

第三章 ゴカツササゲ種子におけるジベレ リンの代謝

第一節 緒言

ジベレリンの生合成に関する研究は、カビ
については広く行われ、acetyl CoAから mevalonic
acid、geranyl geranyl pyrophosphate、ent-kaurene
、 C_{20} ジベレリンを経て、 C_{19} ジベレリンが生合
成されること51)~58)が明らかにされている。

高等植物におけるジベレリンの生合成もま
た本質的には、カビにおけるそれと一致して
いるといつてよい。Westらは、野性キュウリ(
Echinocystis macrocarpa)の未熟種子の胚乳組織から
のセルフリ-系を用いて、ATP、 Mn^{++} の存在
下で mevalonic acidを geranyl geranyl pyrophosphate を
経て ent-kaurene、ent-kaurenol、ent-kaurenal、
ent-kaurenoic acid、ent-7 α -hydroxy kaurenoic acid \uparrow
変換させることに成功した。59)~63) また、1972年、
Graebeらは野性ウリの一種、*Cucubita maxima* のセ

ルフリー系を用いて、 mevalonic acid を GA₁₂ テル
デヒドにまで導くことに成功した。⁶⁴⁾ 1973年、
彼らはさらに同じ系を用いて、 GA₁₂ テル
ドを GA₁₂、 GA₁₅、 GA₂₄、 GA₃₆、 GA₃₇ 等のジベ
レリン類にまで導いている。⁶⁵⁾

こうしたセルフリー系を用いた研究と平行
して、実際に植物体を用いた研究もまた行わ
れようとしている。 Durleyらは、ゴガツササゲ
未熟種子に [2-¹⁴C] mevalonic acid を吸収させ、投
与した放射能の 0.039%、 1.33% がそれぞれ種
子、サヤからの強酸性区にとりこまれている
ことを報告している。しかしながら、ジベレ
リンへの取り込みを確認するにはいたってい
ない。⁶⁶⁾

概して高等植物においては、標識化合物の
取り込みが低いこと、植物の生活環の長いこ
と、さらに、 mevalonic acid などを feed させた場
合、相当量が他のテルペンへ取り込まれるな
ど非常に困難な問題が生ずる。著者もまた、
アサガオ未熟種子に mevalonic acid を feed した

が、ジベレリンへの取り込みを確認するには
いたらなかった。

高等植物におけるジベレリン研究は、多くの
場合、植物の種子について行われている。
これは、実際の成長点におけるジベレリン含
量に比して未熟種子に含まれるジベレリン量
がきわめて多く、また、ジベレリンの生合成
能も盛んなこと、かつ、種子はその発芽から
生長、完熟を経て発芽に至る一つの生活環を
有している為で、種子の *development* や発芽現象
におけるジベレリンの挙動を明らかにすること
とは、実際の生長現象とジベレリンとの関連
を究明する上で重要な知見を与えるものと期
待される。事実、種子の *development* や発芽に対
応してジベレリン類が量的にも質的にも著し
い変化を示すことが明らかにされている。

1960年、SkeneおよびCarrは、ゴカツササゲ
種子の *development* とその中に含まれる酢酸エチ
ル可溶のジベレリン類との相関を調べ、種子
の生長現象と内生ジベレリンが密接な関係を

22)

有することを示した。また、平賀らはゴガツササゲ種子の芽生えを用いた実験で、酢酸エチル可溶性酸性区および同中性区、すなわち、遊離型ジベレリンおよび GA_4 、 GA_3 -グルコシ
5 ルエステルが発芽後急速に消失していき、一方、 n -ブタノール可溶性酸性区のジベレリン活
性が増大していくことを明らかにした。³⁹⁾

著者は、以上の実験的事実をふまえ、ジベレリン類の生合成的相関を追究し、種子の生
10 長過程をジベレリン的側面から動的に解明することを目的として、トリチウムで標識したジベレリンをゴガツササゲ種子に与え、種子の完熟、発芽過程におけるこれらの変化を追跡した。

15 また、さらに完熟過程において明らかにしえなかったジベレリン間の生合成的相関関係について知見を得るため、種子の胚生長期に相当する開花後10日前後の未熟種子についても同様の実験を行った。

本研究をはじめめる時点において、ゴガツサ

サゲ種子は、GA₁、GA₄、GA₅、GA₆、GA₈、GA₃₇、GA₃₈など種々の酸化段階の遊離型ジベレリンを含む他、GA₈グルコシドならびに4種のグルコシルエステル（GA₄、GA₃₇、GA₁、GA₃₈）などの配糖体^{27) 39)}を含有することが明らかにされており、ジベレリン間の生合成的相関を究明し、また、その配糖体の意義を考えるのにきわめて好適な材料と思われる。

第二節 ゴガツササゲ種子の完熟期におけるジベレリンの代謝

用いた標識化合物は、図3-1に示した通りである。これらのうち、GA₁、GA₄、GA₅、GA₈は、ゴガツササゲ種子における内生ジベレリンとして知られているものである。GA₂₀は、ゴガツササゲ種子にはその存在が確認されていないが、同属の紅花インゲン種子には含まれており、⁶⁷⁾紅花インゲン種子に含まれる

内生ジベレリンの挙動が、ゴガツササゲ種子⁶⁶⁾のそれと酷似していることから併せて用いた。4月下旬に播種されたゴガツササゲは、6月下旬に開花する。放射能活性なジベレリン類は、ミクロシリンジを用いて、開花後18日目の種子に接種された。

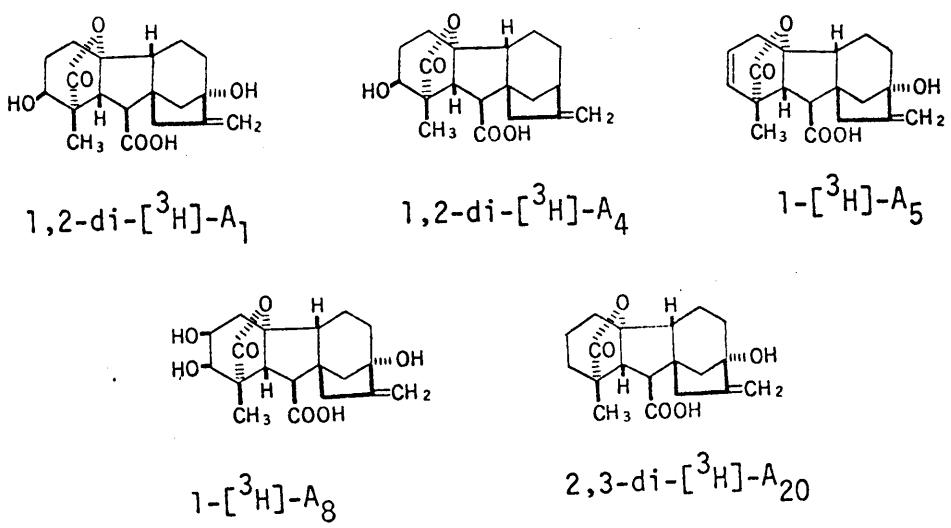


図3-1 本研究に用いた標識化合物

ジベレリン処理された種子は、2日目に一部を未熟種子のサンプルとして採取した後、残りはそのまま栽培を続け、完熟せしめる。収穫したサンプルはそれぞれメタノール抽出

した後、常法通り、酢酸エチル可溶酸性区 (AE)、同中性区 (NE)、 n -ブタノール可溶酸性区 (AB)、同中性区 (NB)、水層残渣 (Ag) に分画し、各分画の放射能活性を液体シンチレーションカウンターによって測定する。一般に、AE 区には遊離型ジベレリン類が、NE 区には GA₄ グルコシルエステル、GA₇ グルコシルエステルが、AB 区にはグルコシルエーテル類が、NB 区には GA₁ グルコシルエステル、GA₃₈ グルコシルエステルが分配される。

表 3-1 は、³H-GA₁、³H-GA₄、³H-GA₂₀ 処理した種子についての結果である。これらに共通していることは、完熟していくにしたがって、AE 区に分画される遊離型ジベレリンが減少し、AB 区および NB 区に分画される結合型ジベレリンが増大していくことで、特に、グルコシルエーテル類の増加は著しい。各分画は、Kiesel gel G を用いた TLC で展開後、ラジオクロマトグラムスキャナーを用いてラジオ

オクロマトグラムを作製すること、あるいは、10等分してかきとり液体シンチレーションカウンターで放射能を測定し、ヒストグラムを作製することによって投与したジベレリン類の変化を追跡した。また、場合によっては、ガスクロマトグラフイー、液体シンチレーションカウンターを接続した方法(以下、GC-R C法と略記)を適用した。これは、FIDによってその mass peaks を検出し、その結

	1,2-di- ³ H-GA ₁		1,2-di- ³ H-GA ₄		2,3-di- ³ H-GA ₂₀	
	Immature	Mature	Immature	Mature	Immature	Mature
Recovery						
yield	6.5	9.0	9.3	11.6	39.3	24.6
AE	75.1	10.9	50.5	31.8	64.7	33.1
NE	0.8	0.8	6.3	7.8	1.0	0.8
AB	13.3	66.7	12.6	45.7	30.7	45.7
NB	8.4	12.3	7.7	8.3	0.7	1.7
Aq.	2.4	9.3	22.9	6.3	2.9	19.4

表3-1 ³H-GA₁, ³H-GA₄, ³H-GA₂₀ 処理された種子における放射能の回収率ならびに各介画への分配状況(%)

果生じたトリチウム水を冷却したシンチレータでトラップし、その放射能を液体シンチレーションカウンターで測定するものである(68)

[G₁A₁の代謝]

図3-2は、³H-G₁A₁処理された未熟および完熟種子の各分画について作製したラジオクロマトグラムである。

未熟種子のA E 区の放射能は、大部分未変化の³H-G₁A₁に由来するが、微量の³H-G₁A₈も存在する。このことは、この分画のメチル化物のトリメチルシリルエーテルにGC-R_C法を適用することによって確認された(図3-3参照)。完熟種子においてもやはりA E 区の放射能は、大部分³H-G₁A₁に由来するが、³H-G₁A₈の相対的含量が若干増加している。

未熟種子のA B 区の放射能の大半は未知物質に由来するが、TLC上でG₁A₈グルコシドに相当する区分にも放射能活性がみられる。

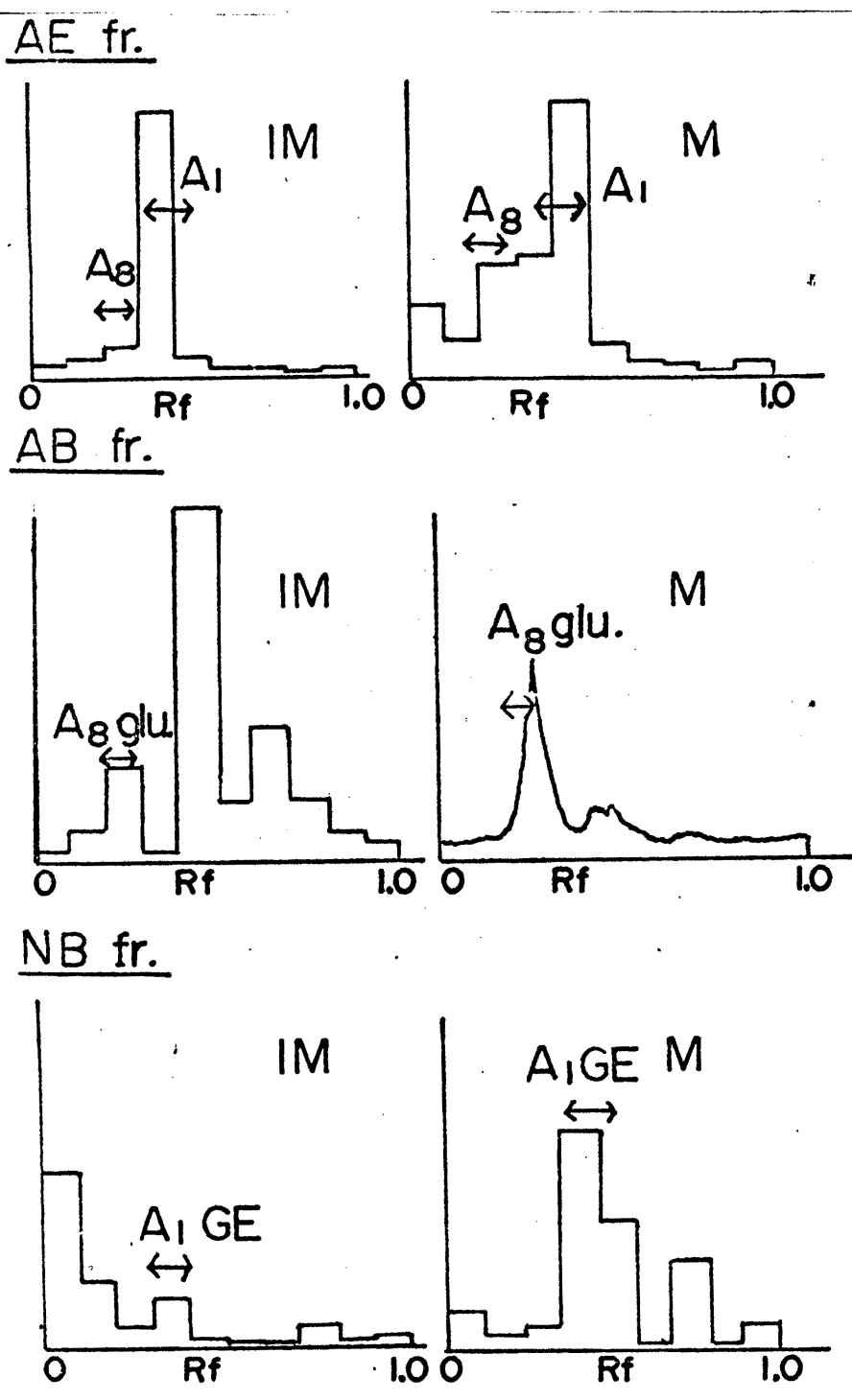


図 3-2. 3H -GA₁処理された未熟(IM)、完熟(M)種子に由来する各成分のラジオクロマトグラム。TLCの条件は、実験の部に述べる通りである。glu.: グルコシド, GE: グルコジエステリ。

