

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

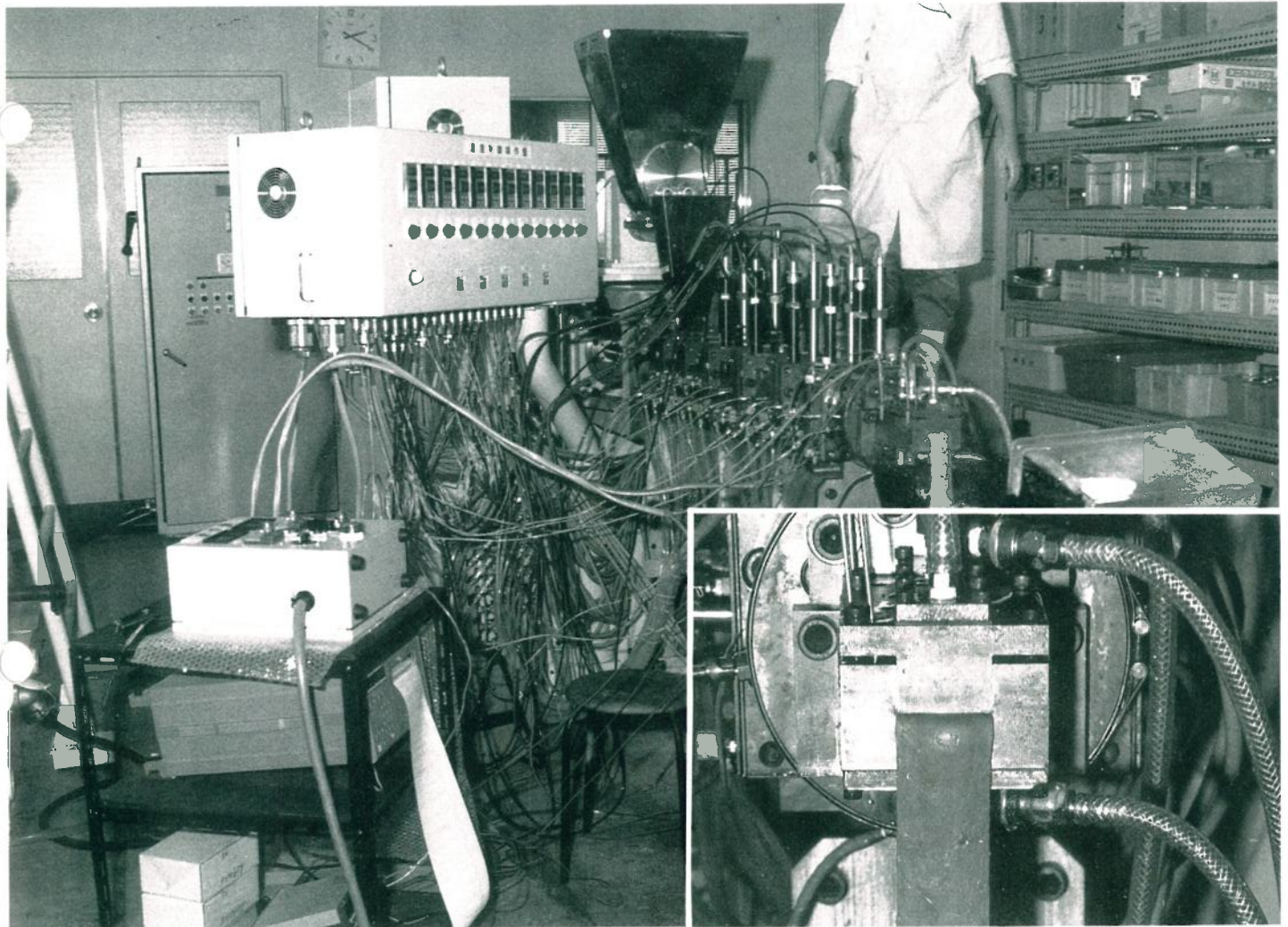
TECHNO NEWS

〈生研機構〉

ブレインテクノニュース

第9号

SEPTEMBER 15, 1988



二軸エクストルーダーによる
植物タンパクの組織化

本文21ページ参照

本号の紙面

国内情報	1
赤潮生物、病原菌による雑草防除、 ダイズ種子7Sグロブリン	
文献情報	12
CMVサテライトRNA、トウモロコシの 形質転換、エアゾール性フェロモン トウモロコシのショ糖合成遺伝子	
国際学会レポート	18
国際放線菌学会議	
特別情報	21
食品加工・流通新技術	
お知らせ	28

目 録

国内情報

- 赤潮生物シャットネラの生活様式と赤潮の発生予知…………… 1
- 病原菌による水田雑草クログワイの防除…………… 5
- ダイズ種子塩基性7Sグロブリン…………… 8

文献情報

- キュウリモザイクウイルスのサテライトRNAによるトマト壊疽
の誘導とヌクレオチド配列との相関関係…………… 12
- トウモロコシプロトプラスト由来の形質転換個体…………… 13
- 鱗翅目ヒトリガ科 *Pyrrharctia isabella* 雌が
エアゾールとして放出する性フェロモン…………… 14
- トウモロコシにおける2種の非対立性ショ糖合成遺伝子：
sucrose synthase-2遺伝子のクローニング，発現
および制限酵素地図…………… 15

国際学会レポート

- 第7回国際放線菌学会議…………… 18

特別情報

- 食品加工・流通における新技術…………… 21

お知らせ

- 生研機構催しもの予定について…………… 28
- 微生物遺伝資源配布目録について…………… 28

病原菌による水田雑草クログワイの防除

(本文 5 頁参照)



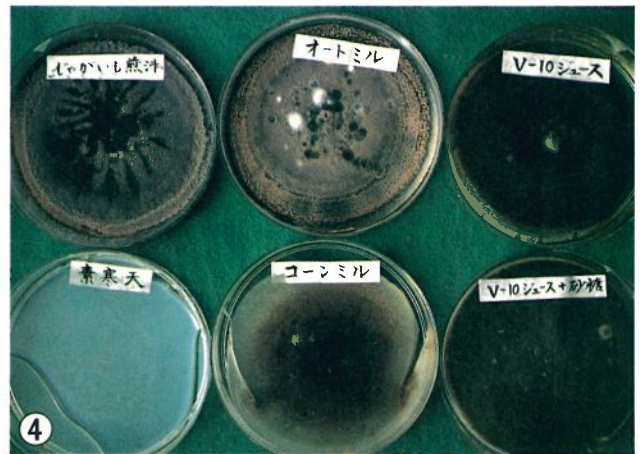
クログワイの茎の病斑



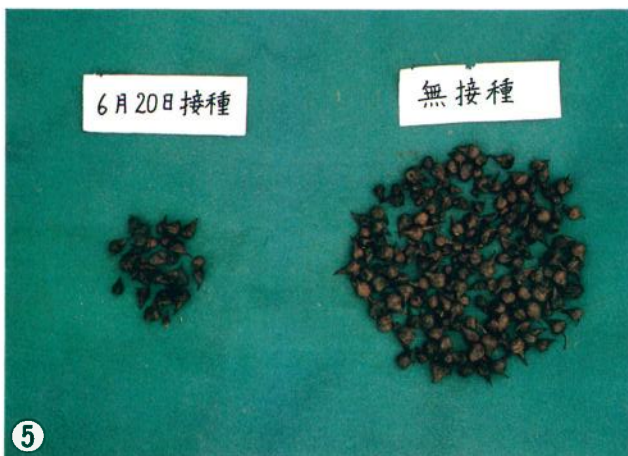
病原菌の分生胞子



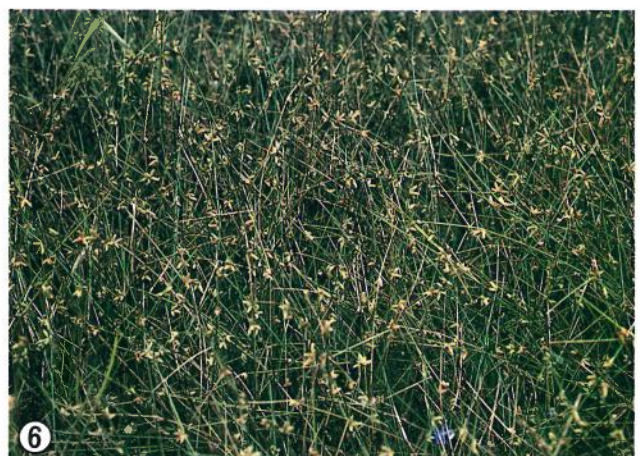
自然発病により枯死したクログワイ



培地の種類と分生胞子の形成



発病クログワイの枯死に伴う塊茎の減少



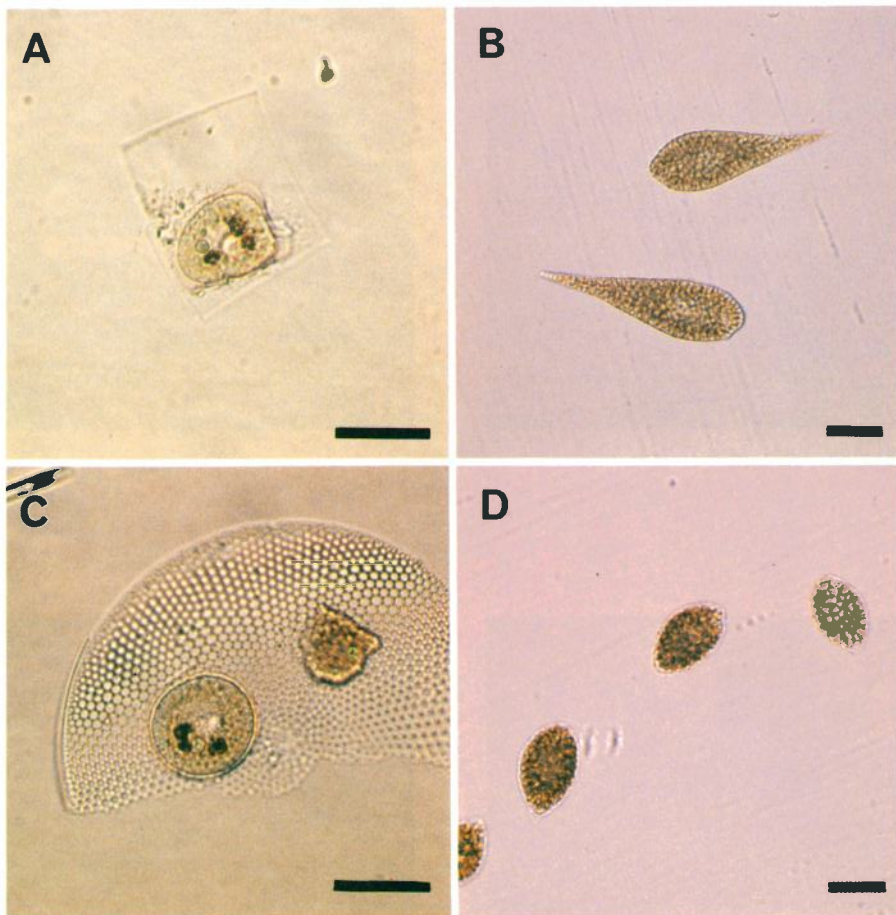
ホタルイの自然発病

赤潮生物シャットネラの生活様式と赤潮の発生予知

(本文 1 頁参照)



赤潮の発生状況



有害赤潮生物シャットネラのシストと栄養細胞 (棒線は30 μ m)

- A : *Chattonella antiqua* のシスト
- B : Aのシストから発芽後に培養した栄養細胞
- C : *C. marina* のシスト (中心目珪藻の被殻に付着している)
- D : Cのシストから発芽後に培養した栄養細胞

国内情報

赤潮生物シャットネラの生活様式と
赤潮の発生予知農林水産省水産庁南西海区水産研究所
今井一郎

はじめに

赤潮は、水中の微小生物、とくに植物プランクトンの大量増殖や集積による着色現象として知られる。我が国沿岸水域においては、昭和40年代以降、赤潮が頻発するようになり、深刻な漁業被害を生じることが多く、大きな社会問題となっている。漁業被害を与える赤潮生物の中でも、ラフィド藻の仲間であるシャットネラ (*Chattonella antiqua* と *C. marina*) は大規模な赤潮を形成し、天然魚類およびハマチやタイ等の養殖魚類を大量斃死させることで有名であり、被害額も群を抜いて大きい。シャットネラによる赤潮は、昭和44年夏季に広島湾で初めて確認された。その後、日本海側では舞鶴湾以西、太平洋側では三河湾以西の西日本各地の沿岸水域で発生が確認されており¹⁾、とりわけ瀬戸内海において頻繁である。

赤潮による漁業被害を軽減・防止するためには、赤潮の発生を事前に予知することが重要である²⁾。予知の目標としては、その年に赤潮が発生するの否か、発生する場合にはその原因種、発生の時期と期間、発生水域と規模等が挙げられよう。赤潮の発生を予知し、かつ精度を高めるためには、当然のことながら、その発生機構を十分に把握することが前提条件となる。

シャットネラ赤潮の発生機構に関しては、これまで主に増殖生理や物理・化学的環境との関係についての研究が多くなされてきた³⁾。一方、シャットネラ自身の生活史に注目した研究は、重要であるにもかかわらず殆ど皆無であった。とくに越冬のためのシストの確認、

および赤潮発生過程における seed population としてのシストの生態的役割の解明は、発生機構を把握するうえで緊急を要する重要研究課題であるといえる。

現在、水産庁南西海区水産研究所を中心として、「赤潮の発生予知技術の開発に関する研究」(昭和59~63年度)が実施されているが、ここでは、著者らによってこれまでに得られたシャットネラのシストの形態や生理・生態に関する知見を紹介し、赤潮との関連について考察してみたい。

1. シャットネラのシストの形態

シャットネラの生活史においては、越冬形態であるシストが永い間不明であった。海底泥を培養液中で培養すると、シャットネラの栄養細胞が出現してくることが初めて報告されたのは1981年のことであり⁴⁾、それ以後シストの探索に多大な努力が傾注されてきた。海底泥中のシストの形態がようやく確認されたのは1986年のことであり⁵⁾、この間に約5年の歳月が経過した。

