

# BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

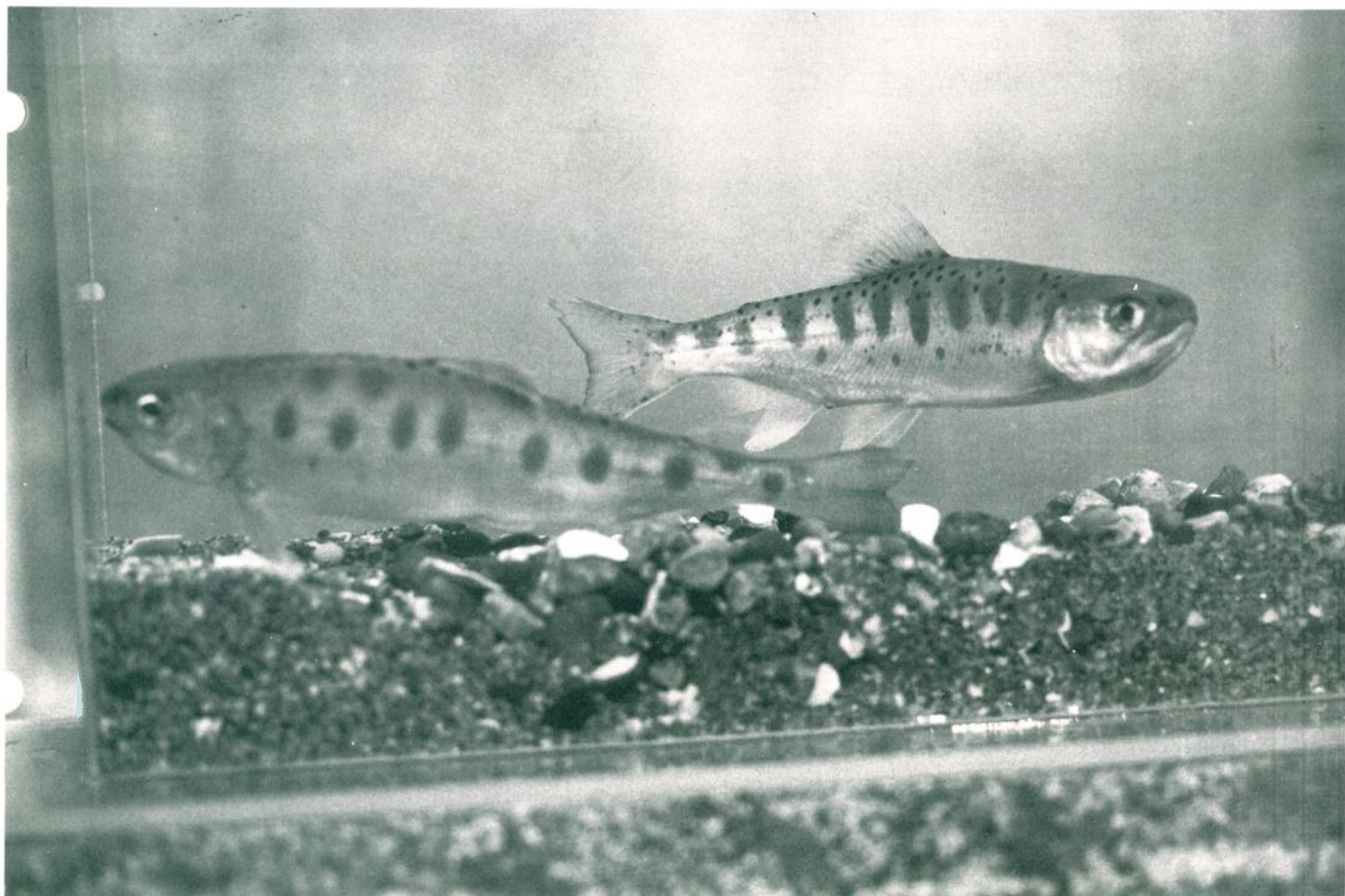
TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

## 第 19 号

MAY 15, 1990



### 表紙説明

アマゴの卵を用いて作出されたアマゴ(右)とサクラマス(左)の雄性発生個体。アマゴは雄で超雄(YY)になっていることが確認された。

雄性発生：未受精卵にガンマー線を照射して卵核を完全に破壊したのち、精子を授精させると精子核をもとにして発生を開始する。第1卵割を阻止して精子由来の染色体を倍にすると生存可能な個体となる。この個体は遺伝的には精子から作出されたことになる。

