



Title	各種化合物の植物細胞に対する凍害防御作用
Author(s)	酒井, 昭; SAKAI, Akira; 吉田, 静夫 他
Citation	低温科学. 生物篇, 26, 13-21
Issue Date	1968-11-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17734">https://hdl.handle.net/2115/17734</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	26_p13-21.pdf



## 各種化合物の植物細胞に対する凍害防御作用\*

酒井 昭・吉田 静夫

(低温科学研究所 植物凍害科学部門)

(昭和 43 年 9 月受理)

### I. 緒 言

前報<sup>1,2)</sup>において、耐凍性の高いキャベツの細胞を用いて糖、多価アルコール、無機塩類などの凍害防御作用を調べた。その結果、溶解度が高く、共融点の低い物質で、高濃度でも害作用の少ない物質は凍害防御効果が大きいことがわかった。

Lovelock<sup>3,4)</sup> は血球、精子に対する凍害防御作用は、細胞内に透過する溶質にかぎると報告しているが、糖、糖アルコールのような細胞内に透過しない溶質も、キャベツの細胞に対して著しい凍害防御作用を示した。また  $-10^{\circ}\text{C}$  での凍結にしか耐えないキャベツの細胞を 1 M のグルコース溶液につけて  $-5^{\circ}\text{C}$  で凍結し、ゆっくりと冷却するばあいには、 $-70^{\circ}\text{C}$  以下の温度にも耐えた<sup>1,2)</sup>。

前報<sup>1,2)</sup>につづき、キャベツの細胞を用いて、化学構造の異なる約 70 種類の化合物の凍害防御作用を調べた。その結果、グリシンの N-メチル誘導体を始め、新たに数種類の効果の高い凍害防御物質を見出したので報告する。

ベタインアルデハイドとメチオニンスルフォキサイドの合成および種々の助言をいただいた匂坂助教授に謝意を表します。

### II. 材料と方法

実験材料としてキャベツ *Brassica oleracea capitata*, D. C. の葉柄の柔細胞を用いた。なお材料は主として冬の材料を用いた。同一系列の実験には同一の葉からとった切片のみを、また一つの実験には組織切片 10~15 個を用いた。

葉柄から切取った 1~2 細胞層の縦断切片を 0.5 ml の媒液の入っている小試験管に入れ、 $-5^{\circ}\text{C}$  で凍結後、 $5^{\circ}\text{C}$  ずつ低い恒温箱に順次移して所定温度まで冷却した。所定温度に達してから 2 時間後に取出して  $0^{\circ}\text{C}$  の部屋でと化した。

融解後、組織切片は中性赤溶液で染色してから平衡塩溶液中で原形質分離させた。細胞の外観に異常がなく、細胞が中性赤溶液に染まり、しかも正常に原形質分離している細胞は害を受けていないものとみなした。必要なばあいには 2 倍の高調塩溶液と水とで原形質分離と復帰

\* 北海道大学低温科学研究所業績 第 915 号

を2回繰返した後、なお正常に染まり、正常に原形質分離しているか否かを調べた。耐凍性の高さは、ある温度で凍結させたときの生存率か、またはほとんどの細胞が生存している最低温度であらわした。化合物のうち中性でないものは、予め苛性ソーダ、または塩酸で中和し、ナトリウム塩、または塩酸塩にして用いた。

実験には下に記す約70種類の化合物を使用した。

#### 糖類およびその誘導体

1. 単糖類： D-グルコース，DL-グリセロアルデハイド
2. 少糖類： サッカロース，ラフィノース
3. 多価アルコール： マンニトール，ソルビトール，ザイリトール，グリセロール，エリスリトール，エチレングライコール
4. アミノ糖： D-ガラクトサミン，D-グルコサミン
5. エステル類： DL- $\alpha$ -グリセロリン酸，DL- $\beta$ -グリセロリン酸
6. 配糖体： メチル  $\alpha$ -D-グルコサイド，サリシン
7. ウロン酸： D-グルクロン酸，D-ガラクツロン酸