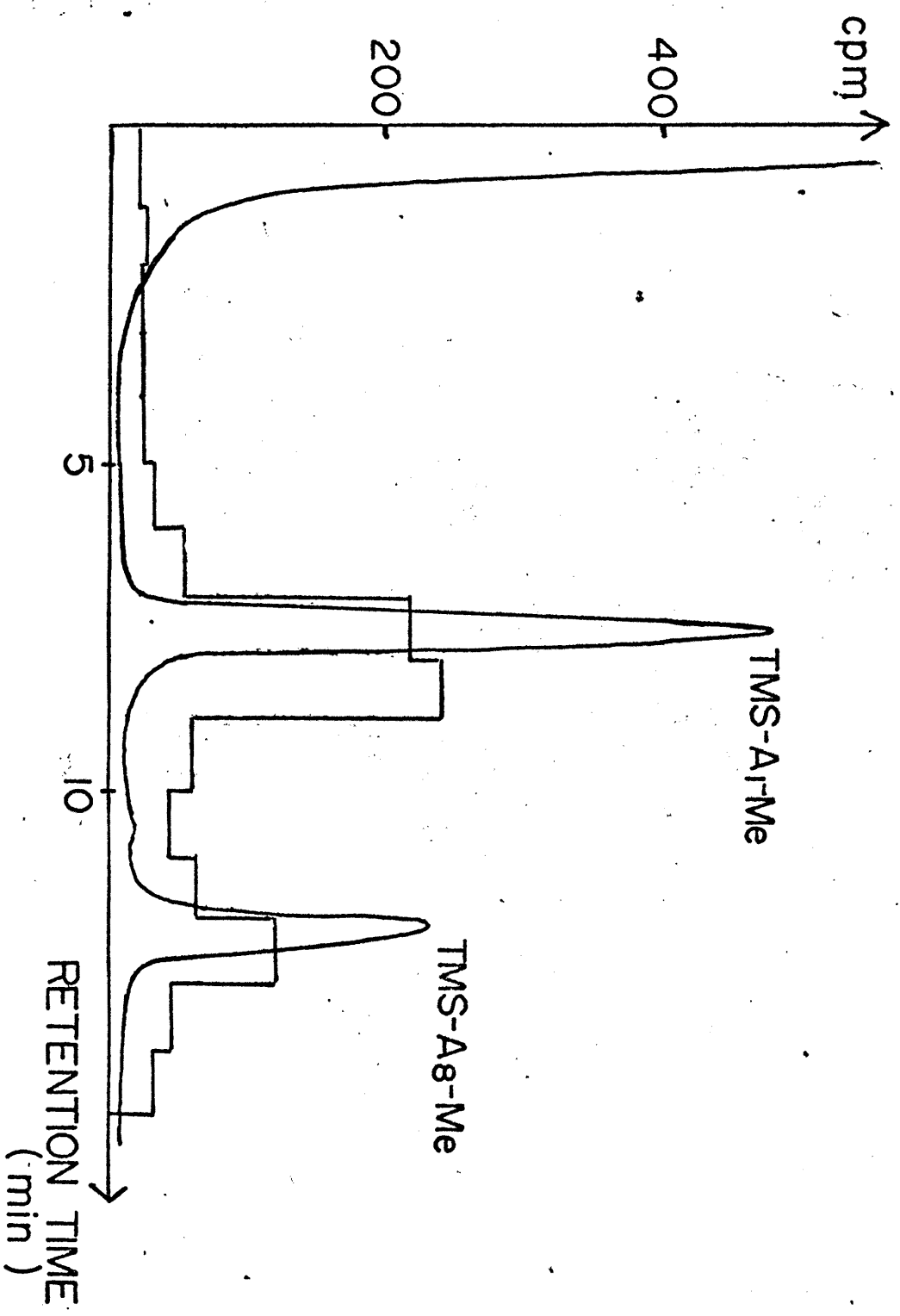


図 3-3

^3H -GA1 処理された未熟種子由来の A/E 区 の GC-RC experiment (^3H -FILIX FILON トリキリ エーテル (7))。GC の条件は実験の部に述べた通り。Mass number 標品の retention time を表した (71)。

この区分は、セルラーゼ加水分解によりアグリコンとして $^3\text{H-GA}_1$ 、 $^3\text{H-GA}_8$ を与えるので、この分画には $^3\text{H-GA}_1$ グルコシド⁶⁹⁾、 $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドが含まれていると考えられる。

5 完熟種子のAB区においては、未知物質の放射能活性は相対的に小さくなり、 $^3\text{H-GA}_1$ グルコシド、 $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドのそれぞれが増大している。 $^3\text{H-GA}_1$ グルコシド、 $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドはラジオクロマトグラム上では分離したピークとして観測されないうが、二重展開によるTLCで分離可能で、その量比は未熟種子で1:1、完熟種子で1:2であった。

15 NB区には、 GA_1 グルコシルエステルが分配される。未熟種子のNB区にすでに少量の $^3\text{H-GA}_1$ グルコシルエステルの存在がみとめられるが、完熟種子のNB区におけるその存在は明らかである。 $^3\text{H-GA}_1$ グルコシルエステルの同定は、ペンタアセテートに導き、表3-2に示すように、稀釈法によって行った。

Sample	Total weight (mg)	Spec. radioactivity (cpm/mg)
Original mixture	17.0	423
First crystals	15.3	413
Second crystals	11.9	415
Third crystals	7.8	427

表 3-2 $^3\text{H-GA}_1$ グルコシルエステルの稀釈法による同定 (ペンタアセテートとして)

[GA_4 の代謝]

図 3-4 は、 $^3\text{H-GA}_4$ 処理された種子の各分画についてのラジオクロマトグラムである。 $^3\text{H-GA}_4$ が速かに $^3\text{H-GA}_1$ に転換され、以下 $^3\text{H-GA}_1$ と同様の代謝経路をたどることが確認される。

NE 区には、 $^3\text{H-GA}_4$ グルコシルエステルの存在が期待される。今回の実験において、NE 区に微量の $^3\text{H-GA}_4$ グルコシルエステルの存在がみとめられたが、NE 区の放射能の大半は未知物質に由来した。平賀らはゴガツササゲ完熟種子 (100 kg) より、 GA_4 グルコシルエステル、 GA_{37} グルコシルエステルを混合物として 24 mg、 GA_1 グルコシルエステルを 35 mg、

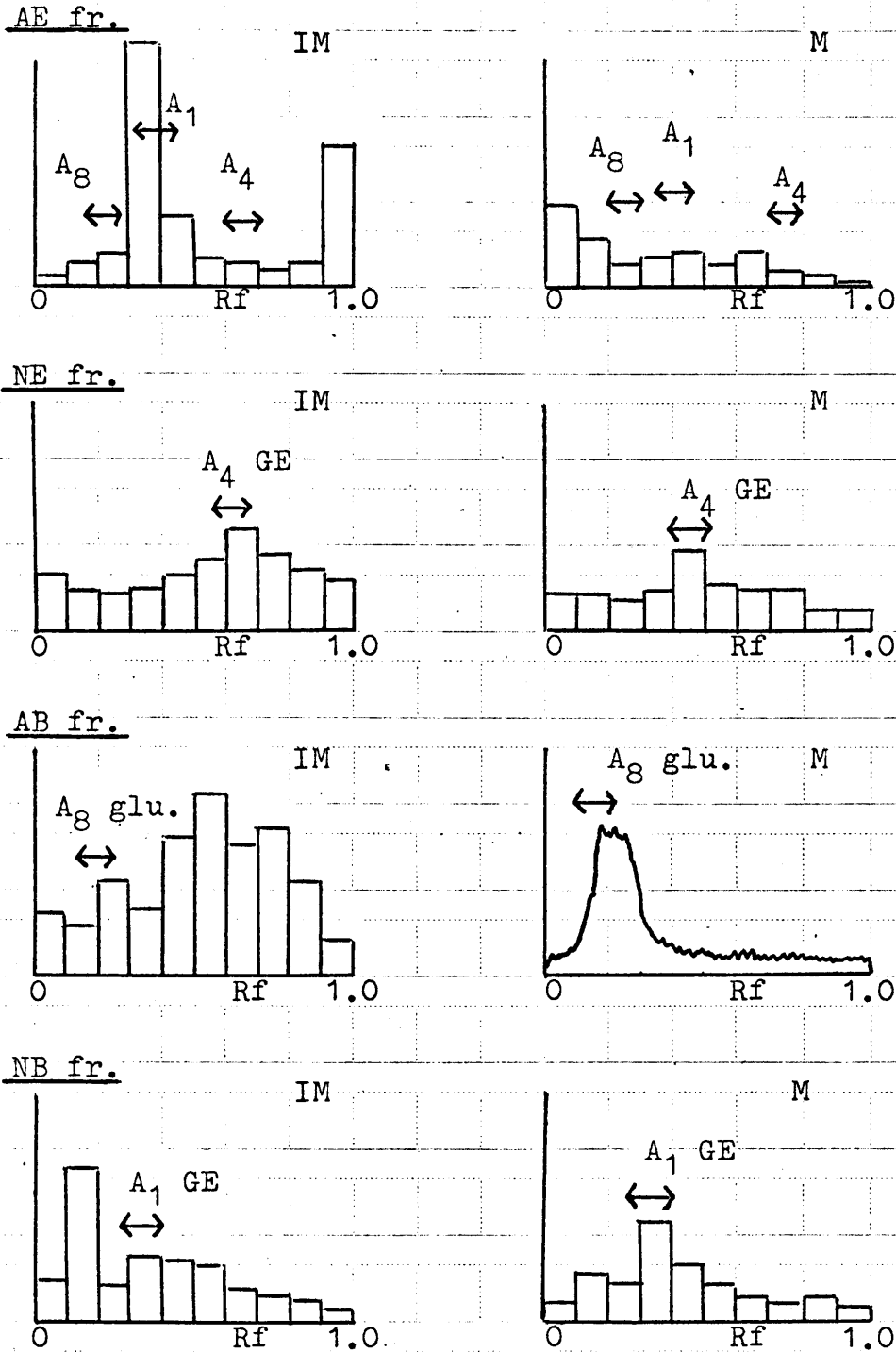


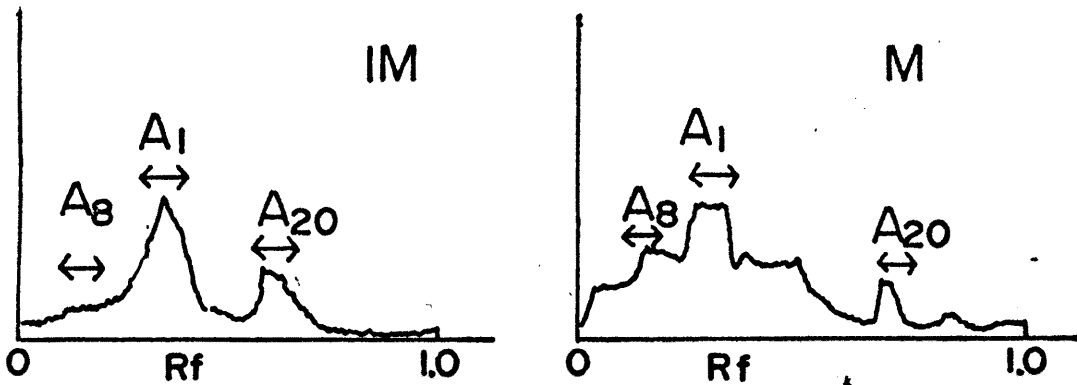
図3-4 ^3H -GA4処理された未熟(IM)、完熟(M)種子に由来する各
 介画のラジオクロマトグラム。TLCの条件は図3-2に同じである
 がNE区は、AE区に用いた溶媒系で展開しその原点部を CHCl_3 -
 MeOH (3:1)で再展開したもの。glu.: グルコシド、GE: グル
 コシリエステル。

G A₃₈ グルコシルエステルを 52 mg 単離しているが、今回の feeding experiment における ³H-G A₄ グルコシルエステルへの取り込み率は、完熟種子中の G A₄ グルコシルエステルと G A₁ グルコシルエステルの存在比にくらべ著しく低い。これは、³H-G A₄ の ³H-G A₁ への転換が非常に速いこと、あるいは、G A₄ グルコシルエステルがきわめて制御された機構で生合成されていることを示すものであろう。この実験的事実は、発芽後、急速に NE 区のジベレリン活性が消失していく現象³⁹⁾とともに、NE 区のジベレリン類の発芽生理における役割を考える上で興味深い。

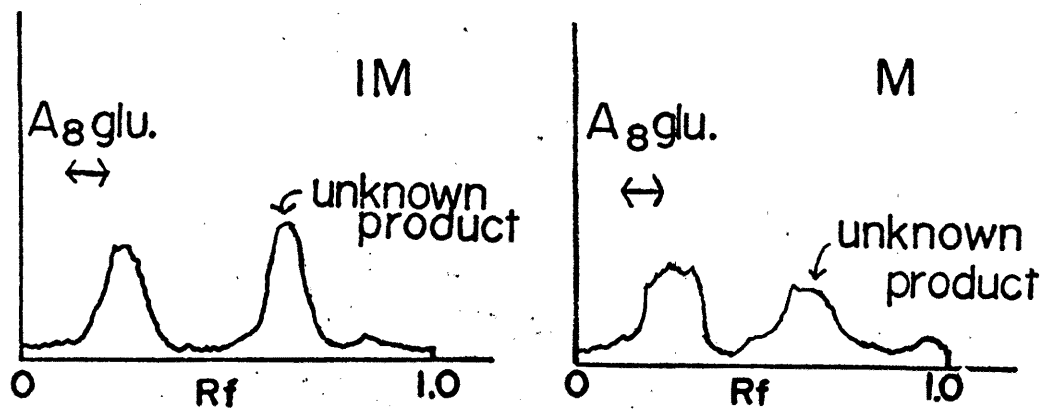
[G A₂₀ の代謝]

図 3-5 から明らかなように、³H-G A₂₀ もまた ³H-G A₁ に転換され、以下 ³H-G A₁ と同様の代謝を受ける。未熟種子の AE 区に含まれていた ³H-G A₁ は、介取 TLC で精製した後、メチルエステルに誘導し、稀釈法によって同定し

AE fr.