(写真提供 小野里 坦氏)

国内情報	1
牛型モノクローナル抗体作製法、茶葉からのカテキン抽出技術、イネのトランスポゾン分離、染色体の完全分離技術	
文献情報	14
海洋細菌およびシアノバクテリアのウイルス病による死亡、老化および酸素ストレスによるたんぱく質の酸化と分解、マクロファージスカベンジャーレセプター遺伝子、DNAフィンガープリンティング法の信頼性	
海外便り	20
カリフォルニア大学留学記、第8回国際羊毛研究会議	
特別情報	26
農水省プロジェクト研究課題一覧	

### 本号の紙面

## 口 絵

### 国内情報

小野寺 節・吉原一浩

牛型モノクローナル抗体作製法の開発……………1

堀田 博

茶葉からのカテキン抽出技術の開発……………4

廣近洋彦

イネのトランスポゾンの分離……………7

清水信義

ヒト染色体のソーティング……………11

### 文献情報

海洋性細菌およびシアノバクテリアのウイルス病による死亡率……………14

老化および酸素ストレスによるたんぱく質の酸化と分解……………15

動脈硬化症に関与すると考えられるマクロファージ スカベンジャー レセプター  
遺伝子のクローニング……………16

メイン州の事件は、DNAフィンガープリンティング法に疑問を投げかけた……………18

### 海外便り

吉田 充

カリフォルニア大学留学記

薬剤-生体高分子相互作用の分子レベルでの研究……………20

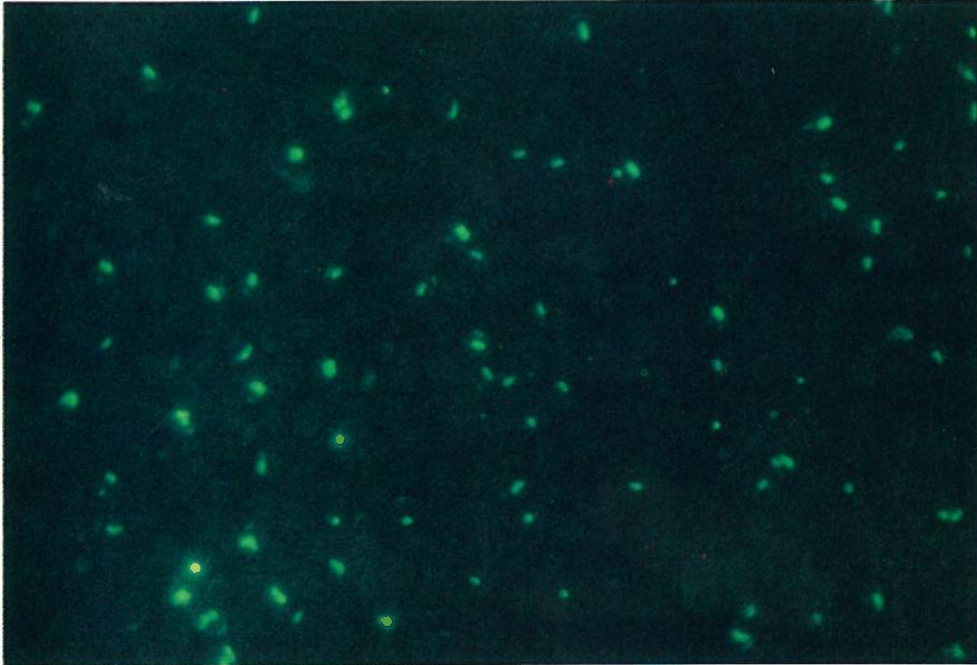
塚田益裕

第8回国際羊毛研究会議に参加して……………22

### 特別情報

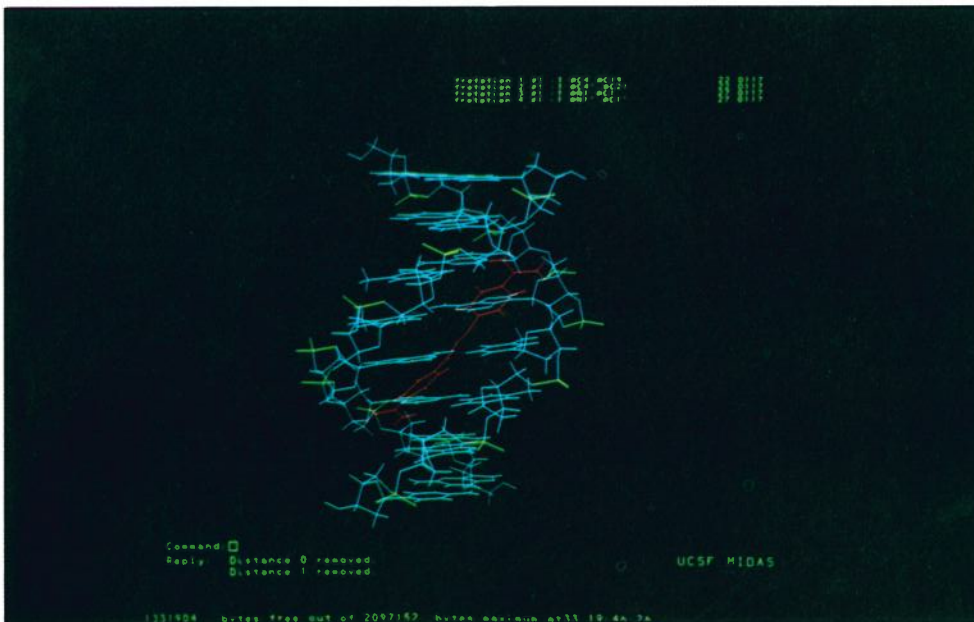
農林水産省プロジェクト研究課題一覧……………26

牛型モノクローナル抗体作製法の開発 (本文 1 ページ)



牛型モノクローナル抗体を用い、蛍光抗体間接法で観察した *Theileria sergenti*

カリフォルニア大学留学記——薬剤—生体高分子相互作用の分子レベルでの研究 (本文 20 ページ)