シャットネラのシストの形態的特徴^{5, 6)}を以下に紹介する(口絵参照)。発芽前のシストは黄緑色から茶色を呈しており、砂粒や珪藻の被殻等に付着しているものが多く、単独で存在する場合と数個の塊状で存在する場合がある。シストの内部には数個の濃褐色あるいは黒色の斑点が認められる。シストの外壁は平滑で装飾物はない。シストは背面からみると径約25~35 μ mの円ないし楕円形、側面からみると付着面が偏平な高さ約15~25 μ mの概ね半円形をしている。また、後に発芽する時に細胞が抜け出るための構造が存在して

おり、発芽後の空シストにはこの部位に径約7 μ mの円形の開口部が観察された。発芽後24時間以内の栄養細胞は大きさや色調がシストに近いが、その後時間の経過と共に通常の栄養細胞の大きさと色調になった。シストのサイズは、通常の栄養細胞に比べて著しく小さい。なお、重要種である *C. antiqua* と *C. marina* のシストは形態が酷似しており、形態的特徴に基づく両種のシストの識別は不可能であった。

2. シャットネラの年間の生活様式⁷⁾

高等植物の種子においては休眠や成熟に関する研究が、植物プランクトンのシストや休眠胞子に比べて進んでいる。多くの高等植物の種子は、形成直後では発芽の最適条件下でも発芽せず、種子の成熟（発芽能力の獲得）には特定の条件（例えば低温）を一定期間経験することが必要である。このような種子の休眠状態は自発的休眠と呼ばれている。また自発的休眠を完了しても、種子の発芽に不適な環境条件下では発芽は起こらない。このような場合の種子は、環境によって強制された休眠、すなわち後休眠の状態にある。

結論的に述べるならば、シャットネラのシ

ストはこのような高等植物の種子と性質が似ている。シストの休眠、成熟、発芽を含めたシャットネラの年間の生活様式を図1に示した⁷⁾。一般に瀬戸内海においては、シャットネラの栄養細胞は6～9月に海水中に認められ、とくに7～8月に赤潮を形成することが多い。栄養細胞は、底層水温がシストの発芽に適した温度（約20℃前後⁸⁾）に達する初夏に、海底泥表面のシストからの発芽の結果として海水中に出現する。栄養細胞は夏季に表層水中で増殖し、場合によっては赤潮状態になるが、一方でシストを形成する。新しく形成されたシストは海底へと沈降し、そこで自発的休眠の期間を過す。この休眠の解除には、11℃以下の低温条件を約4カ月以上経験することが要求される。従って、秋の降温期に底層水温がシストの発芽に好適な範囲になっても発芽は起こらない。冬季の低水温の時期に休眠の解除（成熟）が進行し、シストは発芽能力を徐々に獲得する。栄養細胞の生存限界温度は約10℃であるので⁹⁾、瀬戸内海においては、栄養細胞での越冬は不可能であろう。春になると自発的休眠の期間を完了し、多くのシストは生理的に発芽可能な状態となる。しかしながら、春から初夏までの期間は底層水温がシストの発芽にとって低過ぎるために

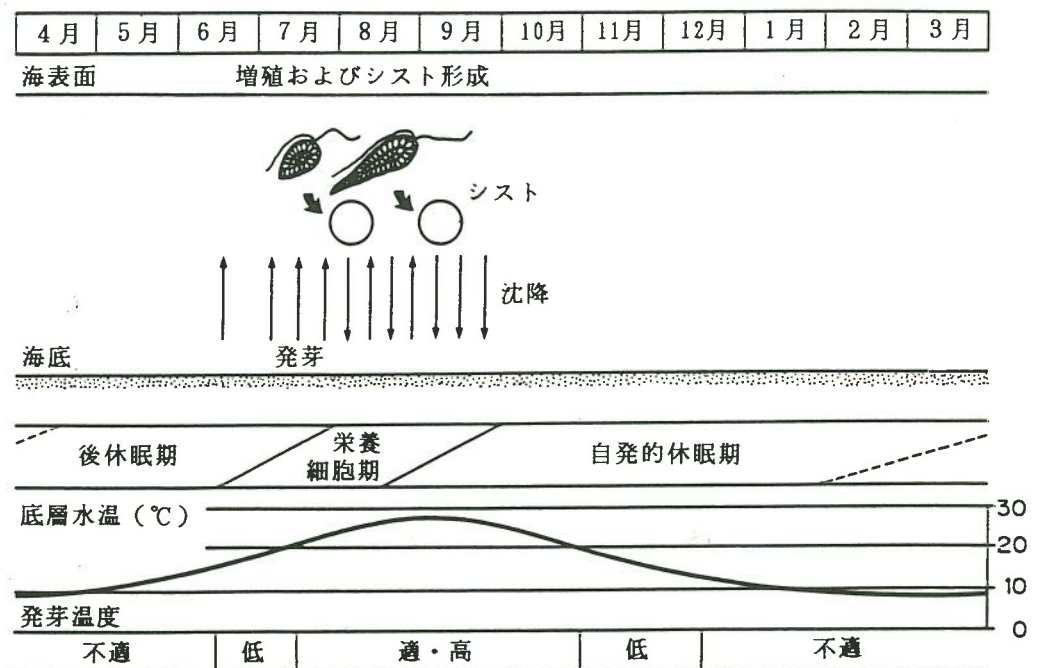


図1 瀬戸内海におけるシャットネラの年間の生活様式についての模式図 (Imai & Itoh, 1987)⁷⁾

発芽できず、後休眠を余儀なくされる。その後、底層水温が上昇して発芽に適した範囲になるとシストは発芽し、栄養細胞が海水中に出現する。

上述のように、シャットネラは年間の大部分（9～10カ月）を海底泥中でシストとして生活している。また、正常に発芽できるシストが海底泥中への埋没等で発芽の機会を失った場合でも、再度休眠して（二次休眠）生き残ることができ、翌年以降に持ち越されることも判明した¹⁰⁾。このことは、シストの寿命が2年以上あることを示しており、赤潮の非発生年が2～3年間連続しても、赤潮発生の危険性が容易にはなくならないことを意味する。

3. 海域におけるシストの分布

前述のようにシャットネラ赤潮においては、seed populationとしてシストが重要な役割を演ずる。海域におけるシストの分布密度を知ることが、赤潮の発生機構を解明するための重要な基礎資料となる。

シャットネラのシストの形態は1986年まで未確認であったが、海底泥試料を培養し、発芽した栄養細胞の出現の有無を基本とする終点希釈法（MPN法）¹¹⁾を用いて、瀬戸内海のいくつかの水域におけるシストの分布を調べてきた^{12～15)}。例として、1985年4月の周防灘海底泥中（3cm深まで）のシストの分布密度を図2に紹介する¹²⁾。シストは灘全域（29定点）から検出されたが分布密度は一様でなく、3～304個/cm³の範囲の値を示した。100個/cm³以上の高密度域は、水深の大きい灘の中央～東部の沖合域に存在したが、南部沿岸域にも局所的に認められた。一般的には水深の浅い沿岸域で密度の低い傾向があった。灘全体の単純平均は67個/cm³であり、3cm深までで1cm²あたりに換算すると202万個となる。この値は、1984年4月の周防灘（191万個）¹³⁾や同年の播磨灘（170万個）¹⁴⁾と近似している。

シストには運動性がないので、恒流等の海況状況がその分布に大きな影響を与えると考えられる。また、シストの濃密域と赤潮の発

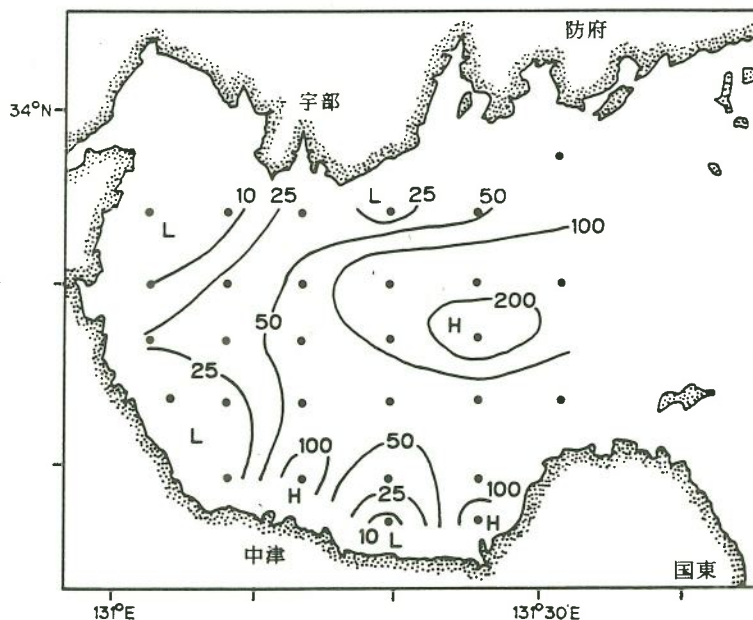


図2 昭和60年4月の瀬戸内海西部周防灘における海底泥中のシャットネラのシストの分布（数字は海底泥1cm³中のシストの数を表わす）今井（1986）¹²⁾

生場所は必ずしも一致しておらず¹³⁾、シストと栄養細胞の集積機構は異なっているものと推察される。現在このような方面の研究は極めて少ないので、今後の取り組みが望まれる。

4. シストと赤潮

シストがシャットネラ赤潮の発生において、第一義的に重要であることは論をまたない。シャットネラは瀬戸内海を中心とする沿岸水域において、シストを越冬の手段にしているからである。これまでの研究によって、シャットネラの年間の生活様式や、シストの分布状態等が明らかにされてきた。シストから赤潮に至る過程では、どのような要因が関与しているのだろうか。

1985年4月の周防灘におけるシストの分布密度は最大304個/cm³であった。この密度は3cm深までで912個/cm³と計算される。これらがある日一斉に発芽しても、栄養細胞が海表面から5mの水柱に均一に分布した場合、細胞密度は2細胞/ml以下にしかない。それゆえ、シストから赤潮に至る過程においては、発芽した栄養細胞の増殖と集積の介在が必要となる。そうだとすると、シストは赤潮発生の初期段階において、やはり重要な役

割を演じているといえよう。

シストの発芽には温度が大きな影響を与えることから、底層水温の推移を知ることが赤潮発生の初期段階の予知に有効と指摘されている^{7,8)}。播磨灘南部水域においては、夏季の底層水温が上昇して20~23℃の範囲(発芽に好適)に早く到達し、しかも比較的長期間維持された年にシャットネラ赤潮がよく発生しており、逆にこの温度範囲の持続期間が短い年は赤潮になりにくい傾向が見出されている¹⁵⁾。前者の場合、シストの発芽を通じて、比較的長期間継続的に海水中へと栄養細胞が補給され、これによってシャットネラの増殖に好適な環境条件と遭遇する確率が高くなったものと考えられる。水産庁の「赤潮対策技術開発試験」において、播磨灘底層水温の年毎の特徴をボックスモデルによって解析した結果、赤潮の発生年には底層水温が高めに推移していることも示された¹⁶⁾。

また、上記試験の結果、7月の播磨灘の鉛直安定度が高い年には赤潮が発生せず、鉛直混合の起こった年に発生しやすいと報告されている。このことは、混合によって底層の栄養塩類が表層に運ばれることを意味するだけでなく、海底の擾乱によってシストの巻き上げが起こり、平穏時に比べてより多くのシストに発芽の機会が与えられることも示唆している。さらに冬季においては、季節風の吹く頻度と播磨灘滞留水の位置が、長期的予察指標として有効といわれている¹⁶⁾。すなわち、灘の滞留水が安定している年に赤潮が発生しやすいという。この場合は、冬季の海底擾乱の頻度が低かったと想像され、その結果シストは灘内に多く保存された可能性が考えられよう。

おわりに

シャットネラ赤潮の発生予知は社会的にも要請が大きく、実用化に向けて予知指標の改良の努力がなされている。シストをめぐる今後の重要研究課題としては、①現場海域の底泥中に存在するシストの実際の発芽量と栄養細胞の出現動態の把握、②シスト発芽の直前

予知指標の探索、③形態的特徴からは識別不可能な *C. antiqua* と *C. marina* のシストの識別法開発、④実験室での培養株を用いたシスト形成条件の解明、等が挙げられる。とくに、④については現在鋭意検討中であり、形成条件が将来明らかになれば赤潮の終息予知へも道が開かれよう。さらに、気象条件の中で赤潮の発生予知に有効な指標を抽出し、中・長期予報を含む天気予報を予知システムへと取り込んでいくことも、将来的に検討すべき課題であると思われる。

文 献

- 1) Ono, C. and H. Takano (1980) *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* No. 102 : 93-100
- 2) 吉田陽一(1980) 赤潮—発生機構と対策 90-104, 恒星社厚生閣
- 3) Iwasaki, H.(1979) *Biochemistry and physiology of protozoa* 357-393, Academic Press
- 4) 秋月友治・北角 至・吉田正雄(1981) 大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究, 昭和55年度研究成績報告書 61-77, 南西水研
- 5) 今井一郎・伊藤克彦(1986) 日本プランクトン学会報 33 : 61-63
- 6) Imai, I. and K. Itoh *Bull. Plankton Soc. Japan* (in press)
- 7) Imai, I. and K. Itoh (1987) *Mar. Biol.* 94 : 287-292
- 8) 今井一郎・伊藤克彦・安楽正照(1984) 日本プランクトン学会報 31 : 35-42
- 9) 矢持 進(1984) 日本プランクトン学会報 31 : 15-22
- 10) Imai, I., K. Itoh and M. Anraku *Red tides: Biology, environmental science and toxicology*, Elsevier (in press)
- 11) Imai, I., K. Itoh and M. Anraku (1984) *Bull. Plankton Soc. Japan* 31 : 123-124
- 12) 今井一郎(1986) 赤潮の発生予知技術の開発に関する研究, 昭和60年度研究報告書 29-37, 南西水研・東海水研
- 13) 今井一郎・伊藤克彦・寺田 和夫・神菌 真人(1986) 日本水産学会誌 52 : 1665-1671
- 14) 今井一郎・伊藤克彦(1985) 南西水研報 No. 19 : 43-52
- 15) 伊藤克彦・今井一郎(1988) 21世紀の漁業と水産海洋研究 228-237, 恒星社厚生閣
- 16) 水産庁(1987) 予察システム確立試験, 昭和61年度赤潮対策技術開発試験報告書, 223 pp. 芙蓉情報センター

