAIRY CATTLE
(Chikako FUJITA, Animal Genetics and Reproduction)
4. Changes in the Number of Preantral Follicles and Hormone Concentrations in the Bovine and Whale Fetal Ovary
(Yuki MURANISHI, Animal Genetics and Reproduction)
5. Effects of manipulators on rumen methanogenesis and nitrate/nitrite reduction *in vitro*
(Yuko GAMO, Animal Metabolism and Physiology)
6. Approximation of a Certain Hypergeometric Distributions Based on a Normalizing Transformation and Its Application to Livestock Data
(Seiji OUTIDA,
7. On Bootstrap Tests for Multinomial Data With Applications to Agriculture
(Hiroshi FUJII,
8. An Economic Evaluation of a Beef Safety and Reliability Program on the Basis of Consumer Preference: A Case Study of Beef Produced in Tokachi Area
(Shigenori YOSHIDA,
Agricultural Policy and Resource Economics)

Master's Course of Agro-Environmental Science

1. *Verticillium lecanii* as epiphyte and application to Biological Control
(Toshiki HIGASHIO, Crop Science)
2. Studies on Genetic and Environmental Factors Associated with Flour Color in Wheat
(Yumiko FUJITA, Crop Science)
3. Relationships of seed size to emergence time and primary growth of azuki bean, soybean and kidney bean
(Ning HE, Crop Science)
4. Study on the Relationship between Vegetation Type and Water Level at West Coast of Kabuto-numa
(Yutaka YAMAGISHI, Grassland Science)

5. 法面におけるヤブマメ (*Amphicarpa edgeworthii* Benth.) 群落の成立とヤブマメの緑化資源としての可能性
(鈴木綾子, 草地学)
6. ヨシ属 特にヨシ (*Phragmites australis* (Cav.) Trin.) およびツルヨシ (*Phragmites japonica* Steud.) を用いた 水域緑化に関する研究
(田崎冬記, 草地学)
7. イネ属植物における物理的ストレスに対する補償性の 遺伝的解析
(渡邊 明, 草地学)
8. 北海道十勝地方の十勝川と札内川におけるイカルチドリ *Charadrius placidus* とコチドリ *Charadrius dubius* の分布と営巣地選択
(奥山美和, 生態系保護学)
9. 水辺性鳥類群集と生息地特性の関係
(佐藤真人, 生態系保護学)
10. 道路沿いのエゾシカと事故数との関係
—北海道十勝管内の国道273号を例として—
(野呂美紗子, 生態系保護学)
11. ポリビア東部平原地域, オキナワ移住地における土壤の 諸特性に関する研究
(高田裕介, 土地資源利用学)
12. 食用ユリ根の品質向上における有機資材の施用効果
(野村博之, 土地資源利用学)
13. メタン発酵スラリーの土壤還元に伴う土壤理化学性の変化 および窒素の有機化・無機化に関する研究
(八木哲生, 土地資源利用学)
14. 北海道十勝における酪農への自然エネルギー導入に関する 研究
(木場奈美, 生物生産システム工学)
15. 三次元視覚センサによる作物列自動追従システムの開発に 関する基礎的研究
(佐藤栄基, 生物生産システム工学)
16. 精密農法のための牧草収量センシングシステムの開発
(塚本隆行, 生物生産システム工学)
17. 水産廃棄物の添加が乳牛ふん尿の嫌気性処理に及ぼす影響 に関する研究
(藤井 章, 生物生産システム工学)
5. Studies on *Amphicarpa edgeworthii* Benth. The Causes of Dominance over Slopes and Evaluation as Revegetative Resource
(Ayako SUZUKI, Grassland Science)
6. Study of Waterfront Revegetation Using *Phragmites* Genus, Especially *Phragmites australis* (Cav.) Trin. and *Phragmites japonica* Steud
(Fuyuki TAZAKI, Grassland Science)
7. Genetic analysis of compensation for physical stress in rice
(Akira WATANABE, Grassland Science)
8. Distribution and nest-site selection of Long-billed Plover *Charadrius placidus* and Little Ringed Plover *Charadrius dubius* in Tokachi River and Satsunai River, Hokkaido, Japan
(Miwa OKUYAMA,
Preservation and Management of Ecosystems)
9. Relationships between Waterbird Communities and the Habitat Characteristics
(Masato SATOU,
Preservation and Management of Ecosystems)
10. The relationship between Sika Deer (*Cervus nippon yesoensis*) along the road and their mortality -A case study of Route 273 in Tokachi district, Hokkaido-
(Misako NORO,
Preservation and Management of Ecosystems)
11. The Studies of Soil Properties at Okinawa Colony, The Low Land Zone of East Bolivia
(Yusuke TAKATA, Land Resource Science and Engineering)
12. Effect of organic amendment materials on improving the quality of edible lily bulb
(Hiroyuki NOMURA, Land Resource Science and Engineering)
13. Study on Change of Soil Chemical Properties and Nitrogen Immobilization-Mineralisation after Application of Methanogenesis Slurry
(Tetsuo YAGI, Land Resource Science and Engineering)
14. Introduction of Natural Energy to Dairy Farming in Tokachi Area, Hokkaido Japan
(Nami KOBA,
Engineering in Agricultural and Biological Systems)
15. Basic Studies on the Development of Row-following Control System Using Three-D Vision Sensor
(Hideki SATO,
Engineering in Agricultural and Biological Systems)
16. Site-specific yield sensor for forage
(Takayuki TSUKAMOTO,
Engineering in Agricultural and Biological Systems)
17. Study on Anaerobic Digestion of Dairy Manure Slurry and Marine Annual Product
(Akira FUJII,
Engineering in Agricultural and Biological Systems)