#### アルコール

メタノール，エタノール，ブタノール，tert-ブタノール，レゾルシノール

#### アמידおよびその誘導体

フォルムアמיד，N-メチルフォルムアמיד，N,N-ジメチルフォルムアמיד，アセトアמיד，N-モノメチルアセトアמיד，N,N-ジメチルアセトアמיד，ラクトアמיד，グリシンアמיד

#### アミンおよびその誘導体

トリメチルアミン，トリエチルアミン，トリメチルアミン-N-オキサイド

#### 尿素およびその誘導体

尿素，モノメチル尿素，1,3-ジメチル尿素，1,1-ジメチル尿素，テトラメチル尿素

#### アミノ酸およびその誘導体

グリシン，N-アセチルグリシン，グリシル-グリシン，L-システイン，DL-ホモシステイン，L-セリン，L-アスパラギン酸，L-グルタミン酸，L-スレオニン，L-ヒドロキシプロリン， $\alpha$ -アミノ酪酸，N-メチル-2-ピロリドン，パントテン酸，L-メチオニン，L-メチオニンスルフォキサイド

#### N-メチル誘導体

N-メチルグリシン，N,N-ジメチルグリシン，ベタイン，ベタインアルデハイド，コリン，アセチルコリン，2-メチルアミノエタノール，2-ジメチルアミノエタノール，N,N-ジメチルアスパラギン酸

#### オキシカルボン酸

乳酸カリウム，L-アスコルビン酸

非窒素系含硫化合物

ジメチルスルフォキサイド (DMSO), ジメチルセチン, 2-メチルメルカプトエタノール  
高分子化合物

ポリビニールピロリドン (PVP), ポリエチレングライコール, 牛の血清アルブミン, 牛の血清

複合脂質類

セファリン, レシチン, パルミチン酸蔗糖モノエステル, デセニルコハク酸

III. 結 果

各化合物の 0.5 M 溶液に浸して  $-5^{\circ}\text{C}$  で凍結したとき, 約 10 種類の化合物はこの凍結に耐えなかった。なおキャベツの細胞は水につけて凍結するばあいには,  $-5^{\circ}\text{C}$  での凍結に耐えられなかった。これらの 10 種類の化合物のうちレンチン, ホモシスティン, レゾルシノール, トリメチルアミン, トリエチルアミン, メチルアミノエタノール, ジメチルアミノエタノールは室温で 15 分間これらの 0.5 M 溶液中に浸しておくだけで害を受けた。これらのうち最後の 4 つの化合物は強いアルカリ性である。テトラメチル尿素, アスパラギン酸, セリン, スレオニンの 0.5 M 溶液中にキャベツの細胞を室温で 20 分間浸しておいたばあいには薬害はないが,  $-5^{\circ}\text{C}$  での凍結に耐えられなかった。

第 1 表 凍害防御作用のない化合物 (0.5 M 水溶液)

常温で薬害あるもの	常温で薬害なく $-5^{\circ}\text{C}$ で凍害あるもの*	$-7^{\circ}\text{C}$ で凍害あるもの*
ホモシスティン	テトラメチル尿素	シ ス テ ィ ン
レ シ チ ン	アスパラギン酸	グ リ シ ン
レゾルシノール	セ リ ン	サ リ シ ン
トリメチルアミン	ス レ オ ニ ン	1,1-ジメチル尿素
トリエチルアミン	ジメチルアスパラギン酸 (0.2%)	tert-ブタノール
N-メチルアミノエタノール		デセニルコハク酸 ( $10^{-3}\text{M}$ )
ジメチルアミノエタノール		パルミチン酸蔗糖モノエステル (10%)
		2-メチルメルカプトエタノール ( $10^{-2}\text{M}$ )

\* 水に浸して凍結したときはキャベツの細胞は  $-5^{\circ}\text{C}$  の凍結に耐える

第 2 表に, 凍害防御効果は確実にあるがその作用の弱い化合物を示す。これらの化合物は  $-7\sim-10^{\circ}\text{C}$  の凍結にはキャベツの細胞を生存させるが,  $-15^{\circ}\text{C}$  での凍結にはほとんど効果を示さない。