[口絵「赤潮の発生状況」は水産航空圏の提供による]

国内情報

病原菌による水田雑草クログワイの防除

農林水産省北陸農業試験場
鈴木穂積

はじめに

水田に生えるクログワイは塊茎で繁殖するが、塊茎は土中深くまで形成し、しかも休眠性があるため発生がばらつき、化学除草剤による除草効果が低い。また塊茎は生存期間が長く、手取りが行われなくなったことで年々発生が増え、難防除雑草といわれている。このような草種に対しては、視点を変えた除草法を開発すべきであり、その一つの方向として微生物防除の方法が考えられる。そこで、病原体を利用して防除できないものか、病原菌の探索と探索した病原菌の利用法について検討してきた。

1. 病原菌の探索

除草に利用できる病原菌の性質は、①病原力が強い、②目的雑草のみを侵す、③伝播範囲が狭い、④人工培養が容易で、多量の胞子を形成する、⑤感染と発病条件が単純である、⑥越冬しない、あるいは越冬できても極く僅かであるなどを備えている必要がある。そこで、これらを念頭に探索してきたところ、ほぼ目的に合致した菌を見つけることができた。この菌に侵されたクログワイ茎の病徴は口絵1に示すとおりで、最初2～3mm大の楕円形でやや陥没した濃緑色の斑紋が現われる。これは数日で茶褐色になり、間もなくそこにやや輪紋状に黒点が形成される。病斑は拡大すると互に癒合し、茎全体を取り巻き、発病2～3週間で枯死する。

病斑上に形成された黒点は分生子構造で表皮上に形成する一層の密集した黒褐色の厚膜

細胞よりなる。この上に分生胞子（以下胞子と省略）が形成される。胞子の大きさは $81 \times 5 \mu$ 、単胞、線虫ないし鎌形、無色である（口絵2）。しかし、形成後時間を経たり、発芽した胞子では2胞に見える。また形成後時間が長くなると空胞の多い細胞になる。胞子の表面は粘液で覆われているため、培地などの胞子集団ではやや橙色に見える。胞子が粘着性をもっていることは、風により胞子が離脱せず、広域に伝播する危険性が少なく、除草に利用しやすい特性である。本菌は横山ら（1988）により、*Epicoccosorus nematosporus* Gen. et sp. nov. とすることが提唱されているので、いままで仮名で Hyphomycetes の1新属菌と呼んでいたが、本名を使用することにする。

2. *Epicoccosorus nematosporus*
菌の除草への利用性

本菌による病害の自然発生推移は、1987年上越市での調査によると、7月下旬に病斑が現われ、しばらくは病勢が緩慢であるが、8月下旬になってようやく急激な増加になる（口絵3）。このような後期になってからの発生でも塊茎の形成は著しく阻害され、激発した場合は翌年初夏のクログワイの発生が著しく減少する。試験的に栽培したクログワイに9月初め（花穂抽出期）、胞子懸濁液を噴霧接種し、11月上旬に塊茎形成を調べたところ、無接種株に比して数が33%、大きさが12%、重さが26%減少した。クログワイは地上部を塊茎形成初期（8月下旬～9月中旬）に刈取ると、塊茎を形成しないか、形成した塊茎も腐敗するので、この時期の茎の刈取りは除草

効果をもつとの報告がある(植木ら, 1969)。そこで、この刈取作業のかわりに病原菌で枯らせば、同様の効果が期待される。

次に、クログワイの自然での発病時期は生育後期である。これはクログワイが生育時期によって感受性を異にするためではないかと考えられたので、発芽を開始した塊茎をポットに移植し、移植後 10, 20, 51, 76, 109, 128 日に孢子懸濁液を噴霧接種して調べた。その結果、いずれの生育時期ともほぼ同程度に発病し、生育時期による感受性に差がないことがわかった。このことから自然でクログワイの生育前半期に発病しないのは、生育時期による感受性の差ではなく、水田における病原菌密度の低いことが原因で、菌濃度を高めれば所望の時期に発病させることができるのではないかと考えられた。

3. 接種源と接種法

水田に繁殖するクログワイを所望の時期に発病させるには、人為的に作成した接種源が必要になる。接種源として菌糸担体と孢子があり、それぞれの作成と接種法を試験したところ、次のとおりであった。

菌糸担体：クログワイの塊茎を水田に移植し、草丈が約30cmに生育した6月に孢子懸濁液を噴霧接種し発病させる。発病したクログワイは刈取り、風乾貯蔵すれば長期間保存できる。これを所望時期にクログワイ繁殖田に挿秧すると、組織に繁殖していた菌糸に孢子が形成され、感染、次いで発病が始まる。

孢子：本菌を簡易に培養できる培養基を検討したところ、ジャガイモ煎汁寒天培地あるいはオートミル寒天培地が選ばれた。両者とも砂糖を加えると、より容易に培養できる。生育最適温度は28℃であるが、生育適温は20～30℃である。そして、15℃では生育が劣り、36℃では生育できない。培地のpHは5.0～7.0では菌叢生育に影響が少ない。

孢子形成に好適な培養基は、菌叢の生育に好適なジャガイモ煎汁寒天培地あるいはオートミル寒天培地に砂糖を加えたものであった。孢子を多量に形成させるには、両培地に菌糸

片を移植し、菌叢がシャーレ全面に伸長したとき(28℃、移植後14日頃)、気中菌糸を洗い除き、蛍光灯で照明する。照明時間は温度約22℃では3日、25℃では2日が必要である。孢子形成適温は28℃にあり、形成適温範囲は25～30℃である。菌叢は古くなると孢子形成能が減退する。シャーレ全面に菌叢が伸長した日からその3日後までが最もよく形成する。最適条件で孢子形成させると、1シャーレ当たり 9×10^8 個が形成される(口絵4)。

孢子による接種と発病：孢子を水に懸濁すると約3時間後から発芽が始まり、経時的に増加し6時間後に90%以上に達する。付着器は約6時間後から形成を始め、9時間後に約25%に達する。しかし、孢子懸濁液が付着器形成以前に乾燥すると、その後孢子を再懸濁しても発芽や付着器形成がおこらず、孢子は死滅する。このように孢子の発芽から侵入には水滴が必須で、侵入前の水滴の乾燥は孢子を死滅させ、発病を阻害する。

孢子的発芽と付着器形成の適温は28℃で、次いで30>25>20>15>33℃の順になる。15℃では発芽するが、付着器の形成は著しく減少し、36℃では発芽しない。

クログワイをポット栽培し、孢子懸濁液を噴霧接種し発病条件を調べた。発病は20～30℃で最もよくおこり、34℃あるいは15℃では著しく減少する。接種孢子濃度は1ml当り4, 8, 16, 33, 66, 131, 262, 526×10^4 個に調整して調べたところ、最低濃度の1ml当り 4×10^4 個でも発病が認められたが、孢子濃度の高いほど病斑数が多くなった。そして、1茎1病斑を形成する程度の発病が要求される場合には、 33×10^4 /ml個以上に調整すればよく、それ以上の多発を要求される場合には 131×10^4 /ml個以上が必要になる。接種後は孢子懸濁液滴が乾燥せずに存在していないと発病しないが、その時間を調査した。6時間では発病せず、12時間から僅かに認められる。病斑を多数形成させるには18時間以上が必要で、24時間で最大数になる。

4. 接種源の種類と発病

クログワイをポット栽培し、孢子懸濁液を噴霧接種あるいは罹病クログワイ茎（菌糸担体）を挿秧した場合の発病を調査した。前者では葉上の噴霧水滴が翌日の10時頃まで乾燥しない状態にないと発病しなかった。また、雨天に接種した場合には接種時が降雨であると、付着孢子が流亡するためか発病するときとしないときがあり、発病に安定性がなかった。一方、罹病クログワイ茎を挿秧した場合は、茎の吸水により3日後頃から孢子が形成され、好適条件がきたとき感染し、発病するものようで、接種後発病まで10~20日と条件によって日数が変動するもの必ず発病した。そのため孢子懸濁液を接種した場合と異なり、接種時点からの急激な発病増加はないが、緩慢に増加し、接種を失敗することが少なく良い方法と考えられた。

次に罹病クログワイ茎を挿秧した場合の発病推移について調べた。結果は図1に示すとおりである。罹病茎の挿秧を6月20日に行った。発病は接種30日後頃まで緩慢に増加したが、7月30日頃から減少あるいは停滞し、8月14日頃から再び増加し、以後、急激に増加した。9月3日における茎の繁茂および10月16日の塊茎形成を調査した結果は表1に示すとおりである。茎の繁茂は無接種の約1/100、10月16日の塊茎形成は数が無接種の15%、重さが16%、大きさが37%に低下した（口絵5）。そして、翌年初夏に発生してくるクログワイ茎も減少した。

発病状態を詳細に観察すると、最初の感染発病枯死茎をもとに2次伝染により発病が継続する。すなわち、新抽出茎が出現すると草

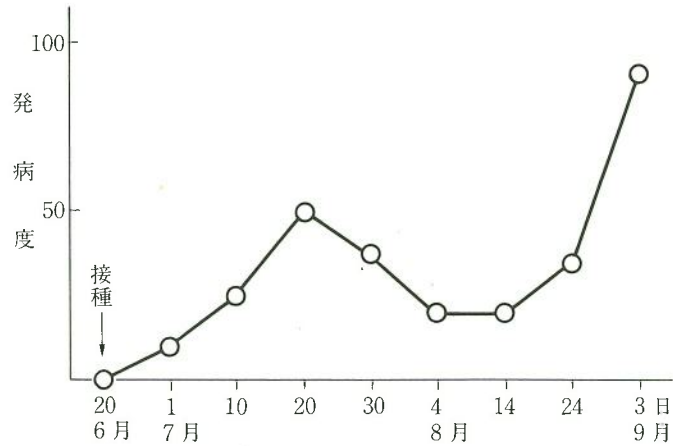


図1 接種後のクログワイの発病推移

丈が約10cmに伸長する頃に感染し、約20cmに伸長する頃に発病する。そして枯死が始まる。このことが繰返されることになる。そのため接種区では期間をとおして過繁茂になることが少ない。ところで、7月末から8月中旬に病勢が停滞するのはクログワイの繁殖が旺盛になり、新抽出茎が急に増加すること、そして夏期の高温により病原菌の増殖が抑止されることによる。したがって、8月下旬以降の急速な発病増加はクログワイの繁殖力の衰えと、温度低下による病原菌の増殖力の回復によるもので、病勢が7月より急速なのはクログワイが繁殖し、密集したことで発病の場が拡大したことによる。

5. 病原菌の越冬

試験的に罹病株を水田で越冬させ、翌春4月に罹病茎の病斑から菌の検出を行った。しかし、菌の生存は確認できなかった。自然発生の開始時期は6月ないし7月で、前年発生した水田で発病が始まる。このことから、自然では少数ながら越冬生存するものがあり、

表1 病原菌接種によるクログワイの防除効果

接種時期	茎葉の繁茂度* (9月3日)	塊茎の形成量 (10月16日)					翌年の発生茎数 (6月15日) (本)
		移植1塊茎当り		1塊茎の重さ (g)	大きさ (mm)		
		数 (個)	重さ (g)		縦	横	
6月20日無接種	100	31	15.7	0.51	13.9	11.6	23
	10168	206	143.5	0.70	21.6	19.9	137

* 最長茎の長さ×生存茎数

その量は試験的には検証し得ない程度と推定される。

6. 寄主範囲

31科, 79属, 111種の作物および雑草をポット栽培し, 孢子懸濁液を接種し, 病斑の形成有無によって調査した。その結果, ホタルイ, コウキヤガラ, フトイ, マッパイが発病した。ホタルイは自然でも発病している(口絵6)。これからして寄主範囲は今のところ, カヤツリグサ科の *Eleocharis* 属と *Scirpus* 属に入る種にとどまりそうある。

おわりに

クログワイを対象として病原菌によって除草できないか, 病原菌を探索するとともに, 探索菌の利用法について試験した。その結果, まだ各種の問題が残されているものの, クロ

グワイの場合, 結露のある夕刻に孢子を接種するか, 罹病茎を挿秧して発病させることにより, その時点における除草効果は少ないにしても, これにより発病が継続して, 秋期のクログワイ茎の繁茂が著しく少なくなり, そのため塊茎の形成が阻害され, 翌年初夏の発生にまで影響することがわかった。なお, 病原菌は越冬できるものが少なく, しかも自然に分布する菌をそのまま利用することから, 副次的害作用は少ないものと推定される。これらのことから, 病原菌を利用してクログワイを除草しうる可能性が見出されたように考えられる。

文 献

- 1) 鈴木穂積(1988) 農および園 63: 61-46, 87-89, 197-202
- 2) 植木邦和・中村安夫・小野誠一(1969) 雑草研究 8: 50-56
- 3) 横山竜夫・鈴木穂積(1988) 昭和63年度日本植物病理学会大会講演要旨予稿集 27

国内情報

ダイズ種子塩基性7Sグロブリン

農林水産省農業生物資源研究所
平野 久・香川裕之

はじめに

ダイズ種子には約40%のタンパク質が含まれているが, その大半は, 種子発芽の際, アミノ酸や窒素の供給源となる以外, 特に機能が知られていない貯蔵タンパク質である。そのうち主要なものは, 塩溶液に可溶性タンパク質, すなわちグロブリンで, 全種子タンパク質の約75%を占めている。

このグロブリンの主成分は, グリシニンおよび β -コングリシニンとよばれる, それぞれ11Sおよび7Sの沈降係数をもつタンパク質である。これらのタンパク質は, 全タンパ

ク質のそれぞれ約37%および28%を占めている¹⁾。いずれのタンパク質も, 脱脂ダイズ粉末から水で抽出することがきるが, 精製後は, 水には不溶となる。

最近, これら, グリシニンや β -コングリシニンとは異なり, 塩溶液ではじめて抽出されるグロブリンがダイズの種子に存在することが示された²⁾。このグロブリンは, 等電点が9.05~9.26と高く, β -コングリシニンと同様, 7Sの沈降係数をもつので, 塩基性7Sグロブリンと命名された²⁾。