AB fr.



NB fr.

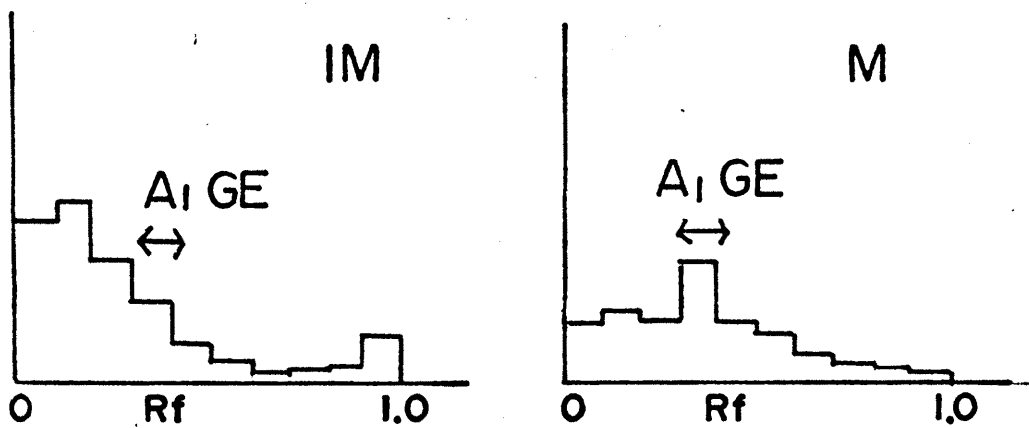


図 3-5 $^3\text{H-GA}_{20}$ 処理された未熟 (IM)、完熟 (M) 種子に由来する各分画のラジオクロマトグラム。TLC の条件は図 3-2 に同じである。glu.: グルコシド, GE: グルコシルエステル。

た(表3-3参照)。

完熟種子のAB区は、セルラーゼ加水分解により、 $^3\text{H-GA}_1$ 、 $^3\text{H-GA}_8$ の他、少量の $^3\text{H-GA}_{20}$ を与え、したがって、 $^3\text{H-GA}_1$ グルコシド、 $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドとともに少量の $^3\text{H-GA}_{20}$ グルコシドが存在すると考えられる。

Sample	Total weight (mg)	Spec. radioactivity (cpm/mg)
Original mixture	19.2	8789
First crystals	16.0	8884
Second crystals	12.4	8970
Third crystals	9.3	8761

表3-3 $^3\text{H-GA}_1$ の稀釈法による同定(メチルエステルとして)

[GA₅の代謝]

表3-4は、 $^3\text{H-GA}_5$ 、 $^3\text{H-GA}_8$ 処理された種子についての結果である。 $^3\text{H-GA}_5$ 処理の場合、 $^3\text{H-GA}_1$ 、 $^3\text{H-GA}_4$ 、 $^3\text{H-GA}_{20}$ の場合と異なり、完熟種子においてもAE区およびAB区に分配される放射能の割合にそれほど顕著な差がみ

られたい。

	$1-^3\text{H-GA}_5$		$1-^3\text{H-GA}_8$	
	Immature	Mature	Immature	Mature
Recovery yield	8.8	9.8	83.6	3.5
AE	46.4	49.3	70.8	31.6
NE	0.9	2.7	2.4	1.2
AB	43.0	42.6	17.9	55.4
NB	1.4	3.7	4.0	3.3
Aq.	8.3	9.8	4.9	8.5

表 3-4 $^3\text{H-GA}_5$ 、 $^3\text{H-GA}_8$ 処理された種子における放射能の回収率ならびに各分画への分配状況 (%)

図 3-6 は、 $^3\text{H-GA}_5$ 処理された種子に由来する各分画のラジオクロマトグラムである。未熟および完熟種子の AE 区の放射能は、 $^3\text{H-GA}_8$ と少量の未変化の $^3\text{H-GA}_5$ に由来する。未熟種子由来の AE 区の $^3\text{H-GA}_8$ の同定は、表 3-5 に示すように稀釈法によって行った。

AB 区の放射能は、大部分、 $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドに由来するが、完熟種子では、 $^3\text{H-GA}_5$ グ

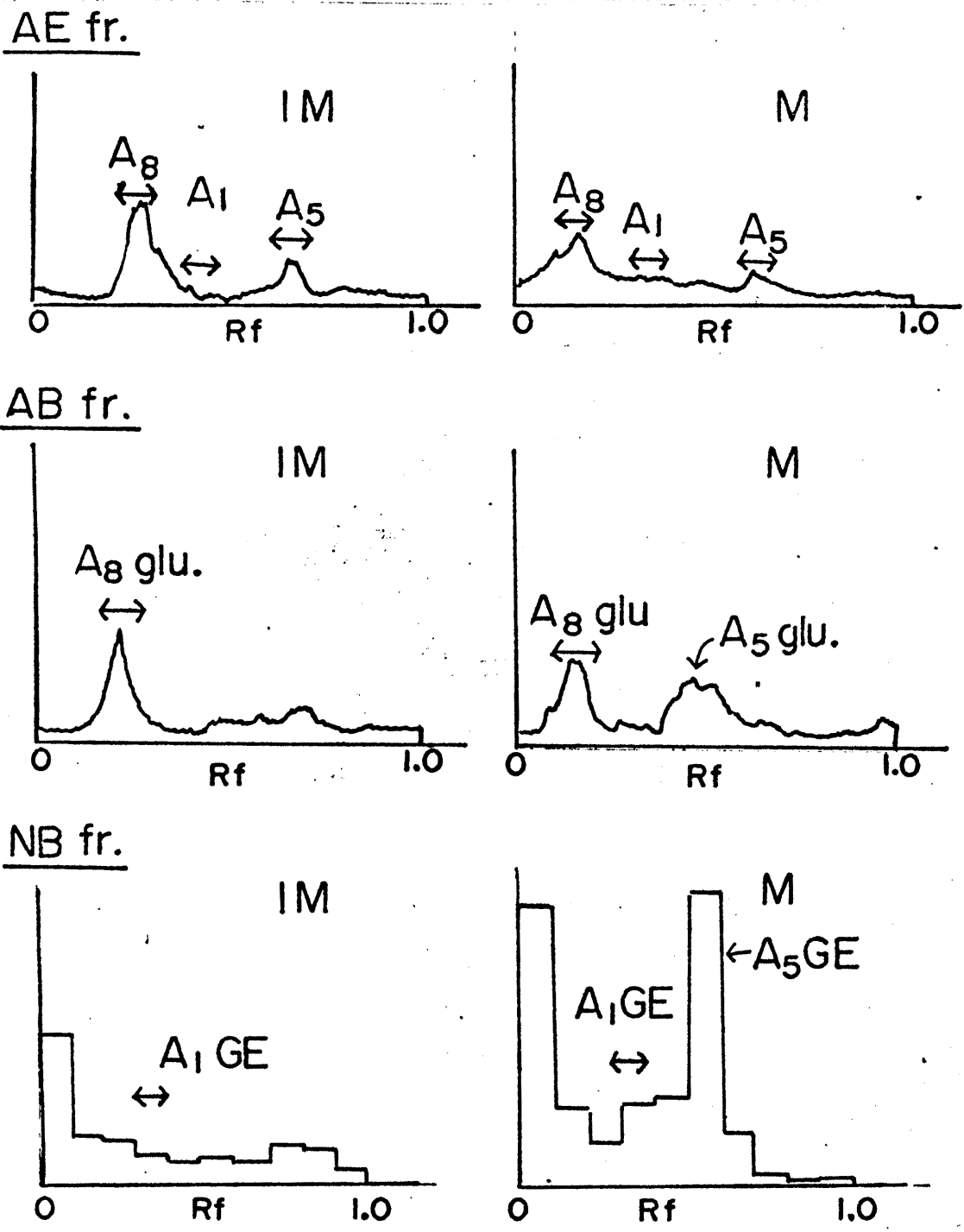


図 3-6 ^3H -GA₅ 処理された未熟 (IM)、完熟 (M) 種子に由来する各分画のラジオクロマトグラム。TLC の条件は図 3-2 に同じである。glu.: グルコシド, GE: グルコシルエステル。

Sample	Total weight (mg)	Spec. radioactivity (cpm/mg)
Original mixture	3.5	2681
First crystals	3.2	2756
Second crystals	2.7	2667
Third crystals	1.7	2659

表 3-5 $^3\text{H-GA}_8$ の稀釈法による同定

ルコシドの生成が認められる。また、完熟種子のNB区には、 $^3\text{H-GA}_5$ グルコシルエステルが存在することが推定された。 $^3\text{H-GA}_5$ グルコシドおよび $^3\text{H-GA}_5$ グルコシルエステルの最終的な同定は、標品が得られなため行われていないが、完熟種子のAB区およびNB区をそれぞれ、セルラーゼ、アルカリ加水分解した場合に $^3\text{H-GA}_5$ が得られることは、以上に述べたことを支持するものであろう。

尚、構造的関連を考える場合、 GA_5 から GA_8 への転換過程で、 GA_6 がその中間体となっている可能性が考えられる。実際、Sembdnerらは、紅花インゲン種子を用いた feeding experiment で、 $^3\text{H-GA}_6$ が $^3\text{H-GA}_8$ および $^3\text{H-GA}_8$ グルコシド

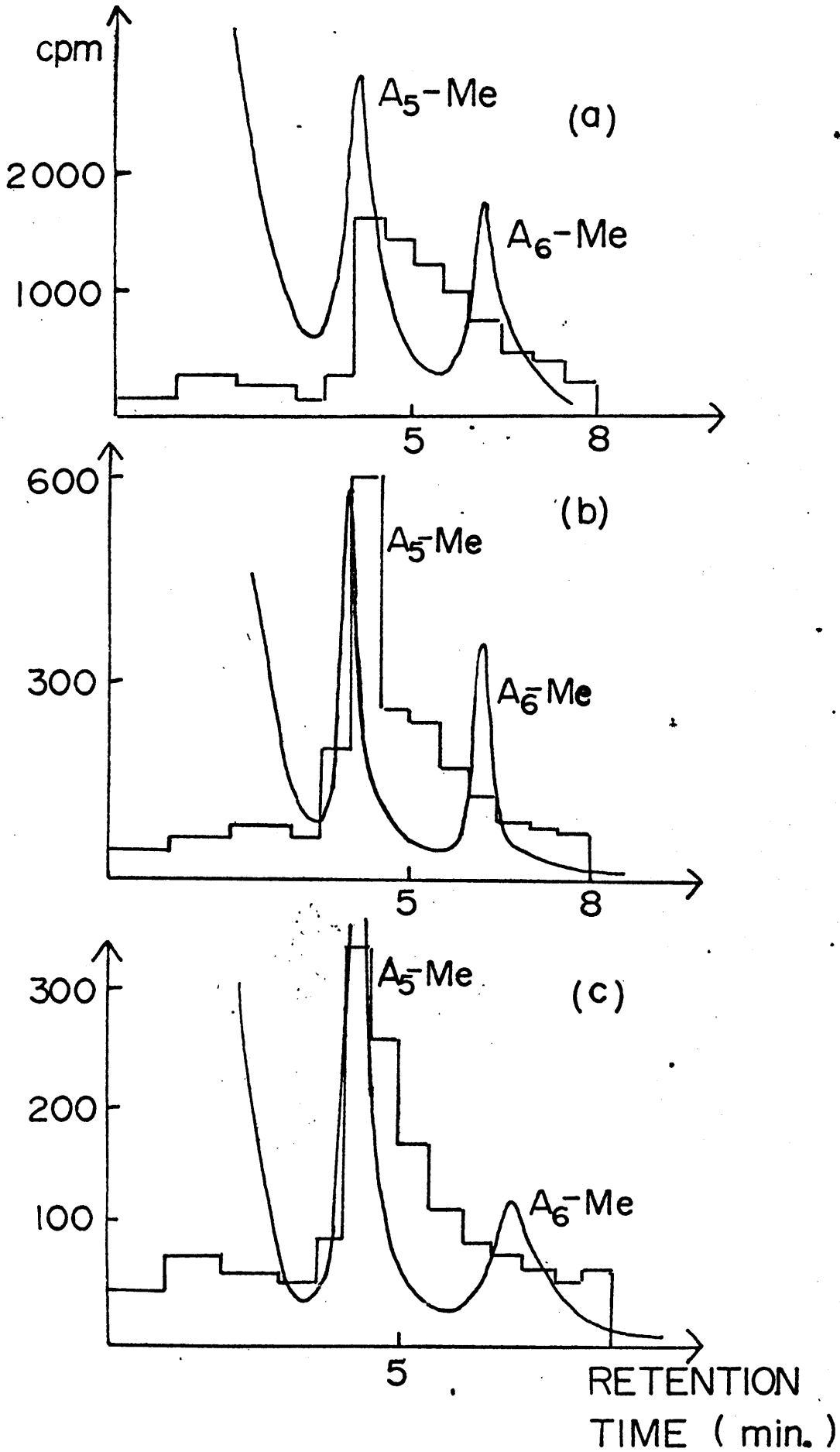


図 3-7 ³H-GA₅ 処理された完熟種子由来の (a) AE 区 (b) NB 区のアトリコン (c) AB 区のアトリコンの GC-RC experiment (メチルエステルとして)。GC の条件は実験の部に述べた通りで。Mass peaks は、標品の retention time をあわせている。