第 3 表に, 凍害防御作用が高いか, または中程度の化合物を示す。

上の結果は各化合物の 0.5 M 水溶液中にキャベツの細胞を浸して凍結させたばあいである。高い凍害防御効果を示した 11 種類の化合物について, さらにそれらの効果を比較するために, キャベツの細胞を各化合物の 1 M 溶液に浸して,  $-30, -50$  および  $-70^{\circ}\text{C}$  の各温度まで冷却してそれらの化合物の凍害防御効果を比較した。第 4 表にその結果を示す。以上の結果

第2表 凍害防御作用の弱い化合物 (0.5 M 水溶液)

-7°Cでの凍結に有効	-10°Cでの凍結に有効
ラフィノース	グルクロン酸
マンニトール	ヒドロオキシプロリン
グルコサミン	グルタミン酸
ガラクトロン酸	フォルムアמיד
ジメチルアセトアמיד	メチルフォルムアמיד
アセチルグリシン	モノメチル尿素
尿 素	ジメチルセチン
$\alpha$ -アミノプチレート	N-メチルピロリドン
$\alpha$ -グリセロリン酸	アセチルコリン
$\beta$ -グリセロリン酸	
コ リ ン	

第3表 中程度または高い凍害防御作用を有する化合物 (0.5 M 水溶液)

-15°Cの凍結に有効	-20°Cの凍結に有効	-20°Cの凍結に有効
アスコルビン酸	サッカロース	グルコース
アセトアמיד	ソルビトール	メチル $\alpha$ -D-グルコサイド
メチルアセトアמיד	メタノール	ザイリトール
ジメチルフォルムアמיד	エチレングライコール	エリスリトール
ベタインアルデハイド	ペンタテン酸	グリセロール
牛の血精	乳酸カリ	ベタイン
キャベツの葉の搾汁 (0.4 M)	乳酸アמיד	トリメチルアミン-N-オキサイド
ニセアカシアの皮層組織の搾汁*	1,3-ジメチル尿素	
	ジメチルスルフォキサイド	
	グリセロアルデハイド	
	メチルグリシン	
	ジメチルグリシン	
	メチオニンスルフォキサイド	

\* 冬のニセアカシアの幹の皮層組織の搾汁 (約 1.4 M)

第4表 各化合物の凍害防御効果の比較 (1 M 水溶液)

化合物の種類	凍結温度 (°C)		
	-30	-50	-70
グルコース	100	100	80
サッカロース	100	60	60
ザイリトール	100	60	50
エリスリトール	100	10	0
ベタイン	100	10	0
グリセロール	100	10	0
ジメチルスルフォキサイド	100	10	0
エチレングライコール	100	0	0
トリメチルアミン-N-オキサイド	100	0	0
ジメチルグリシン	45	0	0
メタノール	20	0	0

から、もっとも凍害防御効果の高い化合物は糖と糖アルコールで、これらの1M溶液にキャベツの細胞を浸したときには $-70^{\circ}\text{C}$ の凍結にも半数以上の細胞が耐えた。しかしその他の化合物は、 $-50^{\circ}\text{C}$ 以下の温度では凍害防御効果を示さなかった。この実験で高い凍害防御作用が新しく見出された化合物はメチルグリシン、ジメチルグリシン、ベタイン、メチオニンスルフォキサイド、トリメチルアミン-N-オキシド、パントテン酸、ザイリトール、乳酸アמיד、グリセロアルデハイド、1,3-ジメチル尿素である。

#### IV. 考 察

本実験では、細胞外凍結の状態で緩慢に冷却したばあいに見られる凍害に対する各溶質の防御効果を問題としている。こうした条件で細胞外凍結したばあいにおこる害は脱水による害と認められる。

水素結合をつくる能力を欠く化合物は、水素結合で高度に組織化された水の構造中に入れないので、非電解質の水に対する溶解度はそれらの溶質の水素結合をつくる能力に支配される。酸素や窒素のように化合物の非対電子が水と同程度か、それより強い水素結合を作ることができる化合物は水によくとける。溶質の水素結合をつくる部位は一次的に結合した水だけでなく、溶質のまわりのある範囲にある水を定位、配向させる。そのため、これらの水の分子運動が抑えられ、細胞にとっては溶媒として利用されるが、凍結しにくい状態におかれるものと思われる。したがってこれらの溶質の存在下で凍結すれば、細胞外凍結の害は抑えられるものと考えられる。しかし凍害防御作用の効果が溶質のもっている水素結合をつくりうる基の濃度だけで説明できるか否か明らかでない。凍害防御物質が蛋白質の表面の水和を破壊することを防ぐことのほかに、蛋白質の構造を安定させるのに不可欠な疎水結合に対してどのように働くか、現在のところよくわからない。