18. ソーラボンド型メタン発酵家畜ふん尿処理バッグに関する基礎実験
(見世竜慈, 生物生産システム工学)
19. 農業用トラクタの座席振動に関する研究
(箕浦邦雄, 生物生産システム工学)
20. 精密農法に関する研究 -土壤条件と収量特性-
(山田千絵, 生物生産システム工学)
21. 集約放牧に関する研究
(达布希拉图, 生物生産システム工学)
18. The Basic Test on Anaerobic Solar Bag of Dairy Manure Slurry
(Ryuji MISE,
Engineering in Agricultural and Biological Systems)
19. FARM TRACTOR SEAT VIBRATION
(Kunio MINOURA,
Engineering in Agricultural and Biological Systems)
20. The research for Precision farming
-soil hardness and yield property-
(Chie YAMADA,
Engineering in Agricultural and Biological Systems)
21. STUDY ON THE INTENSIVE GRAZING
(DABU XILATU,
Engineering in Agricultural and Biological Systems)

生物資源化学専攻

1. 木炭を利用した古代農業技術の化学的復元に関する研究
(明石憲宗, 応用生命科学)
2. 原始古代生活環境の化学的復元に関する研究
-特に土器, 土壌に残存する脂質からの用途の解明-
(門 利恵, 応用生命科学)
3. クロレラ, エゾウコギがマウスのダイオキシン類糞中排泄
及び肝臓分布に与える影響
(竹腰英夫, 応用生命科学)
4. プロトカテキュー酸投与によるラットのコレステロール
代謝に及ぼす影響
(田村暁子, 応用生命科学)
5. 酢酸菌における膜脂質の機能に関する分子生物学的研究
(山根衣佳, 応用生命科学)
6. 低温性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia nivalis* が產生する低温
適応性ポリガラクトロナーゼアイソザイムに関する研究
(池浦真奈美, 応用分子生物学)
7. ニンジン体細胞胚形成における細胞周期制御因子のはたらき
(大津恵美子, 応用分子生物学)
8. 酵素反応を利用した光アフィニティ-ビオチン化タンパク質
効率的解析法の検討
(岡本隼史, 応用分子生物学)
9. 浸透圧耐性根粒菌の分子育種
(久保田 俊, 応用分子生物学)
10. グリシンベタインの根粒形成促進機構の解明とその利用
について
(清水香織, 応用分子生物学)

Master's Course of Bioresource Chemistry

1. Establishment for Chemical Reconstruction of Ancient Agricultural Technique by Using Charcoal
(Norimune AKASHI, Applied Life Science)
2. Studies on the chemical reconstruction of ancient human environments -Identifying the uses of pottery and pit-grave by the analysis of remaining lipids-
(Rie KADO, Applied Life Science)
3. Effect of Chlorella and Ezoukogi on Fecal excretion and Liver distribution of Polychlorinated Dibenz-p-dioxins in Mice
(Hideo TAKEKOSHI, Applied Life Science)
4. The Influence of Protocatechuic Acid on Cholesterol Metabolism in Rats
(Akiko TAMURA, Applied Life Science)
5. Molecular Biological Studies on Function of Membrane Lipids in *Acetobacter*
(Kinuka YAMANE, Applied Life Science)
6. Studies on Cold Adapted Polygalacturonase Isozymes from the Culture of Psychrotrophic Snow mold *Sclerotinia nivalis*
(Manami IKEURA, Applied Molecular Biology)
7. Analysis of Cell Cycle Regulation Factor at Carrot Somatic Embryogenesis
(Emiko OHTSU, Applied Molecular Biology)
8. Examination of Efficiency Analysis for Photoaffinity Biotinylated Protein with an Enzyme Reaction
(Shunnji OKAMOTO, Applied Molecular Biology)
9. The Construction of Osmotic Tolerant Rhizobia and The ability of Nodulation
(Shun KUBOTA, Applied Molecular Biology)
10. Role of Glycine Betaine on the Nodulation of Root Nodule Bacteria
(Kaori SHIMIZU, Applied Molecular Biology)