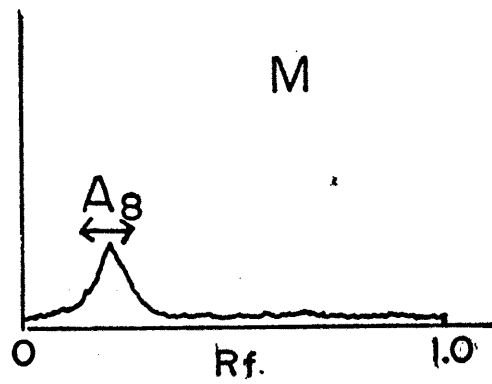
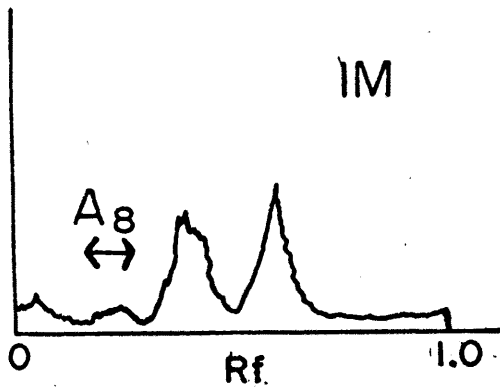
(20×20)

に転換されたことを報告している。⁷⁰⁾ $G A_5$ と $G A_6$ は TLC上で分離が困難なので、 $^3H-G A_5$ 処理の完熟種子に由来する AE 区に含まれる $^3H-G A_5$ 区分、および、 $^3H-G A_5$ グルコシド、 $^3H-G A_5$ グルコシルエステルのアグリコン区分をそれぞれ分取 TLCで精製し、メチル化後、GC-RC法で分析を行った。しかしながら、図 3-7に示されるように、いずれの場合も検出可能な量の $^3H-G A_6$ の存在は認められなかった。¹⁰⁾ $G A_5$ から $G A_8$ への転換が $G A_6$ を経由するものかどうかについては、今後更に検討する必要がある。

[$G A_8$ の代謝]

¹⁵⁾ $^3H-G A_8$ 処理された種子の場合、図 3-8 からも明らかのように、未熟種子中に大量の未知物質の生成しているのが観察される。しかし、完熟種子においては、AE 区に $^3H-G A_8$ 、AB 区に $^3H-G A_8$ グルコシドの存在が認められたにすぎない。したがって、未熟種子中に生成

AE fr.



AB fr.

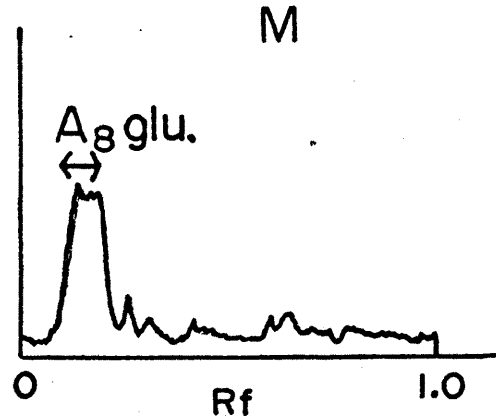
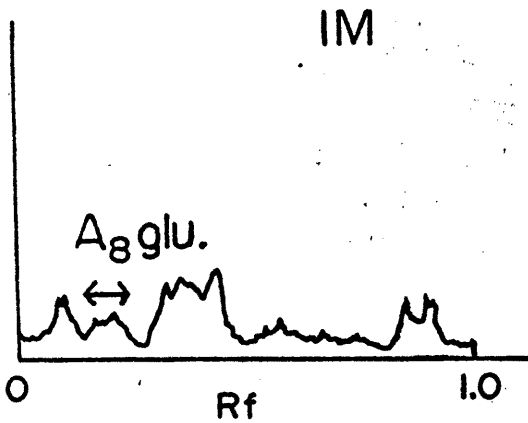


図 3-8 ^3H -G A₈ 処理された未熟 (IM)、完
 熟 (M) 種子に由来する各成分の
 ラジオクロマトグラム。TLCの
 条件は図 3-2 に同じである。
 glu.: グルコシド。

した未知物質は代謝異常によるものであり、
完熟種子における放射能の回収率の低さは、
これら異常代謝産物が系外に排せつされたこ
とを意味するものと考えられる。

5
以上の実験的事実は、ゴカツササゲ種子に
おけるジベレリンの代謝経路に少なくとも二
つの系統があることを推測させる。すなわち
、 $^3\text{H-GA}_1$ 、 $^3\text{H-GA}_4$ 、 $^3\text{H-GA}_{20}$ 処理された種子で
10
は、生成した $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドの量に比して
遊離型の $^3\text{H-GA}_8$ がきわめて少なく、一方、 $^3\text{H-}$
 GA_5 処理された種子では完熟種子においてさ
え $^3\text{H-GA}_8$ の存在量が他の場合とくらべてきわめ
て大きい。このことは、 $^3\text{H-GA}_1$ から $^3\text{H-GA}_8$ グ
15
ルコシドへの転換が、中間体 $^3\text{H-GA}_8$ を酵素表
面からはなすことなく起っているのに対し、
 $^3\text{H-GA}_5$ から $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドへの転換が、中
間体 $^3\text{H-GA}_8$ の酵素表面からの遊離を含む過程
で起っていることを推定させるものである。
以上に述べたジベレリンの代謝経路をまとめ

たものが図3-9である。

ここで、天然にその存在が確認されていない³H-GA₁グルコシド、³H-GA₅グルコシド、³H-GA₂₀グルコシド、³H-GA₅グルコシルエステルなどの存在が認められたが、これは、一時に大量のサンプルを与えたこと、および、グルコシル化、グルコシルエステル生成酵素の基質非特異性によると考えられる。

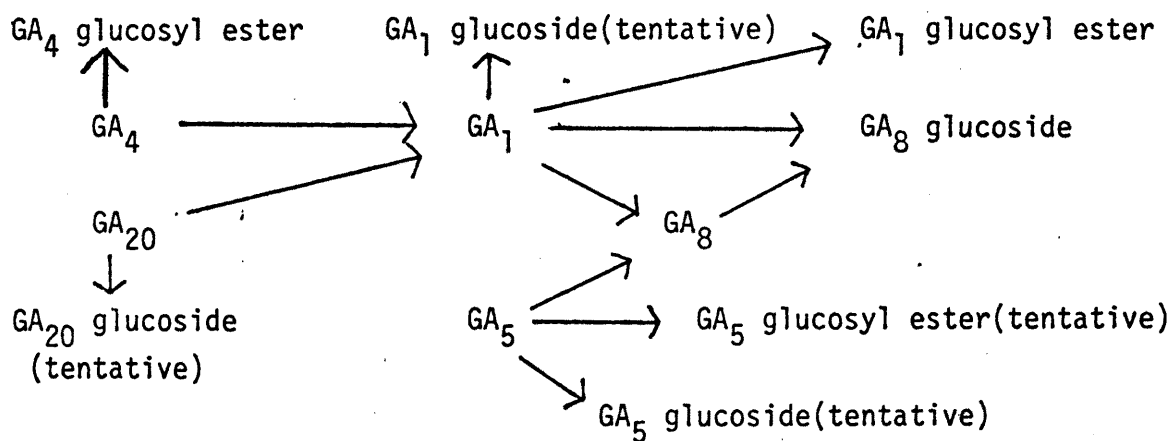


図3-9 ゴカツササゲ種子における³H-GAsの代謝経路

第三節 発芽時における内生ジベレリンの挙動

第二節において述べたように、 $^3\text{H-GA}_1$ 処理した後完熟せしめた種子には、天然に存在する中性ジベレリンの一種、 $^3\text{H-GA}_1$ グルコシルエステルの存在が認められた。そこで、この種子を用い発芽時におけるジベレリンの挙動を $^3\text{H-GA}_1$ グルコシルエステルのそれを含めて追跡した。

完熟種子は、一晚、流水中に浸漬した後、海砂上に蒔き、 25°C 、暗黒下で発芽させ、播種後1日目および6日目に採取した。こうして得られた芽生えは、それぞれメタール抽出した後、常法通り分画を行った。表3-6に各分画に分配された放射能の百分率を示したが、発芽後、AE区の放射能活性が急速に減少し、AB区のそれが漸増している。

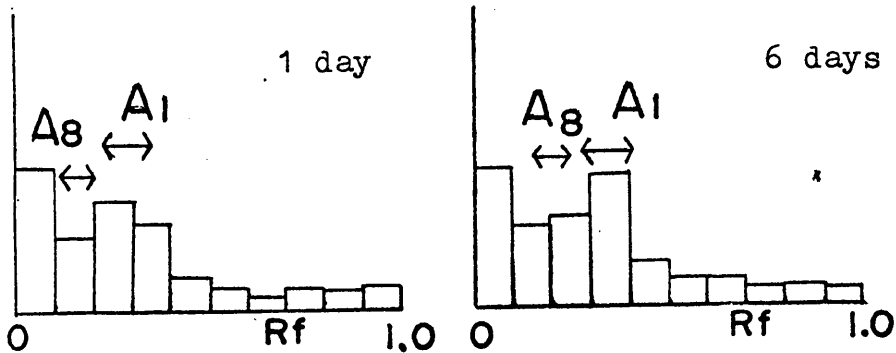
図3-10から明らかのように、芽生えにおいてAE区に含まれる主なジベレリンは $^3\text{H-GA}_1$

であり、AB区のもは $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドである。 $^3\text{H-GA}_1$ グルコシドの存在もみとめられるが、これは完熟種子中にすでに存在していたものに由来すると思われる。発芽後における $^3\text{H-GA}_1$ から $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドへの転換は、Nadeauらによる知見にもとずいて除外されるであろう。実際、6日目のAB区における $^3\text{H-GA}_1$ グルコシド、 $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドの量比は、1:3と完熟種子におけるそれより小さくなっている。

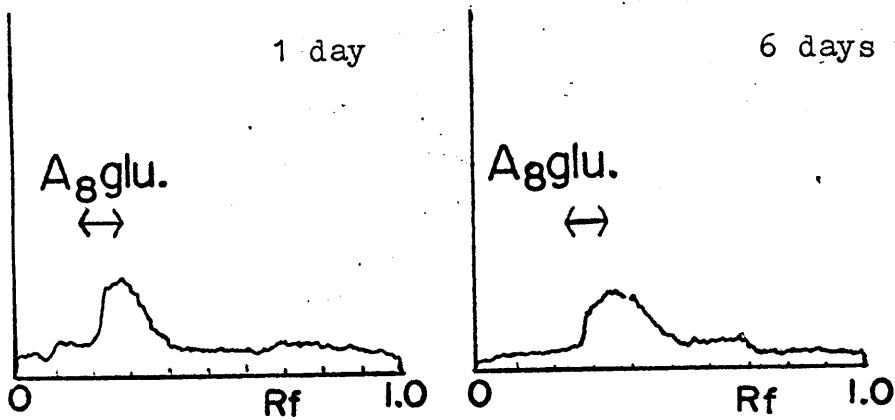
	1 day	6 days
Recovery yield	5.3	4.8
AE	7.6	1.2
NE	0.5	0.3
AB	63.9	72.5
NB	12.1	7.4
Aq.	15.9	18.6

表3-6 $^3\text{H-GA}_1$ 処理された種子由来の芽生えにおける放射能の回収率ならびに各分画への分配状況(%)

AE fr.



AB fr.



NB fr.