Lovelock等<sup>3,4)</sup>は、水に対する溶解度が高く、分子量が小さく、薬害のない中性物質でしかも細胞内に透過しやすい物質はどれも凍害防御効果をもっていると述べている。なおその凍害防御作用は溶質の種類に関係なく、束一的性質で規定されると述べている。また彼等は、それらの溶質の濃度の増大のために、細胞内の塩濃度が、凍結中に有害な程度にまで高まることを抑えることにたと述べている。彼は動物細胞で細胞内に透過しないサッカロースや、わずかしこ透過しないグルコースは、透過しやすいグリセロール、DMSO、エチレングライコールより効果が非常に少ないと報告している。しかし彼の実験結果をみると、これらの糖もかなりの効果をもっている。Doebbler and Rinfret<sup>5)</sup>は赤血球に対する凍害防御効果を多くの化合物を用いて調べた結果、糖がグリセロールと同じ程度の効果を有することを明らかにした。長瀬<sup>7)</sup>も牛の精子で同様のことを確めている。また Vos and Kaalen<sup>8)</sup>は肝臓の培養細胞を緩慢に凍結したとき、凍害防御作用の大きかった物質として糖、糖アルコール、DMSO、多価アルコール、グリコール誘導体、アミドおよびその誘導体をあげている。

Doebbler等<sup>5)</sup>の実験を始め、動物細胞を用いた実験では、 $-70^{\circ}\text{C}$ 以下の液槽中に入れて急速冷却したばあいの凍害を扱っているばあいが多い。急速冷却と緩慢凍結による凍害とはその

作用機構が同じとはいえないので、化合物の凍害防御作用の機構を考えるばあいには、冷却条件に考慮を払うことが必要である。キャベツの細胞では、溶解度の小さいラフィノース、マンニトール、イノシトールはわずかしか効果がないが、急速冷却のばあいには、これらの化合物はかなりの効果をもっている<sup>9)</sup>。また Rapatz and Luyet<sup>10)</sup> は赤血球を用い、DMSO やグリセロールの 10% 水溶液は  $-100^{\circ}\text{C}$  以下の液槽中に入れて急速に冷却するばあいには糖とちがって凍害防御作用が少ないが、約  $-20\sim-30^{\circ}\text{C}$  の液槽中に入れて冷却するばあいには著しい効果があることを明らかにしている。なお後者のばあいには糖はほとんど効果を示さない。

一般に動物細胞のばあいには、ポリエチレングライコール、PVP、血精等の高分子化合物は急速冷却のときには高い凍害防御効果を示すことが知られているが<sup>5,11-13)</sup>、緩慢凍結のときにはその効果は非常に低い<sup>8)</sup>。植物細胞では高分子化合物は緩慢凍結<sup>1)</sup>しても急速冷却<sup>9)</sup>しても、その効果は非常に低い。ただし、キャベツの細胞を牛の血精中で凍結させると、かなりの凍害防御効果があるが、このばあい血精中のどの成分に効果があるかまだ確めていない。Heber and Ernst<sup>13)</sup> は耐凍性のあるホウレン草のクロロプラストの膜から抽出した蛋白質（フラクション II）がクロロプラストの膜でおこる光燐酸化と電子伝達に関する酵素の凍結による活性の低下を著しく抑えることを明らかにした。そしてその蛋白質の効果は 0.1% 溶液で著しい効果があるが、サッカロースでは同程度の効果を得るのに 1% の濃度が必要であると述べている。しかしこの実験では、サッカロースと蛋白質フラクション II との効果の比較方法に問題があるように思う。なお彼等の実験では、試料を  $-25^{\circ}\text{C}$  の液槽中に入れて凍結し、酵素活性の変化を比較しているが、冷却速度や凍結温度をかえたとき、その蛋白質とサッカロースの効果はどう変るかについては調べていない。