塩基性7Sグロブリンはグリシニンや β -コングリシニンほど主要成分ではないが, 全種子タンパク質の3%程度含まれており, 種

子レクチンやトリプシンインヒビターなどの含量よりも多い。

このタンパク質は、グリシニンや β -コングリシニンとは異なり、メチオニンやシステインのような含硫アミノ酸をかなり多量に含んでいることが明らかにされた²⁾。ダイズ種子タンパク質には、全体として含硫アミノ酸が少なく、これが栄養的制限要因となっている。もし塩基性7Sグロブリン遺伝子をクローニングし、その発現を高めるよう遺伝子を操作できれば、この栄養的制限要因の除去に大きな効果が期待できる。

筆者らは、塩基性7Sグロブリン遺伝子をクローニングする前提として、まず、このタンパク質の物理化学的あるいは生化学的特徴、特に、タンパク質の一次構造の解析を進めた。

1. 塩基性7Sグロブリンの物理化学

塩基性7Sグロブリンは、分子量が26kDaの高分子量サブユニットと16kDaの低分子量サブユニットとからなっている。これらのサブユニットは、ジスルフィド結合により結合し、4対非共有的に結合して塩基性7Sグロブリン1分子(168kDa)を形成している²⁾。高分子量と低分子量サブユニットにはそれぞれわずかに分子量の異なる2種類のサブユニット(HI, HIIおよびLI, LII)が存在する³⁾。HIおよびHII,あるいはLIおよびLIIを含む画分についてN末端アミノ酸配列を気相シーケンサーにより分析したところ、いずれの画分でも単一のアミノ酸配列が検出された⁴⁾。したがって、同一画分に含まれる2種類のサブユニットは、きわめて類似した構造をもつものと推察された。

アミノ酸組成の分析により、塩基性7Sグロブリンには含硫アミノ酸が多いことが明らかにされている。塩基性7Sグロブリン中のメチオニンは2.6%、システインは3.1%であった¹⁾。これは、このタンパク質がグリシニンの約3倍、 β -コングリシニンの約10倍量に相当する含硫アミノ酸を含むことを示している。

筆者らは、部分的に精製した塩基性7Sグ



図1 ダイズ塩基性7SグロブリンのSDS-ゲル電気泳動

- a イオン交換クロマトグラフィーにより部分的に精製された塩基性7Sグロブリン
- b イオン交換クロマトグラフィーの後、SDS-ゲル電気泳動により精製された塩基性7Sグロブリン高分子サブユニット
- c 同低分子量サブユニット
- d コンカナバリンA-パーオキシダーゼ法による塩基性7Sグロブリン中の糖鎖の検出

ロブリンサブユニットをSDS-ゲル電気泳動により分別し、これをポリビニリデンジフルオリド(PVDF)膜上にブロットングした後、コンカナバリンA-パーオキシダーゼ法によって、ブロットングされたサブユニットが糖鎖を含むものかどうかを調べた。その結果、高分子量および低分子量サブユニットいずれにもコンカナバリンAと反応する糖鎖が含まれていることが明らかになった(図1)。

このように塩基性7Sグロブリンは、種々の性質がグリシニンや β -コングリシニンとは異なっていることがわかってきたが、最近、これらのタンパク質が全く異質のものであるという決定的な証拠が塩基性7Sグロブリンの一次構造分析から得られた。

2. 塩基性7Sグロブリンの一次構造

イオン交換クロマトグラフィーなどで部分的に精製された塩基性7SグロブリンサブユニットをSDS-ゲル電気泳動で分離した後、

ゲルから電氣的に溶出し(図1), N末端アミノ酸配列を気相シーケンサーにより決定した。また, 同様にして精製されたサブユニットをトリプシンなどのプロテアーゼにより消化し, 得られたペプチドを高速液体クロマトグラフィーで分別精製後, そのアミノ酸配列を気相シーケンサーにより解析した⁵⁾。その結果明らかにされたアミノ酸配列は, これまで筆者らが決定したダイズ種子タンパク質のアミノ酸配列^{4,6)}のどれとも相同性を示さなかった。つまり, 塩基性7Sグロブリンがこれまでダイズで全く知られていないタン

パク質であることが明らかになった。

この種類のタンパク質はダイズにだけ存在するのであろうか。この点を明らかにするために, 塩基性7Sグロブリンのアミノ酸配列と, タンパク質アミノ酸配列データベースに入力されている約1万種類のタンパク質のアミノ酸配列との相同性を調べてみた⁵⁾。その結果, 興味深い事実が明らかになった。

塩基性7Sグロブリンの低分子量サブユニットは, ルーピン種子の貯蔵タンパク質コングルチン γ ⁷⁾とアミノ酸配列に高い相同性を示した。塩基性7Sグロブリンに類似したタンパク質は, ダイズ以外の植物種子にも存在していたのである(図2)。このときから, 筆者らは, この種類のタンパク質がもっと多くの植物種の種子に存在するのではないかと考えるようになった。

LUPIN	S	T	S	Y	H	G	S	G	E	I	G	G	A	L	I	T	T	H	P	Y	T	V	L	S	H	S	I	F	E		
SOYBEAN	S	T	I	V	G	S	T	S	G	G	T	M	I	S	T	S	T	P	X	M	V	L	Q	Q	S	V	Y	Q			
LUPIN	V	F	T	Q	V	F	A	N	A	M	P	K	Q	A	Q	V	K	A	V	G	P	F	G	L	C	Y	D	S	R	G	
SOYBEAN	A	F	X	N	F	A	N	A	X									I	V	G	P	F	G	L	C	P	N	Q	N	G	
LUPIN	I	S	G	G	A	P	S	V	D	L	I	L	D	K	N	D	A	V	W	R	I	S	S	E	N	F	M	V	Q	A	
SOYBEAN	V	T	S	L	G	P	M	X	X	M	Q	P						A	R	Q	L	G	L	N	L	M	V	Q	A		
LUPIN	Q	D	G	V	S	C	L	G	F	V	D	G	G	V	H	A	R	A	G	I	A	L	G	A	H	H	L	E	E	N	
SOYBEAN	Q	P	G	V	T	X	L	G	V	M	N	G	G	M	Q	P	R	A	E	I	T	L	G	A	R	I	N	I	N		
LUPIN	L	V	V	F	D	L	E	R	S	R								V	G	F	N	S	N	S	L	K	S	Y	G	K	T
SOYBEAN	A	P	V	S	V	D	L	E	M	D	L	P	N	G				G	L	S	F	N	S	N	K	I	N	A	Y	P	S
LUPIN	C	S	N	L	F	D	L	N	N	P																					
SOYBEAN	F	D	L	A	X																										

図2 ルーピンコングルチン γ とダイズ塩基性7Sグロブリン低分子量サブユニットのアミノ酸配列の相同性 (矢印領域は未発表)

3. 塩基性7Sグロブリン類似タンパク質の分布

塩基性7Sグロブリン類似タンパク質が種々の植物種の種子に存在するかどうかを調べることにした。そのために, まず, 塩基性

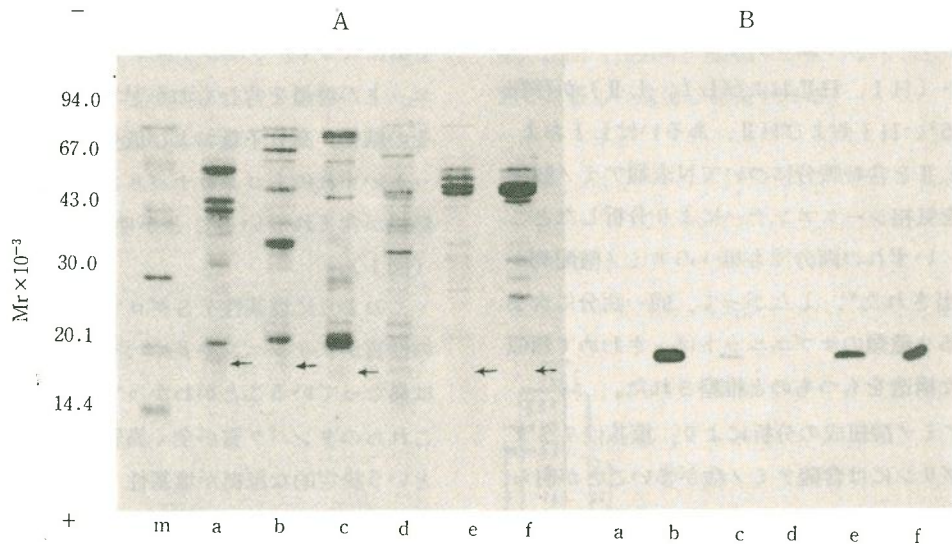


図3 マメ類種子タンパク質のSDS-ゲル電気泳動

- A コマシーブルーで染色した種子全タンパク質
- B 免疫ブロッティング法を用いて検出された抗塩基性7Sグロブリン低分子量サブユニット抗体と反応するタンパク質
- a ルーピン, b ダイズ, c シカクマメ
- d エンドウ, e アズキ, f リョクトウ
- m 分子量マーカータンパク質

7 S グロブリンサブユニットに対する免疫抗体を作成した。そして、30種以上のマメ類や穀類の種子タンパク質抽出液を SDS-ゲル電気泳動で分離した後、PVDF膜に電氣的にブロットイングし、転写されたタンパク質に抗塩基性7 S グロブリン抗体と反応するものがあるか否かを調べた。その結果、穀類種子には抗塩基性7 S グロブリン抗体と反応するタンパク質を見出すことはできなかった(香川・平野 未発表)が、シカクマメ、リョクトウ、アズキなど多くのマメ類種子で抗塩基性7 S グロブリン抗体と反応するタンパク質を検出することができた(図3)⁵⁾。塩基性7 S グロブリン類似タンパク質はマメ類種子に広く分布していたのである。

すでに、マメ類種子には、主要貯蔵タンパク質として、グリシニンのようなレグミン型タンパク質と β -コングリシニンのようなビシリン型タンパク質が広く分布することが知られている。塩基性7 S グロブリン型のタンパク質は、これらのタンパク質に次いで、多くのマメ類植物に共通して存在することが確認された第三の主要貯蔵タンパク質であるということができよう。

おわりに

塩基性7 S グロブリン遺伝子は、高含硫アミノ酸含有タンパク質を合成することができるので、ダイズ種子タンパク質成分育種の遺伝子資源としてきわめて重要である。

この研究でタンパク質の一次構造に関する情報、ならびに塩基性7 S グロブリンに対する抗体が得られたので、これらを利用して塩

基性7 S グロブリンをコードする遺伝子を容易にクローニングすることができよう。そして、塩基性7 S グロブリン遺伝子の発現調節機構を解析すれば、この遺伝子の発現を高め、種子タンパク質含硫アミノ酸量の増大を図るためにどのように遺伝子进行操作すべきかについて知見を得ることができるであろう。

なお、塩基性7 S グロブリン類似タンパク質が多くのマメ類種子で見い出されたが、これらのタンパク質は、抗塩基性7 S グロブリン抗体との反応の程度⁹⁾から、あるいは、N末端アミノ酸配列分析の結果⁸⁾から、ダイズ塩基性7 S グロブリンと一次構造が全く相同なタンパク質ではないと考えられる。したがって、塩基性7 S グロブリン類似タンパク質の中には、塩基性7 S グロブリンより含硫アミノ酸含量の多いタンパク質が存在する可能性もある。今後、このようなタンパク質が検索されることを期待したい。

文 献

- 1) 山内文男(1985) 化学と生物 23: 625-627
- 2) Yamauchi, F., K. Sato and T. Yamagishi (1984) *Agric. Biol. Chem.* 48: 645-650
- 3) Sato, K., T. Yamagishi, Y. Kamata and F. Yamauchi (1987) *Phytochemistry* 26, 903-908
- 4) Hirano, H., H. Kagawa, Y. Kamata, F. Yamauchi (1987) *Phytochemistry* 26: 41-45
- 5) Kagawa, H., F. Yamauchi and H. Hirano (1987) *FEBS Lett.* 226: 145-149
- 6) Kagawa, H. and H. Hirano (1988) *Plant Sci.* 56: 189-195
- 7) Elleman, T. C. (1977) *Aust. J. Biol. Sci.* 30: 33-45
- 8) Hirano, H. (1988) *J. Protein Chem* (in press)

文献情報

キュウリモザイクウイルスのサテライトRNAによるトマト壊疽の誘導とヌクレオチド配列との相関関係

サテライトRNA (sat-RNA) は、タバコ輪点ウイルス、ラッカセイ矮化ウイルス等の粒子中に見られる低分子量RNAである。これらの小RNAはゲノムRNAとの間にヌクレオチド配列の相同性は見られないが、その複製はゲノムRNAの複製に依存して行われ、場合によっては病徴発現に影響を与える。

自然界に最も広く存在するウイルスの一つであるキュウリモザイクウイルス (cucumber mosaic virus, CMV) にもその様な低分子量RNAを有している系統 (strain) が存在している。このCMVがトマトに感染した場合、sat-RNAを含まない系統では、退緑 (chlorosis)、葉脈透化 (vein clearing) 等の比較的軽微な病徴を現わすのに対し、sat-RNAを含むCMVでは壊疽 (necrosis) が生じ、植物体全体が枯死する場合がある。この様に、CMVの感染による壊疽の誘導にはsat-RNAが関与しているとされている。本報告では、これらの背景をもとに異なる数種のsat-RNAのヌクレオチド配列を比較し、病原性との関連について論じている。

実験に供したCMVは、CMVのインドネシア分離株 (CMV-In) である。CMV-Inをカボチャや *Chenopodium quinoa*、タバコ、トマトで継代して行くと、異なる数種のsat-RNAの存在が明らかになった。それらのsat-RNAがトマトに壊疽を誘導する性質 (壊疽性: necrogenic) を有するか否かを知るために、それぞれの株をゲノムRNAのCMV-1と一緒にトマトに接種して病徴を観察し、既知のCMV-Dのsat-RNAの壊疽性と比較した。その結果、各sat-RNAは壊疽を現わしたもの (6株) と非壊疽性のもの (3株) に分けられた。次に各sat-RNAのヌクレオチド配列を決定し、各株間の差異を検討した。各株の全長は334~337ヌクレオチド (nt) で、