コンピュータグラフィクスで描いたDNA—ベレニル (動物医薬品) 分子結合体の立体構造モデル  
DNA: 青と黄 (リン酸基) で示したもの  
ベレニル: 赤で示したもの



## 国内情報

## 牛型モノクローナル抗体作製法の開発

農林水産省 家畜衛生試験場 免疫細胞研究室

小野寺 節・吉原一浩

## 1. はじめに

現在様々な動物のリンパ球を用いてハイブリドーマの作製が試みられている。マウスやヒトのリンパ球を用いたハイブリドーマについてはすでに多数の報告が見られるが、家禽・家畜のリンパ球を用いてのハイブリドーマの報告は非常に少ない。わずかに牛白血病ウイルス抗原、大腸菌の鞭毛抗原 F 5 (K99)、牛ブルセラ菌 L P S、羊赤血球に対する牛型モノクローナル抗体作製等の報告が見られる<sup>1-4)</sup>。

牛型モノクローナル抗体が畜産分野においてその利用の遅れている理由は、① 融合親株としての牛ミエローマ細胞の中に優れた株のないこと、② その結果としてマウス・ミエローマ細胞を融合の親株として用いるが、これはヘテロハイブリドーマであるため、細胞融合後のモノクローナル抗体の産生能力が不安定と考えられていること、③ モノクローナル抗体に関するマウスリンパ球を用いての仕事が先行しているため、牛型モノクローナル抗体を用いても、マウス型モノクローナル抗体と同様の結果が得られるとの先入感があることなどが考えられる。

技術的には、最近様々な無血清培地が開発され、牛胎仔血清のないハイブリドーマ上清でのスクリーニングが可能となってきた。したがって牛・マウスの細胞融合による牛型モノクローナル抗体の検出が容易となってきた。融合促進剤としてのポリエチレングリコール (PEG) の品質の向上も見られた。このことから牛型モノクローナル抗体の作出が容易になってきた。ここでは、これらの牛・マウ

スヘテロハイブリドーマ法の改良法を示すとともに、その実施例として牛小型ピロプラズマ原虫 (*Theileria sergenti*) に対する牛型モノクローナル抗体を記す。