陸上植物の細胞を緩慢凍結するばあいには糖と糖アルコールのみが  $-70^{\circ}\text{C}$  の温度でも凍害防御効果を示すが<sup>1)</sup>、それ以外の物質、たとえばグリセロール、DMSO、エチレングライコール、ベタイン等は  $-50^{\circ}\text{C}$  以低ではまったく効果を示さなかった。しかし藻類では DMSO、エチレングライコールも  $-70^{\circ}\text{C}$  以低で効果を示すことが知られている<sup>14)</sup>。

ポプラ、トドマツ、クワ、ニセアカシアの冬の枝の皮層組織から搾汁をとり、その中にキャベツの細胞を浸して凍結させた。その結果、ニセアカシアの搾汁のみは凍害防御効果を示したが、他の木からの搾汁中で凍結したばあいにはほとんど効果が認められなかった。用いた皮層組織はいずれも  $-70^{\circ}\text{C}$  以下の凍結に耐えることから考えて、マイナスの効果を有する物質が細胞内にそのままの形でもともと存在していたとは考えがたい。組織中の非細胞部分に存在していたか、搾汁をとる操作中に生じたとしか考えがたい。天然物中の凍害防御物質を検索するには、このマイナスの効果をもつ物質を取除かなければならない。いずれにしてもこうした物質が搾汁中に存在していることは興味あることである。

グリシン、グリシルグリシン、グリシリアミド、フォルミルグリシンは凍害防御効果がないか、あるいはわずかであるが、グリシンの N-メチル誘導体はグリシンと比較して溶解度も高く、著しい凍害防御効果が認められた。なおメチル基の増加につれてその効果は増し、グリシンのトリメチル誘導体であるベタインはその効果をもっとも高かった。しかしベタインの

カルボキシル基が還元されたベタインアルデハイドはその効果はかなり減少し、それをさらに還元してコリンにすると、その効果は非常に少なくなることは興味あることである。コリンの水溶液に浸して  $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結したばあいには細胞の多くは原形質分離しているが、異常のものが多し。コリンよりアセチルコリンの方がその異常の度合いが少ない。なおモノメチルグリシン(サルコシン)とベタインが天然の植物体中に含まれていることが知られているので、これらの含有量も調べてみたい。なお、N,N-ジメチルグリシンはS,S-ジメチルセチンより凍害防御効果はかなり高いが、両者の化学構造上のちがいはメチル基がついている原子が窒素であるか、硫黄であるかに帰せられる。

フォスファチドの含窒素構成成分であるフォスファチジルコリン(レシチン)、フォスファチジルエタノールアミン(セファリン)、モノメチルエタノールアミン、ジメチルエタノールアミンはいずれも葉害が著しかった。これらの物質と関連してセリン、メチオニン、ホモスチン等を調べたところ、葉害はないが効果は認められなかった。しかしメチオニンは溶解度が小さいし効果も少ないが、これを酸化したメチオニンスルフォキサイドは水に対する溶解度も高いし、DMSOと同程度の凍害防御効果を示した。

植物体内には多くのフェノール配糖体が含まれている。ことにヤナギ、ポプラ、ブンゲンストウヒにはそれぞれサリシン、ポプリンおよびブンゲニンが含まれていて、いずれも秋から冬にかけてかなり増加する。ヤマヤナギの枝の皮層部には、冬の間サリシンが生重量当り約1%、ブンゲンストウヒにはブンゲニンが約1.5%含まれている<sup>15)</sup>。これらの配糖体の生理的意義、ことに耐凍性に対する役割は現在わかっていない。サリシンは水に対する溶解度が小さいし、またキャベツの細胞に対して凍害防御効果を示さなかった。デセニルコハク酸<sup>16)</sup>は植物に葉面散布したとき、その耐凍性を高めるといわれているが、キャベツの細胞には効果が少なかった。また Paricha and Levitt<sup>18)</sup> が乾燥抵抗に対して効果を認めているメルカプトエタノールも葉害はないが効果は認められなかった。