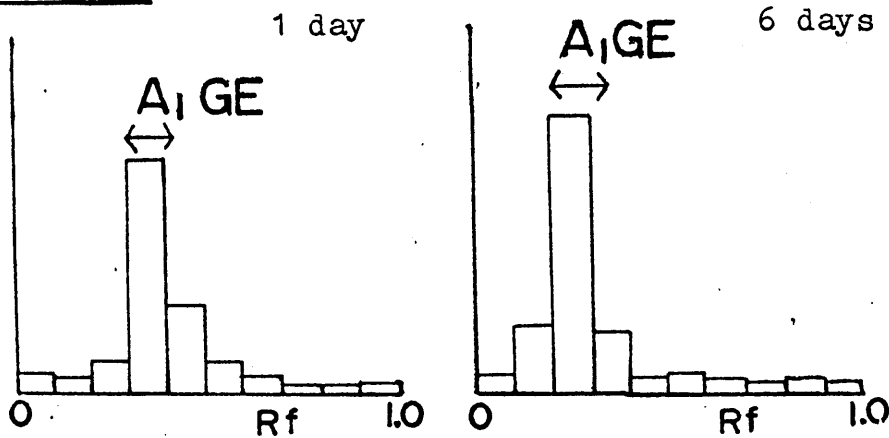


図 3-10 3H-GA₁処理完熟種子由来の芽生え(播種後1日目および6日目)の各分画のラジオクロマトグラム。TLCの条件は、図3-2に同じである。glu.: グルコシド, GE: グルコシルエステル。

NB区の放射能活性もまたわずかに減少していくように思われるが、これが種子の発芽生理に何らかの意味を有するの否かは明らかでない。グルコシルエステルは、グルコシルエーテル²⁸⁾に比べ生体内で加水分解をうけやすい性質を有する点、植物生理学上きわめて興味もたれる。また、今回の実験では、 $^3\text{H-GA}_4$ の $^3\text{H-GA}_4$ グルコシルエステルへのとりこみがきわめて微量であったため追究できなかったが、ゴガツササゲ完熟種子中に相当量存在し発芽後急速に消失するという GA_4 グルコシルエステル、 GA_7 グルコシルエステルなどNE区に介画されるジベレリン類の発芽時における挙動を明らかにすることは、いわゆる中性ジベレリンの植物生理学上の役割を明らかにする上において極めて重要な意義を有するもので、今後、解明されなければならない課題であろう。

第四節 胚生長期におけるジベレリンの代謝

Skene および Carrによれば、ゴガツササゲ種子においては、GA₅など極性の低いジベレリン類は比較的種子が未熟な段階に出現し、完熟期には消失する。したがって、GA₅などの生合成酵素は完熟期に入る以前の種子にしか存在しないと思われる、化学構造面から考えた場合に予測される GA₁ → GA₅ → GA₆ といった相互変換も種子の比較的未熟な段階でしか起らないのではないかと推察される。また、種子は一般に完熟に近づくにつれて遊離型ジベレリンが減少し、ジベレリン配糖体が増加していくことが知られており、ジベレリン配糖体生成酵素は、種子の development の比較的後期に出現するのではないかと推測される。これら諸問題に注目しつつ、以下の実験を行った。

用いた種子は、開花後10日、長さ8mm前後

のもので、胚の生長期に相当する。この段階の種子には、サヤの外側から直接ジベレリンを接種することができない。そこで、種子をサヤからとりだし、マイクロシリンジを用いてジベレリンを接種した後、ビタミンなどを加えた Mitsun の培地（表 3-7）⁷¹⁾ 中、暗黒下、25℃で無菌培養した。ジベレリン処理された種子は、3日目および10日目に採取し、第二節に述べたのと同様の方法で放射能活性なジベレリン類の追跡を行った。

MgSO ₄ ·7H ₂ O	125.0mg/l
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	500.0
KH ₂ PO ₄	125.0
KNO ₃	125.0
MnSO ₄ ·4H ₂ O	3.0
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.5
H ₃ BO ₃	0.5
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.025
Fe-Citrate	10.0
Sucrose	50g/l
Agar	10
Thiamine	0.25mg/l
Ca-Pantothenate	0.25
Pyridoxin	0.25
Nicotinic acid	1.25
Glycine	7.50

表 3-7 培地の組成

表 3-8 は、 $^3\text{H-GA}_4$ 、 $^3\text{H-GA}_1$ 処理した場合の結果であるが、種子の胚生長期においては、完熟期におけるほど A E 区の放射能活性の減少がはやくなく、かつ、A B 区、N B 区における増加も大きくなる。

	$^3\text{H-GA}_4$		$^3\text{H-GA}_1$	
	3 days	10 days	3 days	10 days
AE	63.1	50.9	68.8	68.9
NE	1.9	1.3	0.6	0.3
AB	21.2	32.8	27.5	26.2
NB	4.6	7.7	2.2	1.5
Aq.	0.2	7.3	0.9	3.1

表 3-8 $^3\text{H-GA}_4$ 、 $^3\text{H-GA}_1$ 処理された種子における各分画への放射能の分配状況 (%)

[GA₄の代謝]

図 3-11 は、 $^3\text{H-GA}_4$ 処理した場合の各分画のラジオクロマトグラムであるが、 $^3\text{H-GA}_4$ が速かに $^3\text{H-GA}_1$ に転換され、さらに、 $^3\text{H-GA}_8$ と

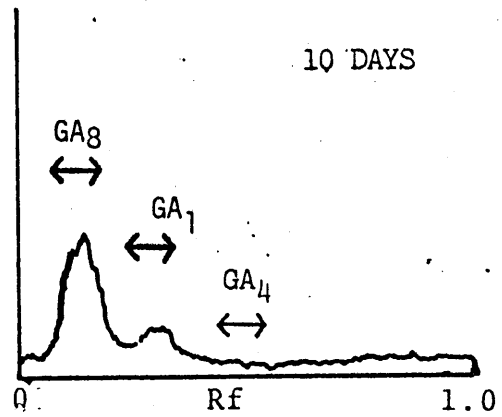
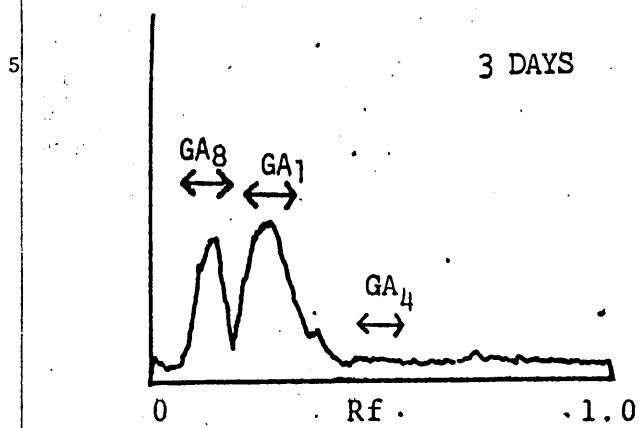
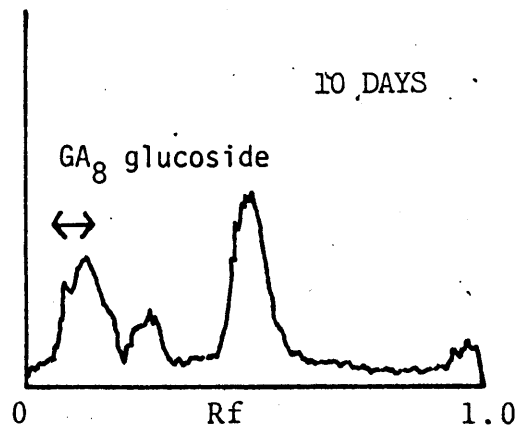
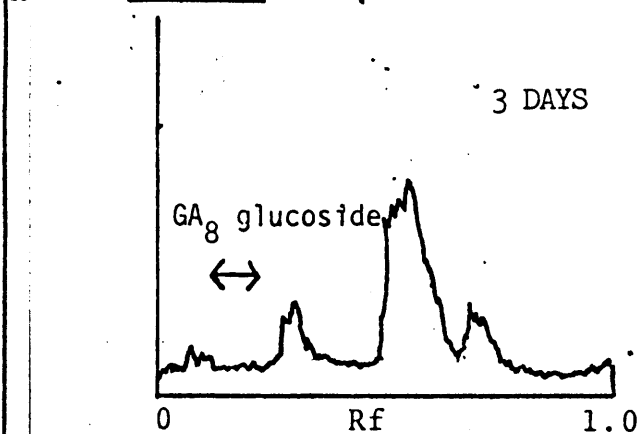
AE fr.AB fr.

図 3-11 ^3H -GA₄処理された後無菌培養された種子由来の各分画のラジオクロマトグラム。TLCの条件は、図 3-2 に同じである。

転換されていることを示している。10日目の種子では、少量の $^3\text{H-GA}_1$ も存在するが、AE区の放射能の大半は $^3\text{H-GA}_8$ に由来する。

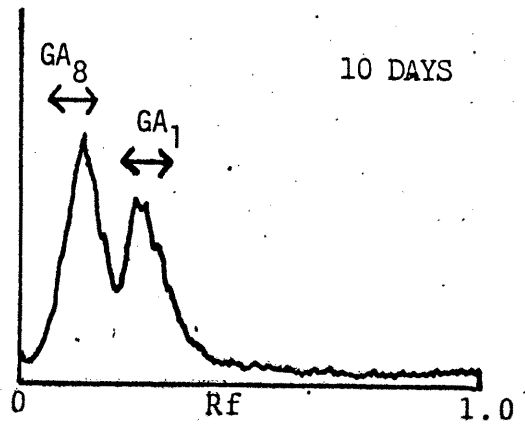
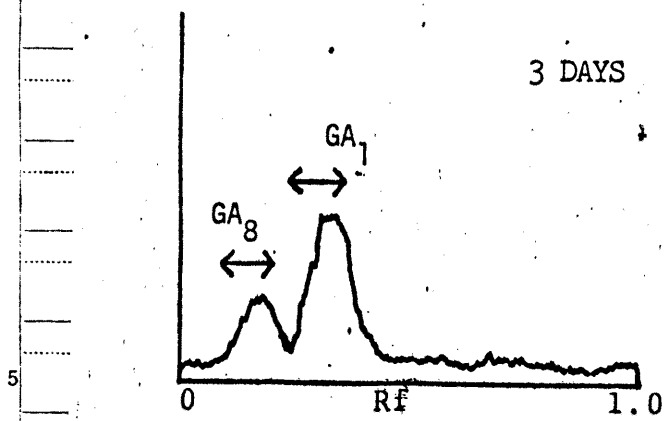
AB区に着目すると、3日目の種子ではジベレリングルコシド類の生成がみられず、放射能はこれより極性の低い未知物質に由来するが、10日目になると少量の $^3\text{H-GA}_1$ グルコシド、 $^3\text{H-GA}_8$ グルコシドの生成がみられるようになる。しかし、NE区には検出可能な $^3\text{H-GA}_4$ グルコシルエステルの存在は認められなかった。

〔 GA_1 の代謝〕

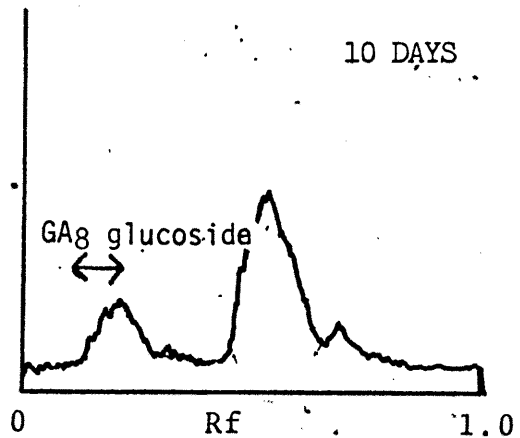
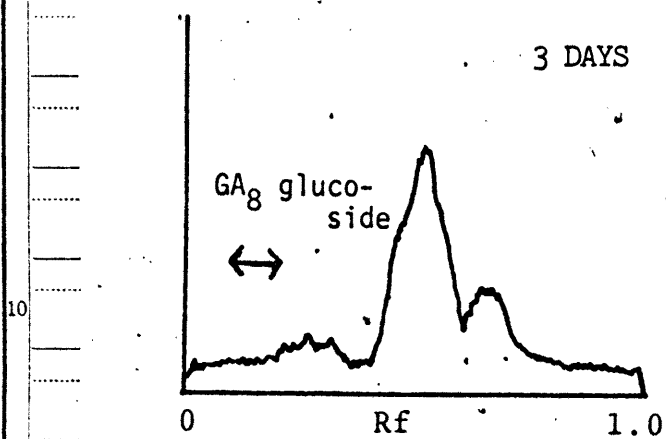
図3-12は、 $^3\text{H-GA}_1$ 処理された種子の各介面のラジオクロマトグラムであるが、 $^3\text{H-GA}_4$ 処理された種子の場合と同様の結果が得られた。

$^3\text{H-GA}_4$ 処理の場合、10日後も、NB区に検出可能な GA_1 グルコシルエステルの生成はみられなかったが、 $^3\text{H-GA}_1$ 処理の場合、少量の $^3\text{H-GA}_1$ グルコシルエステルの生成が観測され

AE fr.



AB fr.



NB fr.

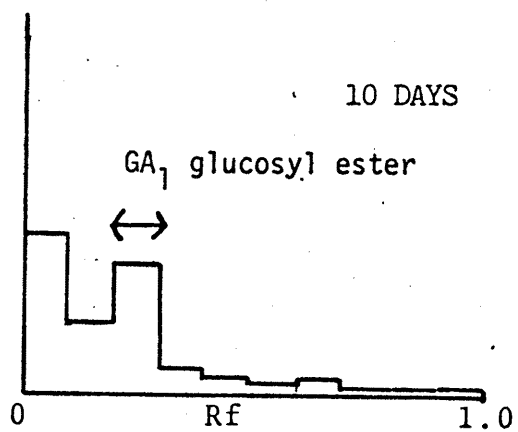
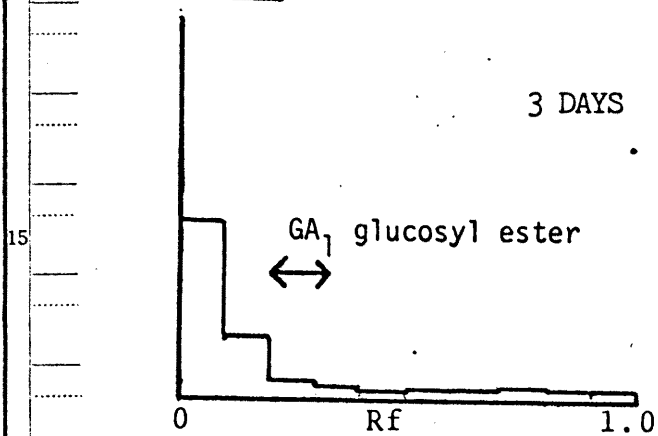


図 3-12 $^3\text{H-GA}_1$ 処理された後無菌培養された種子由来の各分画のラジオクロマトグラム。TLC の条件は、図 3-2 に同じである。

た。これは、ジベレリンの投与量や種子の stage の微妙な違いによるものと考えられる。

以上の実験的事実は、種子の比較的未熟な段階においても、GA₄からGA₁への転換がきわめて速く、GA₄ → GA₁ → GA₈ という代謝経路が働いており、グルコシルエーテル、エステル生成酵素がまだ出現していないことを示唆するものであろう。また、³H-GA₁ から ³H-GA₅ への転換は認められなかった。

[GA₅の代謝]

完熟期の種子においては、GA₅のGA₆への転換が認められなかった。そこで、種子の胚生長期において、GA₅からGA₆への転換の可能性をさぐるとともに、GA₅の代謝を追跡した。