非壊疽性を示す3株の全配列は全く同一であった。壊疽性の6株の配列は互いによく似ていたが、個々の株ごとに特異的な配列を有しており、特に nt 224~226と324~327の二つの領域では、変化の度合いが大きかった。更にこれら七つの株の配列と既知の壊疽性及び非壊疽性のsat-RNAのそれと比較した結果、壊疽性のsat-RNAは5'末端から約2/3までに極く僅かな差異が認められるものの、ほぼ同じ配列を有していた。一方、非壊疽性のsat-RNAでは、同じ領域内に五つの変異に富むドメイン (variable domain; V.D.) が存在していた。また、残りの3'末端側の1/3では、壊疽性、非壊疽性ともに二つの共通なV.D.が存在し、後者は更に四つのV.D.を保持していた。以上の様に、病徴から壊疽性と非壊疽性との分けられたCMVの種々のsat-RNAを持つ株は、それぞれの性質と呼応した配列を有していることが明らかになり、配列の差異が壊疽と密接に関係している可能性が示唆された。

次に種々のsat-RNAのヌクレオチド配列から想定される、アミノ酸の読み枠 (ORF) について検討した。これまでに配列の決定されたCMVのsat-RNAは、必ず1~3個のORFを保持していることが知られている。今回配列が決定された7株の中にも、同様のORFが存在していた。即ち壊疽性のsat-RNAでは、AUG₁₁₋₁₃で始まるORF Iが、全ての株で完全に保存されていた。またORF II Aも、極く僅かにアミノ酸の差異が認められるものもあるが、ほぼ完全に保存されていた。一方、ORF II BのN末端部は完全に同じであったが、C末端部ではフレームシフト等によるかなりの変異が認められた。このORF II Bに相当するORFは、非壊疽性のsat-RNAにも存在していた。CMV-Sのsat-RNAが *in vitro* で実際にmRNAとして働いたとする報告もあるが、これらのORFの生物学的機能、特にトマトの壊疽との関連については、まだ不明な点が多く残されている。今後の研究の成果を期待したい。

(抄訳 柄澤 明)

**Cucumber mosaic virus-associated RNA 5
XI. Comparison of 14 CARNA 5 variants
relates ability to induce tomato necrosis
to a conserved nucleotide sequence**

Kaper, J. M., M. E. Tousignant, and M. T. Steen

Virology 163 : 284-292 (1988)

文献情報

トウモロコシプロトプラスト
由来の形質転換個体

トウモロコシなどの重要な穀物については、組換えDNA手法を用いることは容易ではない。双子葉植物の形質転換に広く用いられている土壌細菌アグロバクテリウムが利用できず、外来遺伝子導入技術の開発が遅れていたからである。トウモロコシのプロトプラストに直接DNAを導入し、安定な形質転換細胞を得ることは可能であるが、トウモロコシのプロトプラストからの植物体の再生については最近まで成功例は報告されていなかった。本報では、エレクトロポレーション法を用いてカナマイシン耐性遺伝子を導入したプロトプラストから植物体の再生に成功し、世界初の形質転換トウモロコシ個体を作成している。

プロトプラストは、A 188 という近交系の未熟胚由来の再生能を持つサスペンション培養細胞から調製している。導入したDNAは、カリフラワーモザイクウイルスの35Sプロモーターを接続したカナマイシン耐性遺伝子を持つプラスミドDNAである。プロトプラストとDNAを混合し、1200 μ Fのコンデンサの放電による500-700 V/cmの電気処理を行った。処理後、プロトプラストをミリポアフィルター上にプレートし、ブラックメキシカンスイートという品種の培養細胞をナース細胞として培養を行い、7日後に培地にカナマイシンを加えて形質転換細胞を選抜している。

選抜に用いるカナマイシンの濃度としては、100mg/lが最適であったと述べている。この濃度で4週間選抜を行うことにより、非形質転換細胞のエスケープは生じていない。

カルス形成能を持つプロトプラスト数に対する形質転換細胞の割合は、最高で5%、通常0.5から1%であり、かなり高い効率が得られている。電気処理の前に、43°C、2~4分の高温処理を行った区も設けてあり、効率が約3倍に向上する場合もみられたが、その効果は安定していない。概して、処理電圧が高い方が、形質転換の効率は高かったが、反面、プロトプラストの生存率が低下した(625 V/cmで、生存率は30~50%低下)。

形質転換細胞を、ホルモンを含まない培地に移すことによりシュート再生が可能であった。約18%のカナマイシン耐性カルスより、シュートが得られ、最終的に、10系統の独立した形質転換細胞から合計38個体を生長・成熟させることができた。これらの植物はすべて不稔であり、種子は得られていない。不稔の原因としては、長期の培養期間が悪影響を与えている可能性があるとして述べている。

カナマイシン耐性細胞および再生個体について、カナマイシン耐性遺伝子の産物であるカナマイシン不活化酵素の活性を調査している。形質転換していない植物・細胞にはこの酵素の活性は全くないが、カナマイシン耐性細胞にはすべて活性が確認され、その強弱はカナマイシンを含む培地上での生長速度と関連していた。この活性は、カナマイシンを含まない培地で育てた場合でも低下せず、最低10カ月は安定であった。また、再生個体中での酵素活性は、カルスの場合と比較して2倍ほど高かった。

サザンハイブリダイゼーション法により、導入した遺伝子の調査を行っている。カルスあるいは植物体より抽出したDNAを、制限酵素 Bam HI で切断し電気泳動で分画したのから、³²Pでラベルしたカナマイシン耐性遺伝子と相同なDNA断片を検出するものである。非形質転換細胞にはそのような断片は存在しなかったが、形質転換細胞・植物体にはカナマイシン耐性遺伝子を含む断片が検出された。しかし、期待される分子量とは異なる大きさの断片が検出される場合もあり、導入される遺伝子に何らかの構造変異が生じる場合のあることが示された。ハプロイドゲノム

当たりの導入遺伝子の数は5以下と推定されている。導入遺伝子の構造変異や数と、カナマイシン不活化酵素の活性の強弱とは特に関連はみられなかった。

本実験の成功によって、トウモロコシについても、遺伝子工学的な手法を適用する道が開かれたことになる。タバコやペチュニアなどで盛んに行われている、耐虫性遺伝子・耐病性遺伝子の導入などの研究を、トウモロコシの改良に応用していくことも可能になっていくと考えられる。しかしながら、稔性のある形質転換個体が得られなかったことは大きな問題であり、今後、プロトプラストを調製する材料、培養条件、処理条件等を検討し、稔性を持つ組換え植物を作出する方法の開発が必要である。また、特定の近交系だけでなく、幅広い品種を用いることができるような技術が望まれる。(抄訳 小鞠敏彦)

Genetically transformed maize plants from protoplasts

Rhodes, Carol A., Dorothy A. Pierce, Irvin J. Mettler, Desmond Mascarenhas and Jill J. Detmer

Science 240: 204-207 (1988)

文献情報

鱗翅目ヒトリガ科 *Pyrrharctia isabella* 雌がエアゾールとして放出する性フェロモン

今までに知られている鱗翅目蛾類の性フェロモンの分泌は、雌分泌腺表面から空気中に蒸散することで行なわれている。

これに対して、ヒトリガ科蛾類の性フェロモン分泌は、1)雌の性フェロモン分泌腺の形状が複雑で他と異なっていること、2)腹部末端のリズミカルな動きなど、コーリング時の動作が他と異なり特異な点が多いなど、注目を集めていた。

この報告では、ヒトリガ科 *Pyrrharctia isabella* 雌が、コーリング時に、フェロモンをエアゾール状の、ビジブルな細い糸として

放出することを述べている。このエアゾール分泌物は、性フェロモンのみを含み、他の揮散補助剤、凝集補助剤的な成分は一切含まない。また、分泌量も今まで知られているうちでは最大のものである。

この報告は、液体エアゾールとして空気中に放出される性フェロモンの最初のものである。まず、フェロモン分泌腺から糸の様に放出するエアゾールの主体は、1)性フェロモンとその他のフェロモン活性をもたない副産物、あるいは他の機能をもつ補助剤成分との混合物、あるいは2)性フェロモンの担体すなわち、揮散、凝集補助成分かを調べた。

蛾をサンプル管の上部に固定し、底部に集められた性フェロモンエアゾールをガスクロ分析した結果、成分は、ほとんど純粋な2-メチルヘプタデカンで、2%の2-メチルヘキサデカン、1%の2-メチルオクタデカンを含むことが判明した。また、雌からの分泌量は、240 ng/min と計算された。この分泌量は今までに測定されたどの性フェロモン分泌量より、はるかに大きいものである。

次に、この性フェロモンが、本当に、エアゾールとして、凝集して空気中に揮散してゆくのか、それぞれの粒子が、ばらばらになって分散してゆくのかを実験的に確かめた。

実験方法は、側面と底面が、別々に抽出できるサンプル管の中の上部へ、蛾を固定し、コーリング時に放出されるエアゾールをサンプル管の底面に集める。その時の底面と側面を別々に溶液で洗じょうして付着した成分を調べる。同様の方法で、2-メチルヘプタデカンをろ紙に含浸して、同型のサンプル管上部に固定して揮散させ、サンプル管側面と底面から別々に付着した量を分析した。

その結果、コーリング時の雌からの性フェロモン分泌物の場合、88%の2-メチルヘプタデカンが底面に付着し、残りは側面に付着したが、ろ紙から揮散させた場合には、底面に付着したものが5%で、側面に残りの95%も2-メチルヘプタデカンが付着することが判明した。以上の結果から、雌から分泌される性フェロモンは粒子がばらばらにならないエアゾール状物質であることが確認された。

このことから、フェロモン成分だけではなく他の凝集補助剤的成分との混合物であることが考えられるので、エアゾール物質の直接マスペクトル分析、メチルエステル化分析を行って、不揮発性成分の検索を行った。

その結果は、前述のガスクロ分析の結果と全く一致するもので、この蛾が性フェロモンのみをエアゾールとして空气中に分泌していることを示すものであった。

この性フェロモンは、炭素数18の炭化水素で、分子は分泌された後、蒸散してばらばらになることが通常考えられるが、この蛾の場合は炭化水素の分子が、ばらばらにならず、ビジュアルな糸の様なエアゾール状になる。このことは、今までの様な、分子蒸散論を基礎とする性フェロモン揮散モデルは、この場合には当てはまらなると考えられる。

この蛾の雄の性フェロモン反応の閾値が極めて低いことは、雌が大量の性フェロモンを分泌することと考え合わせると、その生物学的意義が興味深い。(抄訳 中馬達二)

Sex phormone released as an aerosol by the moth *Pyrrharctia isabella*

Krasnoff Stuart B. and Wendell L. Roelofs
Nature 333: 263-265 (1988)

文献情報

トウモロコシにおける2種の非対立性ショ糖合成遺伝子：sucrose synthase-2 遺伝子のクローニング、発現および制限酵素地図

トウモロコシ sucrose synthase (SS) の2種のアイソザイムについては、以前より各種の報告がなされている。

種々の *shrunk* (*sh*) 変異株の遺伝学的解析により、SS1 アイソザイムが第9染色体上に位置する *Sh* 遺伝子座上にコードされていることが示されている。またSS2 アイソザイムは、*sh* 欠損株である *sh bz-m 4* も含めたすべての *sh* 変異株において変化が見ら

れない。

このため、この遺伝子は *Ss 2* と名付けられた。

Sh 遺伝子と *Ss 2* 遺伝子の相同性は McCormick ら (1982) によって northern 及び genomic southern blot 法を用いて確認された。

また、胚乳においては、例えば芽ばえ等の組織と異なり、SS1 及びSS2 のヘテロ4量体が存在せず、このことは両遺伝子の発現が、組織内において位置的にも、あるいは時間的にも隔っていることを表わしている。

更に、*Ds* 欠損型変異株において *Ss 2-null* 表現型が示されるという最近の報告により、*Sh* と *Ss 2* 遺伝子座はともに第9染色体上にあると考えられ、しかもSS2蛋白質の欠除は植物の表現型及び機能に大きく関与しないということがわかった。

本実験では、*sh* 欠損株 (*sh bz-m 4*) 及び野生株 (*Sh/Sh*) poly (A)⁺RNA より、それぞれ *Ss 2* 及び *Sh* cDNA を λ gt11 発現ベクターにクローニングした。cDNA ライブラリーは、SS蛋白質抗血清により選抜し、その諸性質の検討を行なった。

また、*sh* 欠損株の播種後8日目の芽ばえからゲノムDNAを抽出し、*Bam* HI 消化、10~40%ショ糖密度勾配遠心分画後 *Shc* DNA をプローブとした southern blot 法によりライブラリーに使用するDNA画分を選抜した。分画したDNAはEMBL4の *Bam* HI 及び *Sal* I アームにクローニングしてDNAライブラリーを作成し、更に *Sh* cDNA をプローブとして選抜を行なった。

また、取得したcDNA及びゲノムDNAは、pUC19に再クローニングして制限酵素地図の作成を行った。

これにより、*Ss 2* cDNA として pshD13, psh D12, psh D11 (長さはそれぞれ~2.5 kbp, 2.4kbp, 1.7kbp), *Shc* DNA として pSh 9 (2.5kbp) を得た。ゲノムDNAとしては pSh 9 (2.5kbp) を得た。ゲノムDNAとしては psh D13 をプローブとして pGsh D 6 (3.6kbp) を得た。

Werr ら (1985) の報告により、*Sh* ゲノム

遺伝子の長さは5.4kbp, 16のエクソンよりなり, これらを加算すると mRNA の長さである2746bとなる。この場合, 52bpであるエクソン1は非翻訳領域であり, その後に翻訳開始点のある114bpよりなるエクソン2が続いている。制限酵素地図と, 上記 Werr らのゲノムクローンに対する pSh 9のクロスハイブリダイゼーションにより, pSh 9はエクソン3より始まり, エクソン16で終ることがわかった。この *Shc* DNA クローンが完全長であるなら, cDNA の *Bgl* II 切断部位より3'末端側の下流に735bpの長さが存在する。この735bpのうち, *Bgl* II 切断部位に直接続く466bpは蛋白質として翻訳されるが, 残りは非翻訳領域である。本実験における *Shc* DNA クローン pSh 9では *Bgl* II 切断部位以降は500bpしか存在せず残りは欠失しているが, λ 溶原菌内での発現蛋白質の長さは完全であると推測される。しかし, 5'末端側の50アミノ酸 (~2kD) は欠除している。