本実験で用いた溶質のうち、エチレングライコール、メタノール、DMSOを除く大部分の化合物はキャベツの細胞内に透過しない。またキャベツの細胞をグルコース溶液に浸しておく時間は効果にほとんど関係ないし、グルコースに浸しておいた細胞を水で洗うと効果はまったくみられなくなる。なお使用する糖の濃度は低調溶液でもかなりの効果があるが、ある程度まで濃い方が効果が大きい。水に浸して凍結させたときは  $-10^{\circ}\text{C}$  での凍結にしか耐えない細胞が、1M以上のグルコース溶液に浸して凍結するときには  $-70^{\circ}\text{C}$  以下の凍結にも耐えた<sup>1,2)</sup>。

前報<sup>1,2)</sup> で述べたように、キャベツの葉を室温で平衡塩溶液中に挿しておき、細胞内の塩濃度を高めたキャベツの細胞を1.0~1.5Mのグルコース溶液中で凍結させたとき、 $-25^{\circ}\text{C}$  の凍結には充分耐えたし、かなりの細胞が  $-30^{\circ}\text{C}$  での凍結にも耐えた。これらのことは細胞内の塩濃度の高まりが凍害の一次的原因ではないことを示している。またキャベツの葉をグリセリンの低調溶液中に浸して細胞内のグリセリン濃度を高めた細胞を、水を媒液として凍結させたときには、凍害防御効果は少ないが、糖液中で凍結させたときは  $-30^{\circ}\text{C}$  の凍結に耐えた。さらに水に浸したとき  $-5^{\circ}\text{C}$  の凍結に耐えなかったキャベツの細胞が、キャベツの葉柄から

取った搾汁 (0.4 M) に浸して凍結させたとき、 $-15^{\circ}\text{C}$  での凍結にも耐えた。これらの事実は、細胞内の構成要素よりも原形質膜の表層が凍害をもっとも受けやすい部位であることを示しているものと考えられる。

本実験では糖が細胞内に透過しないことを原形質復帰の方法で確めたが、この方法では糖がわずかしか透過しないばあいには、透過するか否かわかりにくい。したがってこの問題を明らかにするためには、オートラジオグラフで糖が細胞内に実際に透過しているかどうか、もし透過しているばあいには細胞のどの部分にそれが存在しているかを確めることが必要である。

## V. 摘 要

キャベツの細胞を用いて、約 70 種類の化学構造のことなる化合物の緩慢凍結に対する凍害防御効果を調べたところ次の結果が得られた。

1. 水にとけやすい糖、多価アルコールおよびグリシン、アミド、尿素の N-メチル誘導体の中に高い凍害防御効果を有するものが多く認められた。
2. 用いた化合物のうちでは、グルコース、サッカロース、ザイリトールは  $-50^{\circ}\text{C}$  以低の温度でも凍害防御効果をもっていたが、それ以外の化合物は  $-30^{\circ}\text{C}$  以高の温度においてのみ効果があった。
3. つぎの化合物において、あらたに高い凍害防御効果が見出された。N-メチルグリシン、N,N-ジメチルグリシン、ベタイン、L-メチオニンスルフォキサイド、パントテン酸、トリメチルアミン-N-オキシド、乳酸アミド、1,3-ジメチル尿素、グリセロアルデハイド。