³H-GA₅は、前述の³H-GA₄、³H-GA₁と全く同様な方法で種子に接種し、この種子を3日間、無菌培養した。メタノール抽出した後、常法通り分画し、各分画の放射能を測定したと

ころ、表3-9に示すような結果となった。

fraction	distribution(%)
A E	71.1
N E	1.8
A B	21.9
N B	2.8
A q	2.4

表3-9 $^3\text{H-GAs}$ 処理された種子における放射能の各分画への分配状況(%)

図3-13は、こうして得られた各分画のラジオクロマトグラムであるが、AE区には、GA₅、および、GA₁に相当する区分に顕著な放射能活性がみられる。これら放射能活性の区分は、分取TLCで精製しジアゾメタンでメチル化後、GC-RC法により分析した。尚、GA₁区分以上の極性部分については、GC-RCに先立ち、TMS誘導体に導いた。図3-14は、その結果である。GA₅区分は、やはり未変化の $^3\text{H-GAs}$ に由来し、検出可能な量の $^3\text{H-G}$

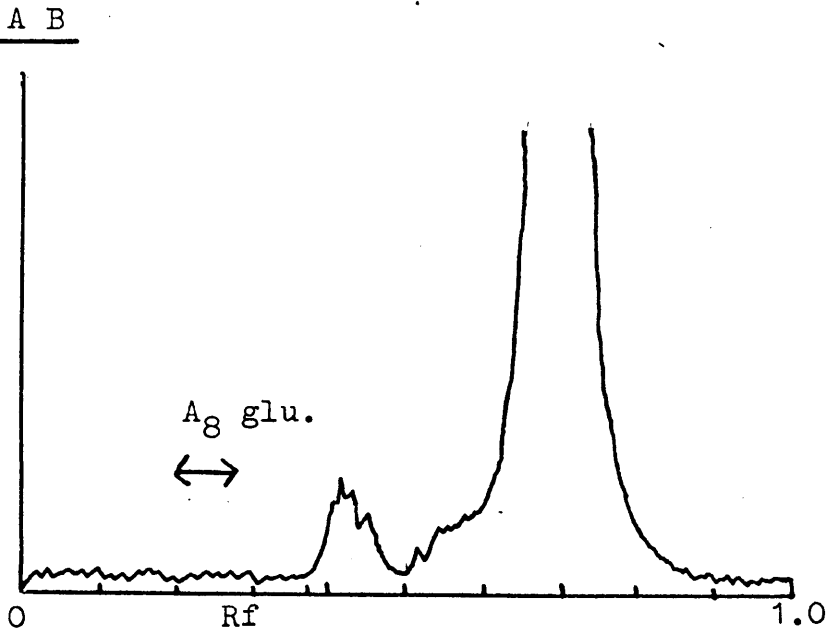
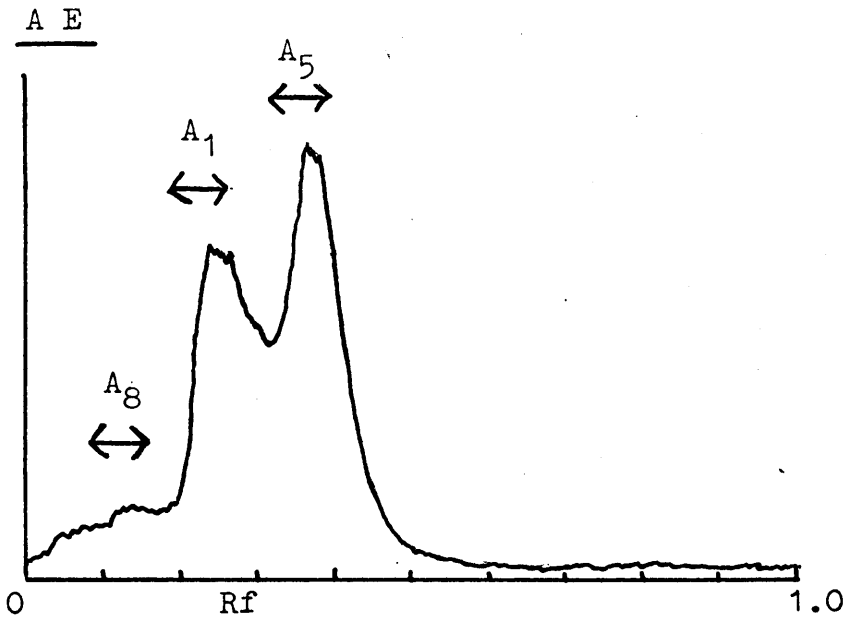


図 3-13 ³H-GA₃ 処理された後 3 日間 無菌培養された
 種子由来の AE 区、AB 区のラジオクロマトグラム。
 TLC の条件は、図 3-2 に同じである。glu.: グルコシド。

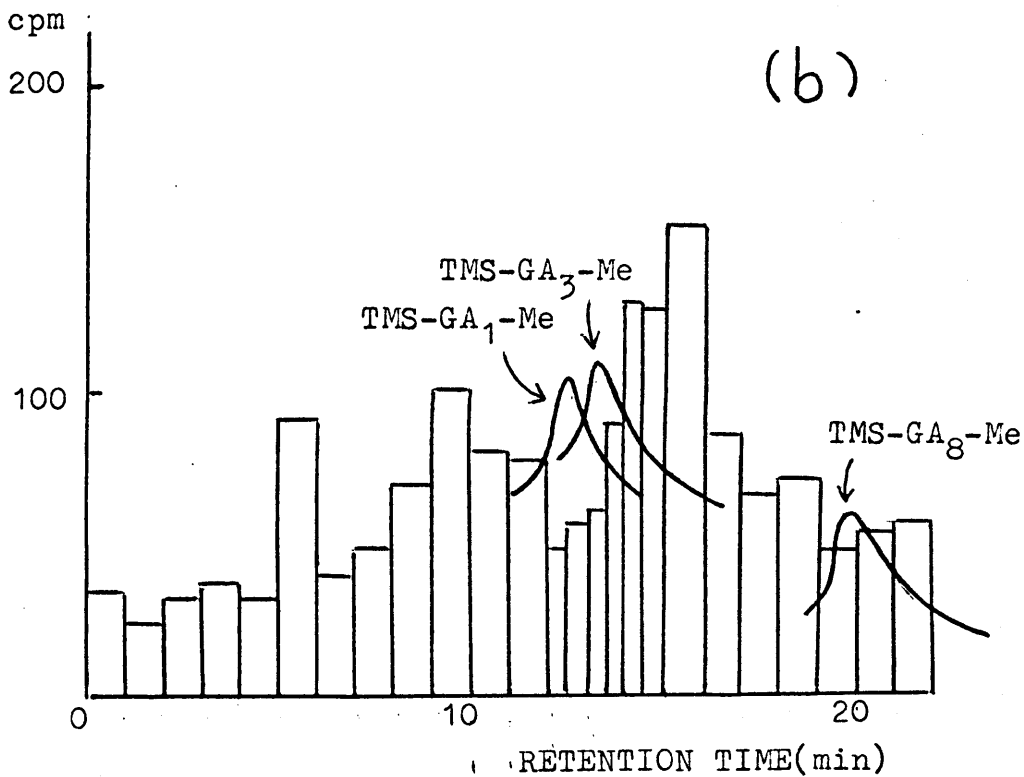
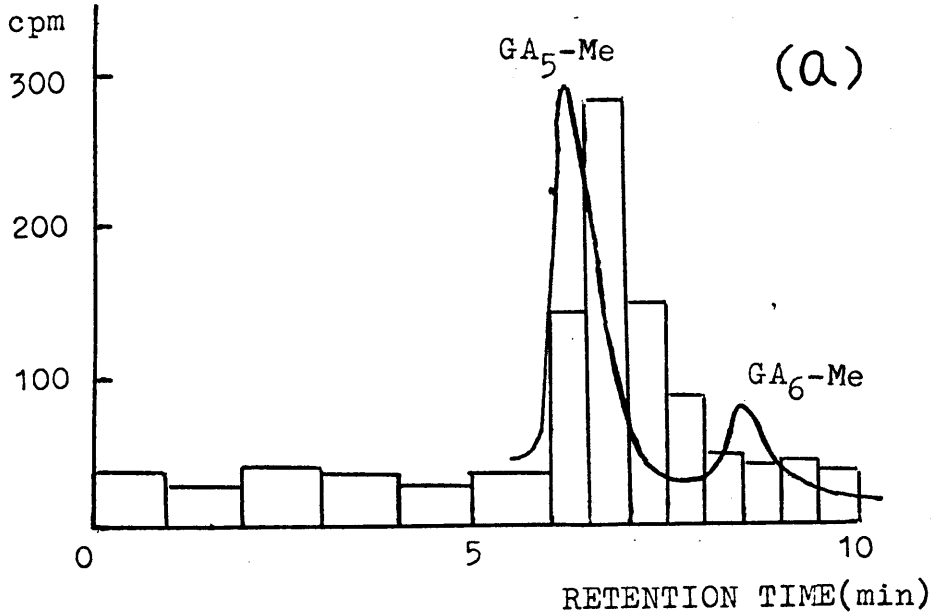


図 3-14 ^3H -GAs 処理された後 3日間無菌培養された種子由来の AE
 区 (a) GA_5 区 (メチルエステル) (b) GA_1 , GA_8 区 (メチル
 エステルのトリメチルシリルエステル) の GC-RC experiment. GC:
 ガラスカラム (1m x 3mm i.d.), 2% SE-30, カラム温度 206°C ,
 キャリヤガス (N_2 , 33 ml/min).

A_6 の存在は認められなかった。 GA_1 相当区分の放射能は、 $^3H-GA_1$ 、 $^3H-GA_3$ のどちらとも異なる未知物質に由来すると考えられ、また、これより更に極性の高い区分から、 $^3H-GA_8$ に由来する放射能は検出されなかった。Durleyらは、 $^3H-GA_5$ を暗黒下で育てた矮性エンドウの芽生えに与え、これが $^3H-GA_3$ および GA_3 とRf値を同じくする未知物質に転換されたことを報告しているが、⁷²⁾GC-RCにおける挙動からは本実験における未知物質は、Durleyらのそれとも異なるようである。

第五節 総括

本章第一節において述べたように、高等植物におけるジベレリンの生合成経路は、本質的には、カビのそれと一致しているといえる。しかしながら、水酸基の導入の位置と時期において、きわめて多種多様の生合成系

が存在する。

野性キュウリの一種、*Echinocystis macrocarpa* は
 その未熟種子中に、 GA_{24} 、 GA_{25} 、 GA_4 、 GA_7 ⁷³⁾
 とともに GA_1 、 GA_3 ²⁹⁾を含有する。化学構造面
 からその生合成的相関を考えると、この植物
 におけるC-13位への水酸基の導入は、ジベレ
 リン生合成の後期に位置しており、この植物
 がカビときわめて類似のジベレリン生合成系
 を有すると推測される。

Graebeらは、野性ウリの一種、*Cucubita maxima*
 未熟種子の胚乳からのセルフリー系を用いて
 、メバロン酸より GA_{12} アルデヒドを経て C_{20} ジ
 ベレリン⁶⁴⁾にいたるまでの生合成過程を明らか
 にしているが、⁶⁵⁾ここで確認された C_{20} ジベレリ
 ンは、すべてC-13水酸基を欠き、かつ、カビ
 の代謝産物として確認されていたものであり
 、この点において*Cucubita maxima*もまたカビと
 同様のジベレリン生合成系を有すると思われ
 る。

一方、第二章において述べたように、矮性

エンドウの芽生えでは、GA₁₄はただちにC-13位へ水酸基が導入されてGA₁₈となり、以下、GA₃₈、GA₂₃などのC-13 hydroxy C₂₀ジベレリンを経て、GA₁、GA₈などのC₁₉ジベレリンへと転換⁴⁶⁾されていく。

ところで、各種クロマトグラフィーおよびGC-MSなどの発達により、微量のサンプルでも分離同定が可能になった現在、高等植物の中には、多種多様の構造のジベレリン類を含有するものもあることが明らかとなり、同一植物体内においてさえ種々のジベレリン生合成経路をもつ可能性も考えられるに至っている。すなわち、ゴガツササゲ種子には、本研究後、GA₁₇、GA₂₀、GA₂₉、GA₄₄などのジベレリン類の存在が確認⁷⁴⁾され、また、同属の紅花インゲンにGA₁₉が含まれているのを考えるとき、図3-10において示したジベレリンの生合成、代謝経路に加えて、図3-14に示すような経路も考えられる。