Ss 2 cDNA である shD13と shD12は λ 溶原菌内で β -ガラクトシダーゼとの複合蛋白質としては発現せず, 生成 *Ss* 2 ポリペプチドも実際の92kDより22kD少ない約70kDであった。計算上では, 2.5kbの psh D 13は全配列が翻訳されれば92kDの *Ss* 蛋白質をコードするのに十分な長さである。これは, 複合蛋白質の安定性に起因するのではないかと考えられるが, また, リーディングフレームのずれや翻訳後の修飾などの可能性も除外することはできない。

Ss 2 と *Sh* cDNA をプローブとして未熟種実 RNA の northern blot を行うと, *Ss* 2 mRNA (~2900b) の方が *Sh* mRNA (2750b) よりも大きかった。*Ss* 1 と *Ss* 2 単量体の大きさは, ほぼ同一であるため, *Ss* 2 mRNA が長いのは, *Sh* mRNA に比べて非翻訳領域が長いと推定されている。

Ss 2 と *Sh* cDNA の制限酵素切断断片の southern blot により, これらの間に部分的な共通配列が推定され, またこの制限酵素切断断片は3'末端の方が5'末端より高いホモロジーをもっていた。しかし, Geiser ら (1982) が報告した *Sh* ゲノムのクローンと本実験で

得られた *Ss* 2 ゲノムのクローン pGsh D 6 は, 制限酵素地図を比較するとかなり異なることがわかった。

更に, *Bam* HI 断片の長さの違いとして表われる対立遺伝子の多形性, 及び B-A 転座変異株を用いて, *Ss* 2 は第9染色体, 9L上の *Wx* 遺伝子座より20交差単位離れていることがわかった。

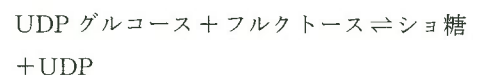
トウモロコシは, 世界の主要作物のひとつであり, その年間生産量はコメ, コムギについている。

また, 雄花先熟の風媒花であり, 他花受粉により結実するために交雑が容易なことから古くより遺伝学の材料として大きな役割を果たしている。近年の遺伝子工学的手法の発達により, 更にその研究の奥行きが深まったことはいままでもない。トウモロコシは, 植物の中では最も遺伝子の研究がなされているもののひとつであろう。

現在, $n=10$ の全染色体の地図上で, 今まで知られている500以上の遺伝子のうち相当数のものがどの染色体上に存在するかが明らかにされており, さらに配座の明らかになっているものもかなりある。

今回の報告では, ショ糖合成酵素アイソザイム *Ss* 2 の配座が明らかとなり, 更にその DNA 解析も行われつつある。このことはトウモロコシ育種のみならず, 更に植物一般の遺伝学的解明のためにも有意義であると考えられる。

また, ショ糖合成酵素は広く植物組織に存在し, 次のような反応に関与している。



この反応はショ糖合成よりはむしろ分解に傾いており, 糖ヌクレオチドの生成, あるいはでん粉生合成系の末端に位置するとされている。更に, 正逆両反応で反応様式及び条件が異るともいわれており, 複雑な性質を持っている。これらの解明のためには, 酵素蛋白質の構造解析も非常に有用と思われ, 本実験のように核酸方向からのアプローチも有力な一助となるであろう。

(抄訳 村山晶子)

cDNAs of two non-allelic sucrose synthase genes in maize : cloning, expression, characterization and molecular mapping of the sucrose synthase-2 gene

Gupta Manju, Prem S. Chourey, Benjamin Burr and Paul E. Still

Plant Molecular Biology 10 : 215 ~ 224
(1988)



国際学会レポート

第7回国際放線菌学会議 (7th International Symposium on Biology of Actinomycetes)

国立予防衛生研究所
堀田国元

放線菌に関する我が国で初めての国際学会、第7回国際放線菌学会議（以下ISBA '88と略称）が、本年（1988年）5月22～26日の5日間にわたり、東京（高輪プリンスホテル）において開かれた。ISBAは、抗生物質の宝庫として知られる放線菌の基礎および応用研究に従事している各国の研究者が一堂に集い、最新の知見や考え方などを発表、討論し、放線菌に対する理解を深めるとともに今後の研究展開の方向や基礎を見出すことに意義を見出してきた。第1回会議が1968年に東独のイエナで開催されて以来、3～4年毎に世界各国で開かれ、今回初めて日本で開催された。会議は、日本放線菌学会、放線菌育種談話会の会員を中心に結成された第7回国際放線菌学会議組織委員会によって主催された。組織委員会では、日本学術会議をはじめとする学術団体や賛助会社の支援のもと、プログラム委員会、募金委員会および実行委員会を設け、

最近の研究の流れ、円高などに十分配慮し、充実した会議の実現のため鋭意努力を重ねた。その結果、32カ国から500名を超える参加者（約半数が海外からの参加者）が集い、研究交流と友好親善の両面においてこれまで最も充実した会議が実現した。

参加者の内訳をみると、海外参加者の比率が極めて高く、国際色豊かなことが特徴的であったが、アジアで初めての開催であったことからアジア各国に積極的に呼びかけた結果、50名を超えるアジア各国からの参加者があった。これまで放線菌の研究は、日米欧の三極で展開されてきたことを考えるとアジア各国からの積極的参加は特筆すべきことであり、新しい時代の幕明けといえるかもしれない。

学術セッションとしては、世界の代表的研究者4名による特別講演と総勢約80名の演者によって10のテーマについてのシンポジウムが行われた（表1）。テーマが示すように、

表1 特別講演およびシンポジウム

特別講演

1. Understanding the genetic control of antibiotic biosynthesis and sporulation in *Streptomyces*: D. A. Hopwood
2. Problems in taxonomy of streptomycetes: W. Kurylowicz
3. Search for bioactive compounds from microorganisms - Strategies and methods: S. Ōmura
4. Actinomycetes: What have you done for us lately?: A. L. Demain

シンポジウム

1. Gene expression in actinomycetes I & II
2. Genome rearrangement in actinomycetes
3. New concepts in screening programs
4. Evaluation of criteria for actinomycetes taxa I & II
5. Actinomycetes in natural ecosystem
6. Differentiation in actinomycetes
7. Antibiotic resistance
8. Biosynthesis of secondary metabolites and its regulation
9. Physiology and biochemistry
10. Morphology and cell structure of actinomycetes

放線菌の遺伝子発現、分類、生態、分化、形態、生化学、抗生物質耐性、二次代謝産物など放線菌研究のすべてをカバーする形でプログラムが組まれた。一般発表としては、180を超えるポスター発表が行われた。さらに、サテライトミーティングとして、「アジア各国の放線菌研究の現状と展望」、および「企業内放線菌分類研究(者)の問題」についての二つの円卓討論が開かれた。以下にこれらの概略を述べてみたい。

特別講演では、まず放線菌の遺伝学的研究の第一人者である John Innes 研究所(英国)の D. A. Hopwood 教授が、抗生物質生合成と孢子形成の遺伝学的制御について講演した。放線菌は、分化する原核生物としてまた多種多様な抗生物質の生産菌として特徴づけられている。Hopwood 教授は、抗生物質生合成と気中菌糸形成に關与する遺伝子の構成、構造と発現制御について *Streptomyces coelicolor* A(3)2 を具体例にして個々の最新の知見を総合的に関連づけて解説し、これら遺伝子の発現機構の研究は、菌の栄養環境と関連づけて行われる段階に達していることを示した。

ポーランドの W. Kurylowicz 教授は、混乱のみられる放線菌分類について、放線菌の代表的な属である *Streptomyces* における問題点を種概念の多様性と概念を適用する際の研究者の独断性にあることを指摘した。この視点から、放線菌に著しい特徴としてパテントがらみの種の問題点に言及し、さらには遺伝子操作によって作り出される菌が環境に放出され、定着した場合の問題について説いた。

北里大の大村智教授は、放線菌由来の抗生物質探索の卓越した業績と豊富な経験をもとに、スクリーニングに關連する微生物学、生化学および化学における様々な創意工夫の調和のとれた実践が新しい生理活性物質の発見に連がるという哲学を打ち立て、多種多様な具体例を示しつつ、生理活性物質探索の戦略と方法論について含蓄のある講演を行った。

MIT(米国)の A. L. Demain 教授は、放線菌の有用性を抗生物質生産に限らず、酵

素阻害剤、各種の有用酵素などの供給源として広汎な角度から総説した。近年著しく進展した放線菌の微生物学、二次代謝産物に關する遺伝、生化学、化学さらには放線菌における組換えDNA技術によって、放線菌は今後も様々なニーズに倦くことなく応えていくであろうことを予想して会議全体を締めくくった。

放線菌研究の現状と今後の課題は、以上四つの特別講演において概略が見事に示されているが、シンポジウムでは、個々のテーマにつき、さらに詳しく、ホットな情報や議論がとり交わされた。

遺伝子発現のセッションでは、各種の遺伝子(ガラクトースオペロン、グルタミン合成酵素遺伝子、プラスミド(pIJ101)伝達関与遺伝子、抗生物質耐性と誘導遺伝子)のプロモーターの構造と活性制御についての知見が紹介されたが、抗生物質チオストレプトンによって活性が誘導されるプロモーターに關する発表(仏パスツール研 C. J. Thompson 博士)が注目される。これは、放線菌において初めて発現制御可能なベクター構築の期待を抱かせるものであろう。遺伝子の転写に關連して、RNAポリメラーゼの多様性(John Innes 研 M. J. Bibb 博士)とシグマ因子の検出クローン化と解析(東大応微研 高橋秀夫博士)についても発表された。一方、分化に關連して、K. Chater 博士(John Innes 研)は、気中菌糸形成に關与する *bld A* と *whi G*



図1 会場風景

遺伝子について講演した。*bld A* 遺伝子は、GC含量の高い放線菌DNAでは非常に珍しいUUAを認識するロイシンのtRNAをコードすること、*whi G* 遺伝子の産物はシグマ因子である可能性を示し、注目を浴びた。また、堀之内末治博士（東大農）は、気中菌糸形成や抗生物質生合成を誘導する遺伝子（*afs B*）や生化学的因子 A-factor について講演した。

抗生物質生合成遺伝子は、耐性遺伝子とクラスターを形成して存在することが一般化されつつあったが、ストレプトマイシン（西独 W. Piepersberg 教授）、ピアラホス（明治製菓 安西弘行博士）、エリスロマイシン（米国ウィスコンシン大 C.R. Hutchinson 教授）、カルボマイシン（米国 B. E. Schoner 博士）の遺伝子クラスターの構成、遺伝子構造、発現制御機構について一段と詳しい内容が明らかにされた。またメチレノマイシン遺伝子クラスターは巨大な直鎖状プラスミドに存在することが発表された（三菱化成生命研 木梨陽康博士）。

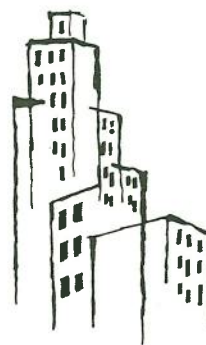
この他、DNA増幅（米国 L.L.Hershberger 博士、西独 J. Altenbuchner 博士）やトランスポゾン（米国 S.Chung 博士）、休眠耐性遺伝子の活性化（筆者）、各種の外來性タンパクの分泌（米国 S.Chang 博士）などについての研究発表も行われた。

分類関係のセッションでは、形態など伝統的な分類基準と細胞壁の化学組成など近年盛んに使用されている分類基準についての活発な討論が *Streptomyces* のみならずその他の属についても適用できる標準的分類法の確立を目指して行われた。

一方、生理活性物質のスクリーニングのセッションでは、古典的意味での抗生物質以外の生理活性物質の新しい探索法が主に議論され、今やスクリーニングの概念は新しいものへと転換しつつある傾向がはっきりと示された。

この他、分化、二次代謝産物生合成、酵素についての生化学的研究も一段と進展していることが示された。

総合的にみると、今回のシンポジウムの特徴は、放線菌とその機能についての理解が遺伝学、生化学、分類学など独立して行われるのではなく、それらが関係づけて行われる時代に突入しつつあることがはっきり示されたことであろう。放線菌は、*E.coli* に匹敵する代表的菌種があるわけではなく、抗生物質生産菌として多種多様な菌株が研究対象となっているため、総合的理解をすることが非常に困難であったが、遺伝生化学的解析（法）の着実な進歩により、種々の壁がとり払われつつある。次回（1991年、米国ウィスコンシン大）までの著しい進展が期待される。



特別情報

食品加工・流通における新技術

農林水産省食品総合研究所
梅田圭司

都市への人口集中，核家族化の進行，高齢人口の増加，GNPの増加，各人の社会活動の活発化などにより加工食品の購入，外食頻度の増加傾向はさらに進行していくものと考えられる。一方食べものの美味しさ，食生活の豊かさも追究されていくわけで，来たるべき成熟化社会において，この豊かさの追求と合理性の追求が，どのような形で融合するのか，まったく二極化するのか予測しがたい。

元来食生活は，気候・風土に根ざした文化的なものであり，地域的，民族的な嗜好は10年とか20年の単位で大きく変化することはありえないと考えられている。しかし，戦後の世代間の嗜好の変化，将来の食生活，家族構成，社会的活動パターンなどを考えると嗜好とか食文化の多極化というような状態が生じるのではないかと思う。加工技術とか流通技術の進歩も，従来の品質保持とか本物の味の追求を超えて，新しい味，新しい食品の創造に向けられていくものと考ええる。

- ③ 同一試料を反復して使えるので熟成過程の成分変化を追求できる
- ④ 実時間の測定が可能のため，工程管理やオンライン測定ができる
- ⑤ 同時に多項目の情報を得ることができる
- ⑥ 熟練を要しない