11. フキノール酸の生合成に関する研究
(波佐康弘, 応用分子生物学)
12. エゾムチゴケ (*Bazzania trilobata* 培養細胞中のテルペノイド類の化学分析と生合成に関する研究)
(古田尚二, 応用分子生物学)
13. 貯蔵馬鈴薯のチップカラーに及ぼす堆積荷重の影響
(入宇田丈弥, 生物資源利用学)
14. 好冷性雪腐菌核病菌 *Sclerotinia borealis* の产生するポリガラクトロナーゼの低温適応機構に関する研究
(高橋裕司, 応用分子生物学)
11. Study on Biosynthesis of Fukinolic Acid
(Yasuhiro HASA, Applied Molecular Biology)
12. Analysis and Biosynthetic Study on Terpenoids from Cultured Cells of Liverwort *Bazzania trilobata*
(Naoji FURUTA, Applied Molecular Biology)
13. Effect of static loads on chip color quality of potato tubers during storage
(Takehiro IRIUDA, Food Science and Technology)
14. Study on Cold-adaptation Mechanism of the Polygalacturonase Produced by the Psychrophilic Snow-mold *Sclerotinia borealis*
(Yuji TAKAHASHI, Applied Molecular Biology)

**平成14年度岐阜大学大学院連合獣医学研究科
博士学位論文題目**

1. 頸管経由法における牛胚の受胎率向上に関する研究 山科秀也
2. Development of Serodiagnostic Methods for *Babesia equi* Infection 平田晴之
3. Molecular Characterization of Major Bioactive Molecules from the Hard Tick *Haemaphysalis longicornis* and Their Application for Novel Tick 俞詔朝
4. Studies on the Survival Response Mechanisms of *Salmonella* to NaCl Stress in Foods 朝倉宏
5. Amino Acid Polymorphisms of PrP Gene in Mongolian Sheep and Susceptibility of Transgenic Mice Expressing Chimeric PrP Genes to Sheep Scrapie GOMBOJAV, Altangerel
6. ヒメダニの生物活性物質に関する分子生物学的研究 門田君江
7. Studies on Flow Cytometric Assessment of Phagocytic Ability of Polymorphonuclear Leukocytes in Bovine Blood and Milk and Its Clinical Applications Ducusin, Rio John Toledo
8. Dorsolumbar Eqidural Anesthesia Induced by α_2 -adrenergic Agonists in Cattle 李仁炯

**平成 14 年度岩手大学大学院連合農学研究科
博士学位論文題目**

1. コムギの穂発芽に係る種子休眠性と酵素活性の変化、および二次加工適性劣化要因に関する研究 一ノ瀬 靖則
2. 単胚性テンサイにおける複胚珠果実の発現に関する育種学的研究 大潟直樹
3. コムギの製パン性改良に向けた種子貯蔵タンパク質に関する研究 高田兼則
4. Genetic, morphological, and virulence characterization of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* 杉本みどり
5. CHARACTERISTICS OF GROWTH HORMONE SECRETING MECHANISM OF GROWTH HORMONE-RELEASING PEPTIDE-2 (GHRP-2) IN SWINE NOU, Vonika
6. An Investigation on the Syntheses of Coatings and Adhesive Agents from Agricultural Products 佐波勇人
7. The Chemical Characterization and the Physiological Functions of the Oil in Evening Primrose (Wild Type) and Ratites as Unusual Bioresources 清水了

帯大研報
RES. BULL. OBIHIRO UNIV.

編集委員(*委員長)

石井利明 *宇塚雄次 加藤清明
関礼子 関川三男 手塚雅文
時岡裕純 柳川久

(五十音順)

平成15年8月29日 発行

編集発行 带広畜産大学
北海道帯広市稲田町西2線11番地

製作 中西印刷株式会社
札幌市東区東雁来3条1丁目1番34号
TEL (011) 781-7501
FAX (011) 781-7516

RESEARCH BULLETIN OF OBIHIRO UNIVERSITY

CONTENTS

Natural Science

Biochemistry

High sensitive colorimetric method for reducing sugar using ferric iron reagent not affected by the presence of high quantities of polysaccharide derivatives

- Manami IKEURA, Yoshitada NAMIKAWA, Yuji TAKAHASHI, 1
Keiko SAGISAKA, and Toshijide TAKASAWA

Biochemistry

Cold adaptation of polygalacturonase activity produced by bran culture of the psychrotrophic facultative snow mold *Sclerotinia trifoliorum*

- Tsuyoshi WATANABE, Izumi SAITO, and Toshihide TAKASAWA 7

Biochemistry

Cold adaptation of polygalacturonase activity produced by culture of the psychrophilic snow mold *Typhula ishikariensis*

- Akira TANAKA, Izumi SIRO, and Toshihide TAKASAWA 15

Humanities

Literature

Atsushi Nakajima、A Translator

- Hajime SAITO 27

A List of Academic Contribution In 2002 39

The 2002 Academic Year, Index of Master's Theses for the Graduate School of Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine 67

The 2002 Academic Year, Index of Dissertation for the United Graduate School of Veterinary Science, Gifu University 71

The 2002 Academic Year, Index of Dissertation for the United Graduate School of Agricultural Science, Iwate University 71