## 文 献

- 1) 酒井 昭 1961 植物細胞の凍害の機構 I. 凍害に対する媒液の影響 (1). 低温科学, 生物篇, **19**, 1-16.
- 2) Sakai, A. 1962 Mechanism of the protective action of sugars against frost injury in plant cells. *Nature*, **193**, 89-90.
- 3) Lovelock, J. E. 1954 The protective action of neutral solutes against haemolysis by freezing and thawing. *Biochem. J.*, **56**, 265-270.
- 4) Lovelock, J. E. and Polge, C. 1954 The immobilization of spermatozoa by freezing and the protective action of glycerol. *Biochem. J.*, **58**, 618-622.
- 5) Doebbler, G. F. and Rinfret, A. P. 1962 The influence of protective compounds and cooling and warming conditions on hemolysis of erythrocytes by freezing and thawing. *Biochem. Biophys. Acta*, **58**, 449-458.
- 6) Doebbler, G. F. 1966 Cryoprotective compounds: Review and discussion of structure and function. *Cryobiology*, **3**, 2-65.
- 7) Nagase, H. 1966 Artificial insemination—Deep freezing bull, goat and stallion semen in concentrated pellet form. *Japan Agricul. Res. Quart.*, **1**, 1-10.
- 8) Vos, O. and Kaalen, M. C. A. C. 1965 Prevention of freezing damage to proliferating cells in tissue culture. A quantitative study of a number of agents. *Cryobiology*, **1**, 249-260.
- 9) 酒井 昭 1968 超低温における植物組織の生存 VII. 耐凍性の低い細胞を超低温で生存させる方法. 低温科学, 生物篇, **26**, 1-13.
- 10) Rapatz, G. and Luyet, B. 1965 Effect of cooling rates on the preservation of erythrocytes in

- frozen blood containing various protective agents. *Biodynamica*, **9**, 333-350.
- 11) Nash, T. 1963 Similar effect of various neutral solutes on the survival of *Aerobacter aerogenes* and of red blood cells after freezing and thawing. *Nature*, **194**, 1113.
  - 12) Nash, T. 1962 The chemical construction of compounds which protect erythrocytes against freezing damage. *J. Gen. Physiol.*, **46**, 167-175.
  - 13) Heber, U. and Ernst, R. 1966 A biochemical approach to the problem of injury and frost hardiness. In *Cellular Injury and Resistance in Freezing Organisms* (É. Asahina, ed.), Inst. Low Temp. Sci., Sapporo, 63-77.
  - 14) Terumoto, I. 1966 Frost resistance in algae cells. In *Cellular Injury and Resistance in Freezing Organisms* (É. Asahina, ed.), Inst. Low Temp. Sci., Sapporo, 191-209.
  - 15) 吉田静夫 未発表.
  - 16) Kuiper, P. G. C. 1964 Inducting resistance to freezing and desiccation in plants by decenylsuccinamic acid. *Science*, **146**, 544-546.
  - 17) Paricha, P. C. and Levitt, J. 1967 Enhancement of drought tolerance by applied thiols. *Physiologia Plantarum*, **20**, 83-89.

### Summary

About 70 compounds varying in chemical structure were tested for their ability to protect cabbage leaf cells from freezing injury by slow cooling and rewarming. A high rate of protection was provided by sugars, polyhydric alcohols, amides and N-methyl derivatives of glycine, urea and amide. Of these compounds, however, only glucose, sucrose and xylitol were effective against freezing below  $-50^{\circ}\text{C}$ , as compared with other compounds used here.

In the present experiment, it was also found for the first time that the following compounds provided a highly protective action: N-methylglycine, N,N-dimethylglycine, betaine, methioninesulfoxide, pantothenic acid, trimethylamine-N-oxide, 1,3-dimethylurea, lactoamide, xylitol and D-glyceraldehyde.

低温科学生物篇 第26輯 訂正

頁	行	誤	正
英文目次	上から 5	<i>Aakira</i>	<i>Akira</i>
"	上から 18	npon	upon
16	第3表の 7	血精	血清
17	下から 6	長瀬	永瀬
18	上から 8	血精	血清
18	上から 11	血精	血清
18	上から 12	血精	血清
27	上から 3, 4	真冬と春さきおよび…… ……各凍結温度	真冬に 20°C で1週間 dehardening した前後 および真冬と春さき に、各凍結温度……
65	上から 1	-20~-25°C	20~25°C
65	上から 3	(第2図2)	(第1図2)
65	下から 14	2~3°C/分	1°C/2~3分
67	上から 2	かかわらぬ	かわらぬ
67	上から 2	使っている	保っている
69	上から 18	行なわれもの	行なわれるもの
74	第2表脚註	翅	翅
78	上から 2	脊走筋	背走筋
78	下から 11	脊面	背面
78	下から 19	脊面	背面
85	下から 4	快復	回復
88	上から 8	神経感覺器管	神経感覺器官