これらの特徴は，安全性，栄養性等食品の品質に関し厳格な品質管理を求める社会的ニーズを，製品の全数検査という最も望ましい方法で満たすことができる。

最近では，米に関し，食味計と称する分析機器が開発されている。これは，近赤外分光法の最も成熟した利用方法の一つで，タンパク質，アミロース，脂質，水分など食味に関連した各成分の違いによって生じる近赤外スペクトルと食味とを関係付けたものである。この装置によりいろいろな米の食味値が求められる，米のブレンド技術に応用されている。

1. 近赤外分析による品質管理

非破壊分析法の中で最も研究開発がすすんでいるのが近赤外スペクトル分析法で，すでに米国，カナダでは小麦のタンパク測定の公定法になっている。日本では大豆タンパクの11S，8S成分の分画定量から，多水分系の食品の成分測定，さらに水分の存在状態の研究まで行われている。近赤外線は可視光線と赤外線の間であり，一般に0.8~2.5 μ mの電磁波をいう。

非破壊分析法の特徴は，

- ① 試薬，溶媒などを必要としない
- ② 試料の調製が簡単で迅速分析が可能

表1 食品等への近赤外法の応用例

品 名	成 分 特 性
穀類，豆類，種子類等	
米	でん粉（アミロース），タンパク質，水分，灰分，アミノ酸
小麦 （小麦粉を含む）	でん粉，タンパク質，水分，灰分，硬軟質，損傷でん粉，さび病，SDS沈降性， α -アミラーゼ活性，カラーバリュー，ふすま質混入率
大豆	タンパク質，水分，脂質，7S，11S
牛乳	水分，脂質，タンパク質，乳糖
魚肉	魚肉中の水の存在状態
畜肉 （肉製品を含む）	水分，タンパク質，脂質，塩分，カロリー
日本酒	アルコール，酸度，アミノ酸，日本酒度，直糖，全糖
乾燥野菜	タンパク質，脂質，灰分，ADF
乾のり	品質等級，タンパク質，色素
配合飼料	リグニン，乾物推定消化率，ADF，NDF，TDN，ミネラル，エーテル抽出物，可溶性無窒素物

また液状食品用のセルが開発され、近赤外分光法の対象品目の範囲も広がった。液状食品の場合、粉体試料における粒度のように試料間に不均一さを生じることが少ないため、精度の高い、安定した分析が期待できる。日本酒中のアルコール、日本酒度、酸度、アミノ酸、直糖、全糖に関する検量線において、常用法との相関係数は、0.97~1.00と極めて精度が高く、実用に供しうることが報告されている。

2. 遠赤外線による加熱

食品の加熱に用いられる遠赤外線は、一般に2.5~25 μ mの電磁波である。食品工業で利用される伝熱方法には、缶詰のレトルト殺菌などで利用される伝導伝熱、熱風による乾燥などで利用される対流伝熱、さらに赤外線を利用する放射伝熱とマイクロ波や高周波を利用する誘電加熱法がある。誘電加熱法については次項で述べる。

赤外線による放射伝熱は、

- ① 赤外線は空気にほとんど吸収されないため、直接、被加熱物表面に到達し、吸収され、加熱効果を現わす。
- ② 有機材料は、一般に3~25 μ m程度に強い吸収を持つため加熱効果が大きい。
- ③ 放射エネルギー量が熱源と被加熱物の温度の4乗の差に比例するので、熱源の温度のわずかな変化により、加熱効果を大幅に変えることができる。
- ④ 電磁波は直進、反射する特性を持っているので、放射エネルギーの集中、分散の方式をとりやすい。
- ⑤ 放射伝熱により、被加熱物の内部2.5mm程度まで直接エネルギーを供給できるので、薄い形状のものの加熱を急速に行えるなどの特徴を持つ。

このような特徴を利用した食品加工装置には次のようなものがある。

遠赤外線利用食品加工装置の例

1. 焼海苔の焼成加工装置
2. 米菓の焼き上げ装置
3. 乾式ゆで卵の製造装置

4. ベルトコンベヤ型加熱装置
5. 半生麺の製造装置
6. 茶製造の火入れ装置
7. 希薄溶液の連続濃縮—真空凍結乾燥装置
8. ロータリー型加熱装置
9. 気流乾燥装置

これらのうち「焼海苔の焼成加工装置」から「ベルトコンベヤ型加熱装置」まではすべて、食品をベルトコンベヤに載せて赤外線ヒーターを配列した空間の中を平面移動させるものである。また、「茶製造の火入れ装置」と「半生麺製造装置」は食品を立体的に移動させるもので、食品の移動のさせ方をくふうして、均一加熱を実現しようとするものである。ロータリー型加熱装置はバルキー性の物体、穀類、豆類などの焙焼、乾燥、熱処理などに適している。気流乾燥装置は、でん粉など、従来この種の乾燥装置を利用していた粉粒体食品に適している。

ところで、遠赤外線が被照射体内部まで透過して加熱するというのは間違いである。たとえば、石焼きいもがうまいのは、小石からの伝導伝熱によって徐々に加熱され、45~60℃で β -アミラーゼが作用し、でん粉の分解によって甘味が生じるためである。小石から放射される遠赤外線の影響があるのは、せいぜい表面から2~3mmであり、むしろこの場合の小石は均一加熱のための熱媒体として利用されているのである。また鍋にセラミック板を入れてボイルすると卵のゆで上りが早いというのも、同量の湯を用いた場合よりもセラミック板だけ鍋の中の熱容量が大きくなったことによるものであろう。

3. マイクロ波加熱

電子レンジで判るように次のような特徴を持っている。

- ① マイクロ波の周波数に応じて双極子分子が激しく振動・回転するため発熱が急速に起る。
- ② マイクロ波は電波であるので物質の表面から内部に浸透していき、そのエネル

ギーは物質により吸収され、徐々に減衰する。したがって、厚みの厚いものの場合、表面から内部にいくほど発熱量は小さくなるが、従来の伝導伝熱や放射伝熱に比較し、厚み方向へは、はるかに均一な加熱を行うことができる。

- ③ 電波を発振することにより加熱を行う方法であるので、加熱に必要なエネルギーがただちに得られる。

また、問題点としては、電界むらが生ずるため加熱むらが生じやすいことである。工業的にはフランスにおいて、オレンジ果汁を粉末化するのに真空マイクロ波乾燥機を使用しており、49kg/h（新鮮果汁相当400kg/h）の製造能力で年間200トンの乾燥製品を製造している。マイクロ波の出力は48kWであり、この乾燥機の経済性は噴霧乾燥と凍結乾燥の中間にある。設備費は凍結乾燥の60%程度であり、ランニングコストは1/3~1/4程度であるとされている。

また、アメリカにおいても真空マイクロ波乾燥機のパイロットプラントを製作し、穀類、果実などの乾燥への応用が検討されている。

わが国においては、膨化乾燥における膨化方法として実用化されている。高出力のマイクロ波を使用し、急速加熱を行い、ペースト状の食品を膨化させることにより乾燥表面積を広げ乾燥を迅速に行う方法として利用されている。カップヌードルの具として使用されている乾燥卵はこの方法で乾燥されている。

一般の加熱乾燥においては、固体表面に到達した熱は伝導伝熱により内部に供給され乾燥が行われる。乾燥された表面部分は断熱材の役割を果たし、熱伝導度が小さくなるため乾燥速度が低下する。伝導量は熱風と食品との温度差に比例するので、乾燥速度を高めるために高温の熱風を使用することになるが、高温で食品を乾燥すると品質が低下するし、排風として失われるエネルギーが大きくなり、エネルギー効率から考えても有利ではない。したがって、乾燥速度が低下した時点で、通常の伝導伝熱ではないマイクロ波による誘電加熱を利用するのが有利であることなど、工業面での利用が期待されている。

マイクロ波殺菌というのは、マイクロ波によって加熱された結果の加熱殺菌であり、マイクロ波自体による直接の殺菌効果はない。ただマイクロ波を用いると殺菌温度までの到達時間が非常に短いので、従来の缶詰より品質の優れたものができる。モモ、アンズ、ウンシュウミカンなどをプラスチック容器に入れマイクロ波殺菌すると、従来法よりも固型歩溜がリンゴを除き2~4%高くなり、かつ製品果肉の硬度は著しく高く、リンゴ、アンズでは生果に近いものである。この方法の欠点はプラスチック缶では真空巻締ができないためシェルフライフが3~4カ月と短いことであるが、地域内流通の冷蔵品としての商品化は期待できる。

4. 放射線処理

放射線の利用は、1980年にFAO/IAEA/WHOの合同専門委員会が出された「総平均線量10kGy（100万ラド）以下の照射した食品の健全性には問題がない」との結論と、続いて国際食品規格に加盟している各国への利用の勧告以来、急速に伸びている。健全性というのは、食品の安全性に加えて栄養価とか、その食品のもっている本来の味などがそなわれていないか、また腐敗しないまでも微生物による汚染が許容限度内か、といったトータルな面での評価である。現在世界で許可されている食品は33カ国で59品目になっており、また食品照射プラントは17カ国で29カ所稼働していて、その内デンマークとソ連では電子加速器による処理も行われている。

食品照射の実用化が各国で積極的に進められている理由に、殺虫、殺菌に使用されているくん蒸剤の中には発癌性など強い毒性のあるものがあり、その使用禁止をWHOが勧告していることが挙げられる。例えば香辛料や乾燥野菜の殺菌のためのエチレンオキシド処理、果実の殺虫のための2臭化エチレン（EDB）などである。米国のFADは1984年9月に柑橘類へのEDBの使用を禁止し、1986年4月に柑橘を含む果実と野菜に対し1kGy以下の照射を許可した。

現在国連機関が放射線源として許可しているものはコバルト60, セシウム 132 の γ 線と10MeV(百万電子ボルト)までの電子線と5 MeV までのX線である。セシウムは原子炉の使用済み燃料から分離精製して使われるが、コスト的にコバルトにかなわない。コバルトは使用実績が多く、線源工学もほぼ完成しており、最高400万キューリーのプラントまでが建設可能である。欠点は5年で出力が半減するため毎年追加しなければならないこと、処理能力に限界があること、生産がカナダ原子力公社の独占状態にあることなどである。電子線は貫通力が小さいという欠点はあるが、現在用いられている3~4 MeV, 出力100kW程度のもは、コバルトの670万キューリーに匹敵する。しかも電子線は方向性があるためエネルギー効率がよく、液状、粉体の処理ではコバルトの1,500万キューリーと同じ能力となる。わが国の輸入穀物の荷揚げスピードは毎時400~600tであるが、この防疫処理はコバルトでは無理である。日本の電子線加速器の開発能力は世界のトップレベルにあり、今後の電子照射プラントの利用開発が期待される。また電子線を高質量の物質、例えば金などに照射するとX線に変換する。まだ食品照射用のX線発生装置は開発されていないが、わが国の加速器技術をもってすると、近い将来3~4 MeVの実用機が世に出ることになるろう。

先進工業諸国では、既存の技術、流通システムに放射線処理がとって代ることはないが、代替技術のない場合と輸入原料の処理には導入されるであろう。例えば冷凍魚介類、畜産原料、乾燥品、飼料原料などである。一方途上国では、エネルギー的にも有利な放射線処理が順調に伸びる筈で、将来はカナダの独占するコバルト60の γ 線と、日本の開発する電子線、X線処理技術が競合することになるろう。

5. 二軸エクストルーダー

エクストルーダーの機能は、圧縮、混合、混練、剪断、溶融、反応、組織化、殺菌、成形、膨化と、食品加工の大半の単位操作をカバーできる。

これらの現象をそれぞれ単独で、あるいは組合わせて複合で利用すれば、例えば次のような広範囲の応用が可能となる。

- 圧縮・脱水(オカラ)、搾汁(果実とその皮、醬油粕、酒粕)、油糧種子(ゴマ、ナタネ、ヒマワリ、大豆)の圧搾
- 粉碎・骨片、木材チップの飼料化、コーヒー、カカオ、ファインレンダリング
- 混合・混練・チョコレート、すり身、めん生地、もち生地
- 剪断……酵母壁損傷、殺菌、酵素部分失活、でん粉分子切断、タンパク変性

表2 有望視される食品・飼料の放射線処理

照射品目と目的	Mrad
高線量照射(> 1 Mrad)	
○食品の安全性殺菌	2.5 ~5
○食品の特殊材料(香辛料, 天然着色料など)の完全殺菌	1 ~3
○凍結温度での肉類・魚介類の完全殺菌	3 ~5
○無菌動物用飼料の完全殺菌	2.5 ~5.0
低線量照射(0.1~ 1 Mrad)	
○枝肉・包装魚介類, 畜水産加工品の0~4℃における貯蔵期間の延長	0.2 ~0.3
○冷凍卵・ココナツ・肉類・畜産加工品などのサルモネラ食中毒防止	0.1 ~1
○家畜飼料中のサルモネラ菌・腐敗菌・害虫の殺滅	0.1 ~1
○肉類の病原性寄生虫の防除	0.1 ~0.2
極低線量照射(0.1< Mrad)	
○熱帯果実(パイナップル・マンゴー)害虫の不妊化	0.01 ~0.05
○果実・野菜類の熟度調整	0.02 ~0.2
○穀類の虫害防止	0.01 ~0.05
○ジャガイモ・タマネギなど根菜類の発芽防止	0.002~0.015

加熱・溶融…酵素失活（リパーゼ，ウレアーゼ，リポキシゲナーゼ，パーオキシダーゼ，アミラーゼ），殺菌，反応，組織化，無毒化，生理活性物質の抑制（トリプシンインヒビター，ヘماغルチニン）

成形……ブロック化，一定形状（ソーセージ，再成形ステーキ，複合ナッツ）

膨化……スナック，オートミル

二軸型は40%くらいの水分を含む原料を処理できるので，通常の原料ばかりではなく農産廃棄物，加工廃棄物の処理に威力を発揮できる。例えば米糠は脂質の酸化が激しく，集荷して原料として取扱うことは困難である。しかしエクストルーダーで処理すると，リパーゼ，パーオキシダーゼ，トリプシンインヒビターを失活させ， $10^7/g$ に達する雑菌を死滅させ，かつ糠中のタンパク質間架橋による多孔性ペレット化によって油の抽出率を向上させることができる。