同一植物中にC-13水酸基を有するC₂₀ジベレ

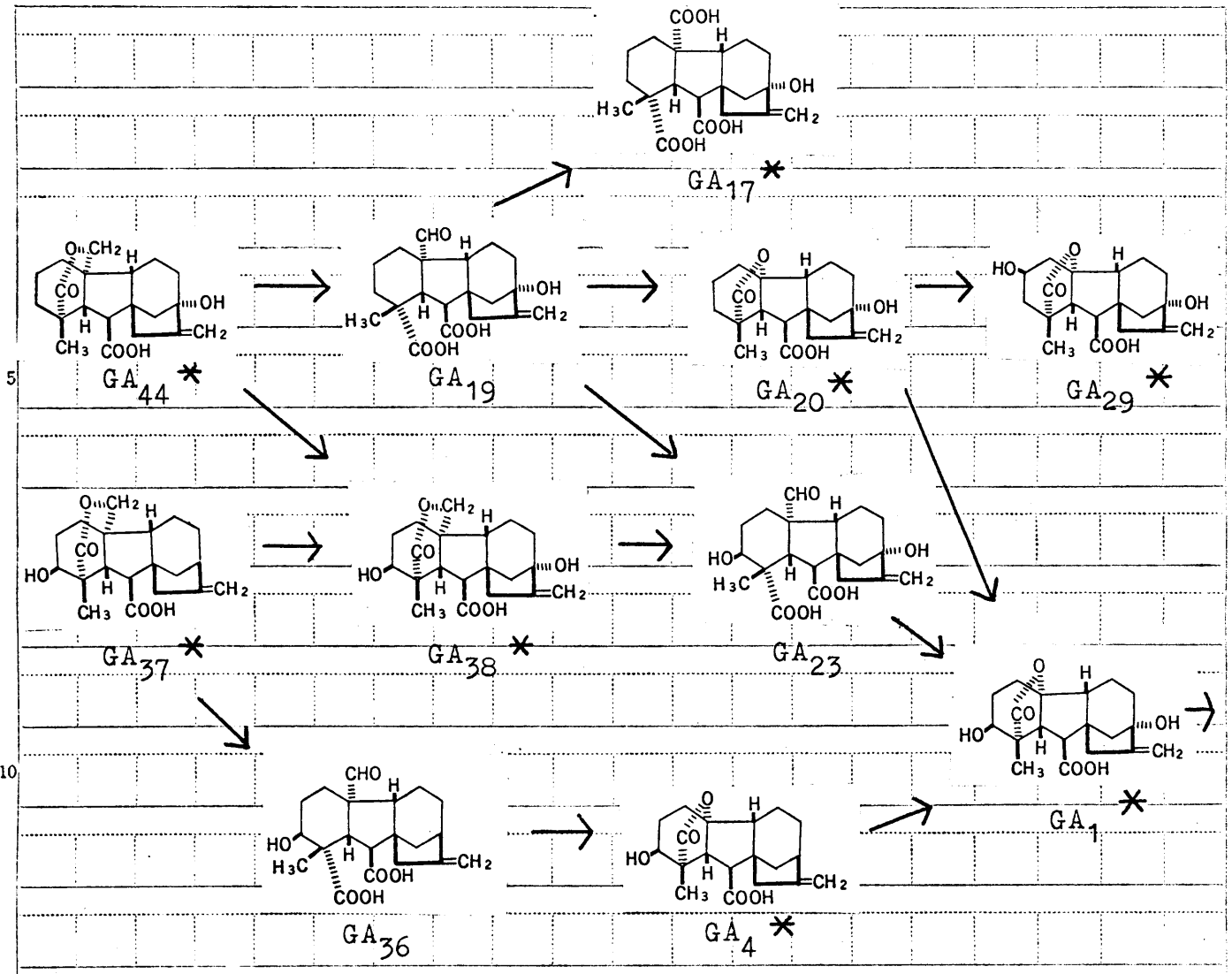


図 3-14 ゴガツササゲ種子において予測されるジベレリンの生合成経路。GA_{As}* は、ゴガツササゲ種子中に存在確認されているジベレリン。

リン、また、C-13水酸基を欠くC₁₉ジベレリンの存在が確認されていることは、同一植物においてさえ多様なジベレリン生合成系が存在

することを如実に物語っているといえよう。

一般に高等植物において、発芽後10日以上たたねばジベレリンの生合成能はないと言われている。²⁶⁾ 正常な生長現象をいとなむのにそれほど多量のジベレリンが必要ではないにしても、ジベレリンの供給はなされなければならぬと思われる。

平賀らによりゴガツササゲ完熟種子から単離された4種のジベレリングルコシルエステルは、²⁷⁾ 活性型ジベレリンの配糖体であること、グルコシルエステル類²⁸⁾に比べ生体内で加水分解をうけやすいこと、また、このうち2種のGA₄グルコシルエステル、GA₃₇グルコシルエステルは¹⁵⁾ジベレリン生合成の比較的早い時期に出現するジベレリンの配糖体で、かつ、³⁹⁾発芽直後に急速に消失していくこと等から、ジベレリンの貯蔵態、供給態である可能性がきわめて大きいと思われる。

発芽現象におけるGA₄グルコシルエステル

の挙動についても標識試験により明らかにしようとしたが、GA4の他のジベレリンへの転換がきわめて速いためか、あるいは、GA4グルコシルエステルがきわめて制御された機構で生合成されているためか、微量の取り込みしか確認できず、発芽時におけるその挙動を追跡するにはいたらなかった。

平賀らは、発芽後、GA1グルコシルエステルなどを含むNB区のジベレリン³⁹⁾活性はあまりかわらないことを報告している。しかしながら、今回の実験では、多少減少していく傾向がみられる。発芽直後に、GA4グルコシルエステル、GA_nグルコシルエステルなどNE区、および、わずかに残存していたAE区¹⁵⁾のジベレリン類が消費され、それ以降、NB区¹⁵⁾のジベレリン類が少量ずつ消費されていく可能性も考えられる。

第六節 実験の部

[材料]

$^3\text{H-G A}_1$: $\text{G A}_3\text{-Me}$ (600 mg) をトリチウムガス (1 Ci) を含む水素ガス中で接触還元した。触媒は 2% Pd on BaCO_3 (700 mg)、溶媒は 2 ml のピリジンを含む酢酸エチル 30 ml を用いた。水素を 52 ml 吸収したところで反応を止め、酢酸エチル可溶中性区 (NE)、酸性区 (AE) に分画する。NE 区をアルミナ吸着クロマトグラフィー (溶出は、ベンゼン-酢酸エチルで行った) により精製すると、70 mg の $^3\text{H-G A}_1\text{-Me}$ が得られた。AE 区からは、300 mg の加水素分解物を得られた。これを 15 ml の 3 N 塩酸を含む 30 ml のアセトンに溶かし、65~70°C に 7 時間加熱すると 50 mg の $^3\text{H-G A}_1\text{-Me}$ が得られる。

こうして得られた $^3\text{H-G A}_1\text{-Me}$ (120 mg) は、Bartlett の方法に準じて加水分解された。HMPA 5 ml と 300 mg の LiH との懸濁液に 3 ml の HMPA に溶かした 2 ml の propyl mercaptan を加えよく攪拌す

る。30分後に、6 mlのHMPAに溶かした $^3\text{H-GA}_1\text{-Me}$ を加え窒素気流中で攪拌を続ける。1時間半後、反応液のAE区を介取TLCで精製すると60 mgの $^3\text{H-GA}_1$ (2.4 $\mu\text{Ci}/\text{mmol}$)が結晶として得られた。

$^3\text{H-GA}_4$, $^3\text{H-GA}_5$, $^3\text{H-GA}_8$, $^3\text{H-GA}_{20}$: $^3\text{H-GA}_4$ は、カルガリー大学のR.P. Pharis教授より供与いただいた。 $^3\text{H-GA}_5$, $^3\text{H-GA}_8$, $^3\text{H-GA}_{20}$ は、本学、農芸化学科、室伏旭助教授に合成していただいたものを用いた。

トリチウム標識されたジベレリン類は、開花後、18日目のゴカツササゲ (*Phaseolus vulgaris* cv. Kentucky Wonder) 未熟種子にサヤの外から直接ミクロシリンジを用いて接種した。投与したジベレリン類の比放射能ならびに種子1個当たりの投与量は、以下の通りである。

$^3\text{H-GA}_1$: 2.4 $\mu\text{Ci}/\text{mM}$, 0.7 $\mu\text{Ci}/\text{seed}$

$^3\text{H-GA}_4$: 8 $\mu\text{Ci}/\text{mM}$, 0.3 $\mu\text{Ci}/\text{seed}$

$^3\text{H-GA}_5$: 5.3 $\mu\text{Ci} / \text{mM}$, 5.3 $\mu\text{Ci} / \text{seed}$

$^3\text{H-GA}_8$: 0.5 $\mu\text{Ci} / \text{mM}$, 1 $\mu\text{Ci} / \text{seed}$

$^3\text{H-GA}_{20}$: 3.2 $\mu\text{Ci} / \text{mM}$, 3.2 $\mu\text{Ci} / \text{seed}$

5 ジベレリン処理された種子は、2日後に一部を未熟種子のサンプルとして採取し、残りはそのまま栽培を続け完熟せしめる。

10 こうして得られた完熟種子のうち、 $^3\text{H-GA}_1$ 処理してあったものについては、一晚流水中に浸漬した後海砂上に蒔き、暗黒下、25°Cで発芽させた。そして播種後1日目および6日目に採取した。

15 また、胚生長期の種子については、種子をサヤからとりだし、マイクロシリンジを用いてジベレリンを接種した後、ビタミン、アミノ酸などを加えた Nitech の培地に置床し、25°C暗黒下で無菌培養した。なお、用いたジベレリン類の比放射能、種子1個当りの投与量は以下の通りである。

$^3\text{H-GA}_1$: 2.4 $\mu\text{Ci} / \text{mM}$, 0.1 $\mu\text{Ci} / \text{seed}$

$^3\text{H-GA}_4$: 0.62 Ci/mM, 0.4 $\mu\text{Ci/seed}$

$^3\text{H-GA}_5$: 5.3 Ci/mM, 2.8 $\mu\text{Ci/seed}$

[抽出および分画]

ジベレリン処理した後、収穫した種子および芽生えは、乳鉢で磨砕した後、メタノール抽出する。抽出液は、減圧下で濃縮後、第一章において述べた方法により分画を行い、A、E、NE、AB、NB、A₈の5分画を得た。

[薄層クロマトグラフィー]

Kiesel gel GF₂₅₄ (Merck) の厚さ 0.25 mm の薄層を用いた。展開溶媒は、AE区については、酢酸エチル-クロロホルム-酢酸、20:8:1、NE区およびNB区については、クロロホルム-メタノール(3:1)、AB区については、クロロホルム-メタノール-酢酸-水、45:15:3:2である。なお、GA₁グルコシドとGA₈グルコシドの二重展開による分離に用いた溶媒系は、クロロホルム-

メタノール-酢酸-水、75:20:3にてである。

[放射能の測定]

TLC板上の放射能については、ラジオクロマトグラムスキャンナーを用いて測定した。放射能の定量的測定には、液体シンチレーションカウンタを使用した。この場合、シンチレーターとしては、Bray's solution⁷⁶⁾を用いた。

[GC-RC法]

GCは、Hitachi K 53 Gas Chromatographを使用した。シリコニ処理されたガラスカラム(1 m x 3 mm i.d.)に2% QF-1 on Chromosorb W (mesh 80 ~ 100)を充填し、Carrier gasとしては窒素(33.0 ml/min)を用いた。Mass peaksは水素炎検出器で検出し、その結果生成したトリチウム水を冷却したシンチレーターでトラップし、その放射能を液体シンチレーションカウンターによって測定する。この場合、用いたシンチ

レター-の組成は、⁷⁷⁾ ニオン 300 ml. トルエン 700 ml. PPO 4g である。

[³H-GA₁ グルコシルエステルの同定]

⁵ ³H-GA₁ 処理した後完熟せしめた種子のNB 区に 30 mg の GA₁ グルコシルエステルテトラアセテート²⁸⁾ を加え、ピリジン-無水酢酸 (2:1) でアセチル化した。こうして得られた粗アセテートを分取 TLC で精製し、酢酸エチル-ヘキサンから結晶化させると、17.6 mg の GA₁ ペニタアセテートの針状結晶が得られた。この結晶の比放射能は、3度の再結晶化において一定であり、このことは、³H-GA₁ グルコシルエステルの存在を支持するものである。

[セルラーゼ加水分解およびアルカリ加水分解]

必要に応じて、各 AB 区は、セルラーゼ (Sigma) による加水分解を行った。方法は第一章において述べた GA₃₅ グルコシドのセルラー

で加水分解と全く同様である。

$^3\text{H-G A}_5$ 処理した後、完熟せしめた種子の N
B 区は、封管中、0.05 N カセイソーダ水とと
もに 1 時間煮沸する。

アグリコンはそれぞれ酢酸エチル可溶酸性
区分より得られる。

[$^3\text{H-G A}_{20}$ 処理された未熟種子における $^3\text{H-G A}_1$
の同定]

$^3\text{H-G A}_{20}$ 処理された未熟種子由来の A E 区を
分取 TLC で精製した後、ジアゾメタンでメ
チル化し、25 mg の cold $\text{G A}_1\text{-Me}$ を加えて酢酸エ
チル-ヘキサンより結晶化させると 19.2 mg の
結晶が得られた。この結晶の比放射能は、3
度の再結晶化によっても一定で、 $^3\text{H-G A}_1$ の存
在を支持するものである。

[$^3\text{H-G A}_5$ 処理された未熟種子における $^3\text{H-G A}_8$
の同定]

$^3\text{H-G A}_5$ 処理された未熟種子由来の A E 区を

分取TLCで精製し、これに3.5mgのcold GA₈を加え、酢酸エチル-ヘキサンより結晶化させ、3.2mgの結晶を得た。³H-GA₈の存在は、3度の再結晶化において、各結晶の比放射能が一定であることから、強く支持される。

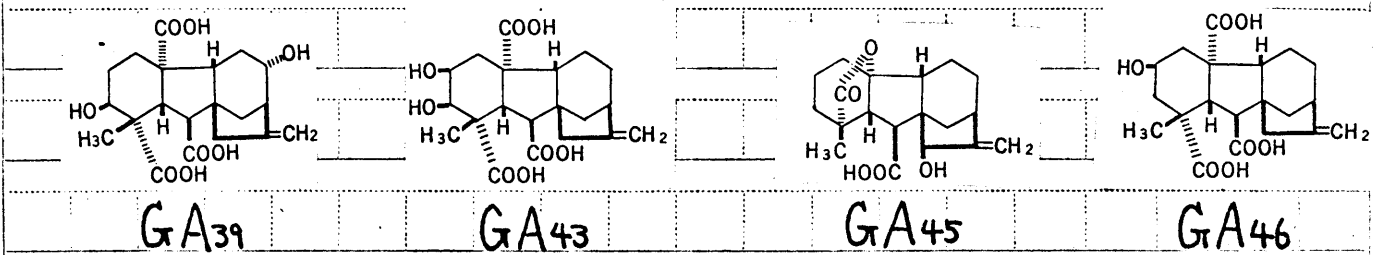
結 語

高等植物に含まれるジベレリン類は、*ent-gibberellane* 骨格への水酸基の導入位置において、カビから単離されたジベレリン類とくらべてきわめて多様な構造を有する。