豆腐のオカラも短時間で腐敗するので原料化の困難なものであるが，圧搾脱水，高温処理による水分蒸散，殺菌によって原料化が可能である。また反応機として利用すると，フスマを，食物繊維原料とすることもできる。フスマに水分を添加し，最高 $350^{\circ}C$ ，300気圧で処理すると不快臭の除去と食感が改善される。しかし，フスマにはフィチン酸が含まれていて体内でミネラルの吸収を阻害すること

が予想されるが，上記の条件で処理する際に，食酢，クエン酸などの有機酸を加えるとフィチン酸は加水分解され，良質の食物繊維となる。

高温，高圧下で原料を溶融するといった食品の加工工程はこれまでになく，今後の応用展開は予想を越えたものとなろう。また1台のエクストルーダーで大豆の搾油に続いて人造肉が製造されるわけで，途上国での栄養改善，食生活の上などに役立つことが期待される。

6. 膜処理技術

逆浸透膜による濃縮は，常温附近の温度帯で単に母液を $30\sim 50kg/cm^2$ 程度に加圧するのみなので製品の品質が良く，エネルギー的にも蒸発濃縮の1/17と極めて望ましい方法である。したがって果汁，卵白，メープルシラップ，チーズホエーの濃縮，食品工場の廃水からの有価成分の回収などへの利用開発がすすめられている。しかし，濃縮限界が可溶性固形成分30%程度と低く，濃縮過程における膜の性能の低下，装置内のサニテーション，膜の耐久性と価格など問題点も多い。これらが解決されると，わが国では少なくとも500万t以上の液状食品，1,000万t以上の食品加工排水を対象として省エネルギー技術として飛躍的に伸びるであろう。

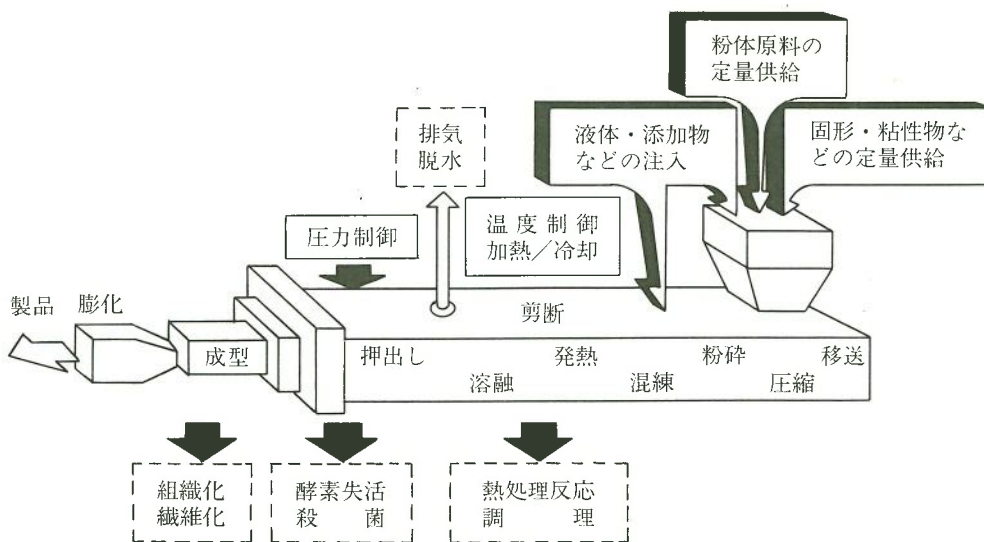


図1 エクストルーダーの機能と工程

最近ジュースなどの濃縮品がケーキ、キャンデーの素材用としてつくられているが、これらを利用しての新食品の開発も考えられる。例えば牛乳の2倍濃縮品は、甘味のある濃厚な味であるが、これと2倍濃縮ジュースをブレンドした場合、いずれも内容成分100%のものとなり、創造された自然食品といえる。この2倍濃縮牛乳でカフェオーレをつくると本物の味を超えたものになる。

アルコール濃縮用の膜も実用化の段階に入っており、船上での水産加工用に期待されている。マリンビーフの製造にはアルコールによる脱水、脱脂工程が不可欠であるが、船上にアルコール蒸溜装置を設置することは不可能である。一方、マリンビーフの品質は原料のイワシの鮮度に左右されるため原料確保は沿岸漁業にたよらざるをえなかった。しかし、膜処理技術でアルコールが回収されると、漁場を追いながらの船上加工が可能となり、また廃水処理問題も解決できるのでコストも低減できることになる。エクストルーダーと膜によるアルコール回収を組み合わせると、対象原料の中も広がり、将来は水産原料からステーキ用の肉を製造するというのも夢ではない。

膜技術の欠点のひとつは、最終濃縮濃度が固型物25~30%と低いことである。これに対し真空濃縮法では45~50%、凍結濃縮法では40~45%である。食品分野における膜技術の今後の開発目標は、多段式膜濃縮法によって固型物濃度を40~45%に上げることと、機能的食品成分などの分離濃縮のために電極を組

み込んだ膜濃縮法などを確立することにある。

7. 減圧、差圧コンテナ

グラマン社で10年程前にハイポバリックコンテナを開発した。ハイポバリックコンテナとは減圧貯蔵用コンテナで(通常10~100 Torrで使用)、貯蔵兼輸送用コンテナである。減圧下で加湿空気を流しながら貯蔵するので、熟度を促進させるエチレンガスの効果を抑制し、酸素濃度を低くするため休眠状態を保ちかつ重量減を防ぐということは容易に予想される。つまり、冷蔵とCA貯蔵を合わせて、これから冷蔵障害(アルコール、アセトアルデヒドの蓄積)とエチレンガス効果を除き、重量減を抑えるような貯蔵方式である。

コンテナは8×8×40フィート、容量550立方フィート(約44m³)、自重10t、積載荷重18.7tである。内部温度は-28℃から18℃まで可変で、積載貨物全体を48時間以内に必要温度に到達でき、内部加湿はRH95%まであげられる。このコンテナシステムは120~280m³の円筒型固定式の減圧貯蔵倉庫にも応用できる。

減圧コンテナの実用上の利点は第1に高熟度の果実、野菜を出荷できることと、混載が可能なことである。例えばメロンとカーネーションを通常の冷蔵コンテナに混載すると、エチレンの影響により花が開かなくなる。次に牛肉、馬肉など熟成が必要でかつ単価の高い食品の貯蔵兼輸送コンテナとして最適と考えられることである。牛、馬のような大動

表3 ハイポバリック貯蔵

品 目	冷 蔵 (日)	ハイポバリック (日)	品 目	冷 蔵 (日)	ハイポバリック (日)
牛 肉	12~14	45	ト マ ト	14~21	60~100
鶏 肉	7~14	21	バ ナ ナ	10~14	90~150
豚 肉	5~7	21	リ ン ゴ	60~90	300
小 エ ビ, 魚	3~5	14~21	桃	45~60	300
パイナップル	9~12	40	カーネーション	10	91
イチゴ	5~7	21~28	菊	86~	21~28
タマネギ	2~3	15	グラジオラス	5~7	30
キュウリ	10~14	41	バ ラ	7~14	50
レ タ ス	14	40~50	パ パ イ ヤ	7~12	21~28

(グラマン社, 1978)

物は屠殺後24時間くらいで死後硬直が解かれるが、消費者に柔い良質の肉を供給するためには0℃で20日間または5℃で10日間くらいの熟成を必要とする。減圧コンテナでは1℃で8週間くらいの貯蔵が可能となるので、輸送、熟成、出荷調整、貯蔵と多目的に利用できる。

将来の農産物の遠隔地出荷は海上輸送が主力になるだろう。その場合、個々の農産物について荷姿から常温、冷蔵、減圧などの輸送手段までを選択していくのは当然であるが、もう一歩すすめて遠隔地輸送システムをつくりあげる必要がある。この輸送システムは、収穫から市場のセリにかかるまで4～5日以上も要するような場合には、その間の市場価格の変動による危険を避けるような短時間の需給調整機能も備えていなければならない。

一連の物流を考えると、産地での収穫、選別、包装、予冷、冷蔵、コンテナ積載、船積、海上輸送、本土中継地の荷揚げ、その後の出荷調整用の貯蔵と加工、市場出荷用の選別、包装、格外品の加工などのすべてを想定しなければならない。たとえば減圧コンテナを用いるなら、段ボールの吸湿を避けるためプラスチックまたはアルミ製大容器とし、本土中継地で選別、市場出荷用包装を行うと良い。中継地では格外品とか、出荷を見合したものの一次加工を行い、給食産業へまわすことも一策である。

このハイボバリックコンテナが普及しなかった理由は、レンタルシステムであり、かつ冷蔵コンテナに較べてコストが2.5倍くらいになったためである。しかし現在国内メーカーでも独自の減圧コンテナを開発中であり、リンゴ、ナシなどの高級国産果実の輸出用コンテナとして期待されている。

また日本独自の方式として、前述の減圧貯蔵の簡易型とも言うべき差圧減圧貯蔵の研究も行われている(生研機構)。この方法は減圧程度を100～300 Torr とし、この範囲内に納まるように間欠的に真空ポンプを稼働する。トマト、メロンともに呼吸量は常圧時の1/10に抑制され、相対湿度は各設定温ともに100%を保っていた。この方式をコンテナまたは

貯蔵庫に導入することは比較的簡単であり、国内流通に適したものと考えられる。すでにトラック発電と一般電力の兼用で、差圧予冷方式を取入れた冷蔵・冷凍(常温～-35℃)コンテナが開発されているが、差圧減圧コンテナも定置、トラック兼用として開発されるであろう。

8. ダイナミック貯蔵

ダイナミック貯蔵とは、京都大学の山下律也教授によって提案された方法で次のような考え方である。ダイナミック貯蔵法は、農産物を流通単位ごとに蒸着フィルム袋に封入し、減圧ポンプを利用して適当な温度・湿度・ガス組成の空気の入れかえを呼吸式によって行おうとする方法である。封入物の貯蔵状態は、温度・湿度・ガスセンサによって検出し、調温・調湿空気によって最適温度と水分に調整せしめ、必要に応じて最適ガス組成の気体に取りかえる。農産物の貯蔵条件は多様であり、かつ、いくつかの要素を組合わせたコントロール条件を設定する必要があるので、システムとして取り扱わなければならない。このような総合的な貯蔵環境調節は、コンピュータによる制御が容易となった現在、十分可能と思われる。多数のダイナミック袋を流通単位ごとにコントロールするとしても、個別の操作は短時間であり、時間間隔をおいた運転となるので、機械設備は従来のものに比較し、ごく小規模なものとなろう。また、同一倉庫内で異なった環境貯蔵条件を設定することが可能であり、穀物のほか、青果物・食品など多目的に利用することができる。現在の低温貯蔵庫はかなり設備費・運転経費が高価になっているが、このような新しい貯蔵技術が確立されれば、低コスト化と産物の品質向上につながるものと思われる。

この方式は従来の大型冷蔵庫、予冷库を利用して多品目の農産物を貯蔵でき、さらに長距離輸送用の大型コンテナの混載用技術としても発展させることができる。一次加工された農産物または加工食品などの混載技術は、食糧基地にとって最も重要な技術となろう。

生 研 機 構 催 し も の 予 定

昭和63年度における生研機構の催しもの予定は次のとおりです。これらのうち、フォーラムについては改めて御案内するよう予定しておりますが、関心をおもちの方は下記へお問合せ下さい。

1. 関東地域バイオテクノロジー懇談会
昭和63年9月21日 於 野田市
2. 近畿地域バイオテクノロジー懇談会
昭和63年10月27・28日
於 加西市
3. BRAIN テクノフォーラム「醸造微生物」
昭和63年11月上旬 於 東京都
4. 動物DNA研究会
昭和63年12月5日 於 つくば市
5. BRAIN テクノフォーラム「畜産」
昭和64年2月中旬 於 東京都

問合せ先

生研機構 企画部 松田, 伊澤, 貝沼
〒160 東京都新宿区新宿6丁目24-16
日本生命新宿6丁目ビル
TEL 03-205-6565,
FAX 03-205-6566

生研機構
出版案内

農林水産ジーンバンク

『微生物遺伝資源配布目録』

生研機構では、貴重な遺伝資源を広く活用していただくために、遺伝資源配布のあっせんを行っています。昭和63年度から新たに、微生物遺伝資源の配布が開始されております。

この「微生物遺伝資源配布目録」は、昨年発行いたしました「植物遺伝資源配布目録」と同様、企業の皆様の研究開発に、農林水産ジーンバンクの遺伝資源をより多く活用していただくこと、農林水産省から版權使用許可を得て発行するものです。

この目録に掲載されているのは、主として所在情報のみですが、その培養特性やパスポートデータについては、ご希望により生研機構が照会のお手つたいをします。

遺伝資源をより多く有効にご利用いただくために実費にてお頒けいたします。どうぞご検討の上、注文いただくようご案内いたします。

仕様

B5版上製 約250頁

表紙NTラシャ くるみ製本 紫色

内容

利用手引

目次（微生物名）

微生物名一覧

微生物遺伝資源配布規定など

頒価（送料こみ）

約2,000円（予定）

発行予定日 昭和63年10月下旬

編集後記

BRAINテクノニュース9号をおとどけます。今回は少し視点を変えて赤潮の発生子知を取り上げてみました。従来の予知法は気象と発生に関する過去のデータの解析に基づくものでした。南西海区水研では、今井氏らが中心になって赤潮微生物のなかで最も被害の大きいシャットネラの生活環を解明しました。そこで生活環の各段階における微生物の生態に

及ぼす気象等の環境要因の影響を解析し、それに基づいて発生子知システムを開発しようとしています。従来よりかなり確度の高い予知システムが開発されるのではないかと期待されます。海洋微生物の発生子知法も作物の病害の発生子察法と究極のところ一致するのではないかと興味を持たれます。

(大畑)

ブレイン テクノニュース (第9号)

昭和63年9月15日発行

発行者 渡邊 五郎

発行所 生物系特定産業技術研究推進機構

〒160 東京都新宿区新宿6丁目24-16 日本生命新宿6丁目ビル3F
TEL. 03-205-6565 FAX. 03-205-6566

編集 (社)農林水産技術情報協会

〒103 東京都中央区日本橋兜町15-6 製粉会館6F
TEL. 03-667-8931 FAX. 03-667-8933

© Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 1988