ジベレリンの作用性を物質的に明らかにするという目的にたつとき、天然界に存在するジベレリンの分布を明らかにすることは、高等植物におけるジベレリンの生合成、代謝を考える上で、実際に標識化合物を用いた *feeding experiment* とともにきわめて重要な意義を有する。そこで著者は、豆科植物の一種、エニシダの未熟種子に含まれるジベレリン様物質の検索を行い、新ジベレリン A_{35} とそのグルコシドを単離、構造決定した。 GA_{35} は、C-11 水酸基を有するはじめてのジベレリンであって、各種生物試験で高活性を示し、活性型ジベレリンの一つと考えられる。エニシダ未熟種子中には、他に検出可能な量のジベレリンが存

在しないことから、GA₃₅がエニシダにおいては、主要な役割を果たしていると考えられる。

本研究の後も、高等植物より GA₃₇ (Phaseolus vulgaris)³⁹⁾、GA₃₈ (Phaseolus vulgaris)⁷⁸⁾、GA₃₉ (Cucubita spp.)⁷³⁾、GA₄₃ (Phaseolus vulgaris)⁷⁹⁾、GA₄₆ (Echinocystis macrocarpa)^{80) 74)}、GA₄₄ (Pisum sativum)⁸¹⁾、Phaseolus vulgaris)、GA₄₅ (Pyrus communis) など多様な構造を有するジベレリンの存在確認、構造決定が行われ、高等植物におけるジベレリンの生合成の多様さが、ますます明らかになりつつある。



すでに述べたように、高等植物中の内生ジベレリン類は、生長現象に対応して大きく変化する。これらジベレリン類の変化と作用性を物質的に解明するには、最終的には標識化合物を用いた feeding experiment を行う必要があ

る。著者は、その種子の生長現象と対応した形で比較的よく内生ジベレリン類が明らかにされているゴガツササゲ種子を材料とし、トリチウムで標識したジベレリン類を用いて *feeding experiment* を行い、ゴガツササゲ種子におけるジベレリンの代謝経路を明らかにするとともに、同一植物でも多様なジベレリンの代謝経路が存在すること、また、同一ジベレリンでも種子の *stage* の違いにより異なる代謝を受ける可能性があることを示した。本研究の特徴は、ある種の高等植物の内生ジベレリンを無傷植物に与え、その変化を追求した点であろう。無傷植物は、植物の切片やセルフリー系と異なり、独特の生理作用を営んでおり、ここで行われたような方法によってはじめて高等植物における内生ジベレリンの役割を解明するアローチが開かれたものと考えられる。ただ、ここで用いた標識化合物は、標識化合物の合成という制約から、すべて C_{19} ジベレリン類であった。今後、カウレン、 C_{20} ジベ

レリン等種々の標識化合物を合成し、これら
 を高等植物に与えて、ジベレリン類への変換
 、および、相互転換の機構を明らかにする研
 究を行いたいと考えている。

5

10

15

5

10

15

参考文献

- 1) 堀正太郎 (1898) 農事試験場成績, 12, 110.
- 2) 黒沢英一 (1926) 台湾博物学会会報, 16, 213.
- 3) 藪田貞治郎、住木諭介 (1938) 日本農芸化学会誌, 14, 1526.
- 4) Mitchell, J.E. & Angel, C.R. (1951) *Phytopathology*, 40, 26.
- 5) MacMillan, J. & Suter, P.J. (1958) *Naturwissenschaften*, 54, 46.
- 6) Tamura, S., Takahashi, N., Murofushi, N., Iriuchijima, S., Kato, J., Wada, Y., Watanabe, E. & Aoyama, T., *Tetrahedron Lett.*, 1966, 2465.
- 7) Tamura, S., Takahashi, N., Murofushi, N., Yokota, T., Kato, J. & Shiotani, Y. (1967) *Planta*, 75, 279.
- 8) Takahashi, N., Murofushi, N., Yokota, T., Tamura, S., Kato, J. & Shiotani, Y., *Tetrahedron Lett.*, 1967, 895.
- 9) Murofushi, N., Takahashi, N., Yokota, T. & Tamura, S. (1968) *Agr. Biol. Chem.*, 32, 1239.
- 10) Yokota, T., Murofushi, N., Takahashi, N. & Tamura, S. (1971) *ibid.*, 35, 573.

- 11) Yokota, T., Murofushi, N., Takahashi, N. & Tamura, S. (1971) *ibid.*,
35, 583.
- 12) Murofushi, N., Yokota, T., Watanabe, A. & Takahashi, N. (1972) *ibid.*,
37, 1101.
- 13) Koshimizu, K., Fukui, H., Kusaki, T., Ogawa, Y. & Mitsui, T. (1968),
ibid., 32, 1135.
- 14) Fukui, H., Ishii, H., Koshimizu, K., Katsumi, M., Ogawa, Y. &
Mitsui, T. (1972) *ibid.*, 36, 1003.
- 15) Fukui, H., Koshimizu, K. & Mitsui, T. (1971) *Phytochemistry*, 10, 671.
- 16) Pryce, R. J. & MacMillan, J., *Tetrahedron Lett.*, 1967, 4173.
- 17) Yamane, H., Yamaguchi, I., Murofushi, N. & Takahashi, N. (1974) *Agr.*
Biol. Chem., 38, 649.
- 18) Yamane, H., Yamaguchi, I., Yokota, T., Murofushi, N., Takahashi, N.
& Katsumi, M. (1973) *Phytochemistry*, 12, 255.
- 19) Tamura, S., Takahashi, N., Yokota, T., Murofushi, N. & Ogawa, Y. (1968)
Planta, 78, 208.
- 20) Schreiber, K., Weiland, J. & Sembdner, G., *Tetrahedron Lett.*,
1967, 4285.
- 21) Yokota, T., Murofushi, N., Takahashi, N. & Katsumi, M. (1971)
Phytochemistry, 10, 2943.

22) Skene, K.G.M. & Carr, D.J. (1961) Austr. J. Biol. Sci., 14, 13.

23) Murakami, Y. (1961) Bot. Mag. Tokyo, 74, 241.

24) Ogawa, Y. (1963), Plant & Cell Physiol., 4, 85.

25) Hashimoto, T. & Rappaport, L. (1966) Plant Physiol., 41, 623.

26) Ecklund, P.R. & Moore, T.C. (1974) *ibid.*, 53, 5.

27) Hiraga, K., Yokota, T., Murofushi, N. & Takahashi, N. (1974) Agr.

Biol. Chem., 38, 2511.

28) Hiraga, K., Yamane, H. & Takahashi, N. (1974) Phytochemistry, 13,

2371.

29) Elson, G.W., Jones, D.F., MacMillan, J. & Suter, P.J. (1964)

Phytochemistry, 3, 93.

30) Dennis, F.G. Jr. & Nitsch, J.P. (1966) Nature, 211, 781.

31) Khalifah, R.A., Lewis, L.N. & Coggins, C.W. (1965) Anal. Biochem.,

12, 113.

32) Khalifah, R.A., Lewis, L.N. & Coggins, C.W. (1965) Plant Physiol.,

40, 441.

33) Pryce, R.J. & MacMillan, J. Tetrahedron Lett., 1967, 5009.

34) 勝見允行、"ジベレリン"(田村三郎編) 東

大出版会 (1969)、150.

35) Ruddat, M., Heftmann, E. & Lang, A. (1965) Arch. Biochem. Biophys.,
111, 187.

36) Hanson, J.R., J. Chem. Soc., 1965, 5036.

37) 高橋信孝, "ジベレリン" (田村三郎編) 東
5 大出版会 (1969), 214.

38) Yamaguchi, I., Takahashi, N. & Fujita, K. (1975) J. Chem. Soc.,
in press.

39) Hiraga, K., Kawabe, S., Yokota, T., Murofushi, N. & Takahashi, N.
(1974) Agr. Biol. Chem., 38, 2521.

10 40) Fujita, E., Fujita, T., Taoka, M., Katayama, H. & Shibuya, M.,
Tetrahedron Lett. 1970, 421.

41) 横田孝雄, 博士論文.

42) Yamaguchi, I., Miyamoto, M., Yamane, H., Murofushi, N., Takahashi, N.
& Fujita, K. (1975) J. Chem. Soc., in press.

15 43) Crozier, A., Kuo, C.C., Durley, R.C. & Pharis, R.P. (1970) Can. J.
Bot. 48, 867.

44) Reeve, D.R. & Crozier, A. (1974) J. Exp. Bot., 25, 431.

45) Phinney, B.O. & West, C.A. (1961) Encyclopedia of Plant Physiol.,
14, (ed. Burström H.), Springer-Verlag, 1185.

- 46) Durley, R.C., Railton, I.D. & Pharis, R.P. (1974) *Phytochemistry*, 13, 547.
- 47) Brian, P.W., Grove, J.F. & Mulholland, P.T.C. (1967) *ibid.*, 6, 1475.
- 48) Murakami, Y. (1968) *Bot. Mag. Tokyo*, 81, 100.
- 49) Tamura, S., Takahashi, N., Murofushi, N. & Kato, J. (1966) *Plant & Cell Physiol.*, 7, 677.
- 50) Katsumi, M., Tamura, S. & Sakurai, A. (1962) *ibid.*, 37, 774.
- 51) Birch, A.J., Richard, R.W., Smith, H., Harris, A. & Walley, W.B. (1959) *Tetrahedron*, 7, 241.
- 52) Hanson, J.R. & White, A.F., *J. Chem. Soc. (C)*, 1969, 981.
- 53) Cross, B.E., Galt, R.H.B. & Hanson, J.R., *J. Chem. Soc.*, 1964, 295.
- 54) Geisman, T.A., Verbiscar, A.J., Phinny, B.O. & Cragg, G. (1966) *Phytochemistry*, 5, 933.
- 55) Verbiscar, A.J., Cragg, G., Geissman, T.A. & Phinny, B.O. (1967) *ibid.*, 6, 807.
- 56) Hanson, J.R. & White, A.F., *Chem. Comm.*, 1968, 1689.
- 57) Hanson, J.R. & White, A.F., *ibid.*, 1969, 410.
- 58) Hanson, J.R. & Hawker, J., *ibid.*, 1971, 208.
- 59) Oster, M.O. & West, C.A. (1968) *Biochem. Biophys.*, 127, 112.

60) Upper, C.D. & West, C.A. (1965) J. Biol. Chem., 240, 1847.

61) Schechter, I. & West, C.A. (1967) *ibid.*, 242, 3285.

62) Dennis, D.T. & West, C.A. (1967) *ibid.*, 244, 3200.

63) Lew, F.T. & West, C.A. (1971) *Phytochemistry*, 10, 2065.

5 64) Graebe, J.E., Bowen, D.H. & MacMillan, J. (1972) *Planta (Berl.)*,
102, 261.

65) Graebe, J.E., Hedden, P., Gaskin, P. & MacMillan, J. (1974)
Phytochemistry, 13, 1433.

66) Durley, R.C., MacMillan, J. & Pryce, R.J. (1971) *ibid.*, 10, 1891.

10 67) MacMillan, J. & Pryce, R.J., *Tetrahedron Lett.*, 1968, 1537.

68) Nadeau, R. & Rappaport, L. (1972) *Phytochemistry*, 11, 1611.

69) Nadeau, R., Rappaport, L. & Stolp, C.F. (1972) *Planta (Berl.)*,
107, 315.

15 70) Semdner, G., Weiland, J., Aurich, O. & Schreiber, K. (1968)
in *Plant Growth Regulators*, SCI Monograph Vol. 31, 70.

71) 中島哲夫. (1969) *植物の化学調節*. 4. III.

72) Durley, R.C., Railton, I.D. & Pharis, R.P. (1973) *Phytochemistry*,
12, 1609.

73) Beeley, L.J., Gaskin, P. & MacMillan, J. (1975) *ibid.*, 14, 779.

74) 山根久和、室伏旭、長田英雄、高橋信孝、日本農芸化学会昭和50年度大会講演要旨集。

75) Murofushi, N., Durley, R.C. & Pharis, R.P. (1974) Agr. Biol. Chem., 38, 475.

5 76) Bray, G.A. (1960) Analyst. Biochem., 1, 279.

77) Ishibashi, T. & Kametaka, M. (1974) Jap. J. Zootech. Sci., 45, 165.

78) 山崎幸苗、福井宏至、小清水弘一、三井哲夫、日本農芸化学会昭和49年度大会講演要旨集、160.

79) MacMillan, J. (1975) 私信。

10 80) Frydmann, V.M., Gaskin, P. & MacMillan, J. (1974) Planta (Berl.) 118, 123.

81) Bearder, J.R., Dennis, F.G., MacMillan, J., Martin, G.C. & Phinny, B.O., Tetrahedron Lett., 1975, 669.

15

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、絶えざる御指導、御鞭撻を賜った高橋信孝教授、室伏旭助教授に深く感謝致します。

機器分析は、相沢一行博士をはじめとする東大農芸化学機器分析室の方々、微生物化学研究所の滝田、長縄両博士、日本電子の藤田憲一氏、東大農芸化学の山口五十磨博士にお世話になった。トリチウム標識したジベリリン類の入手に関しては、室伏旭助教授、カリフォルニア大学のR. P. Pharis教授に負うところが大きい。また、生理活性試験に際しては、国際キリスト教大学の勝見允行教授に大変お世話になった。

最後に、材料採取に協力いただき、また、多くの有益なる助言をしていただいた農薬学研究室の方々に深謝致します。