## 2. 再融合法によるモノクローナル抗体の作製

家畜リンパ球を用いたハイブリドーマの抗体産生能力の安定化を高める方法として再融合法がある<sup>4)</sup>。その方法は例えば牛・マウス

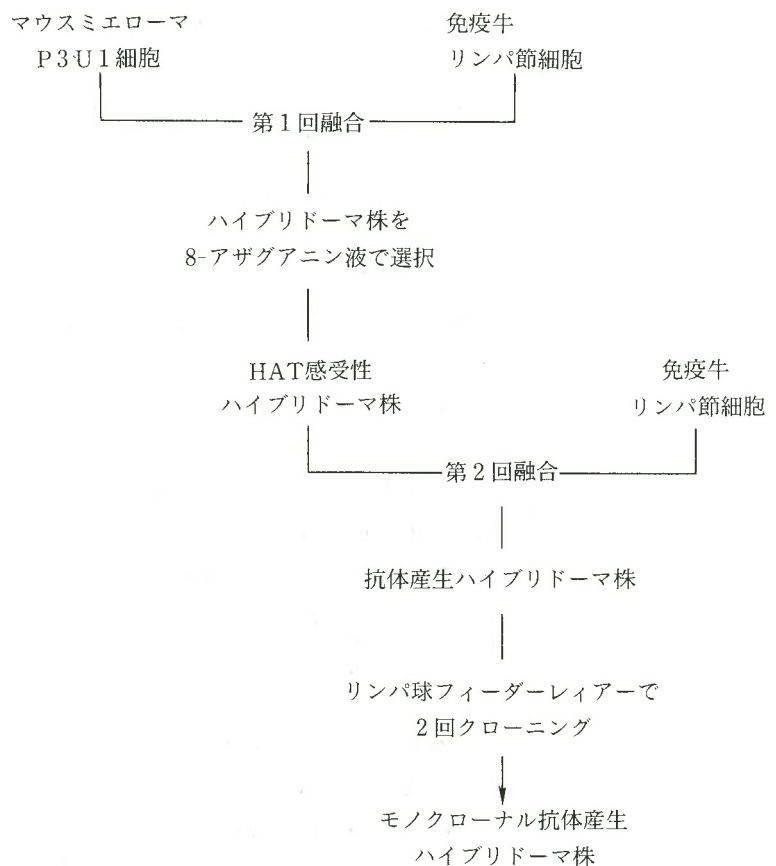


図1 再融合法によるモノクローナル抗体の作製法

のヘテロハイブリドーマを作製し、この株をHAT感受性にしてハイブリドーマ親株にするものである(図1)。我々もこの方法を行い、マウスミエローマ細胞×牛リンパ球の場合と融合効率を比較した。その結果融合およびコロニーの形成効率に大きな差は見られなかったが、前報<sup>4,5)</sup>のように一般的には抗体産生能力の安定性は良いとの報告が多い。また、再融合法により、用いる増殖培地中の血清のロット差も比較的少ないとの意見も得られた。

### 3. *Theileria sergenti* に対する牛型モノクローナル抗体

*Theileria sergenti* は、牛に周期的な発熱と貧血を引起し、日本ではピロプラズマ病の病原体である。この病原体は放牧地を広く汚染し、現在有効な原虫撲滅法や病気の予防法は得られていない。ピロプラズマ病に冒された牛は発育量や肉量が低下する。したがって本病は食肉生産や畜産振興の最大の阻害要因の一つとなっている。現在この原虫は培養が不可能であり、この病気を予防する有効な不活化ワクチンは未開発である。したがって、様々な新しい技術を用いてピロプラズマ病に対する有効なワクチンの開発が待たれている。

いくつかの論文が *Theileria sergenti* の抗原解析について述べている。感染を耐過した牛血清とウエスタン・ブロティングでは、分子量23 k, 29 k, 32 k, 64 kの4種類のポリペプチドが検出され、前報によるとこれらの物質が免疫を誘発する抗原と考えられている<sup>6)</sup>。原虫抗原に対するマウス型モノクローナル抗体は23 k または32 k のいずれかのポリペプチドと反応しているが<sup>7)</sup>、これらの物質は果たして牛抗体と反応する物質と同一との確証はない。したがってこのモノクローナル抗体で精製された抗原がELISAによる血清診断に有効であるかについても不明確である。*Theileria sergenti* 感染症に対する抗体治療についても、マウス型モノクローナル抗体は牛に対して異種動物たんぱくとなるため、速やかに牛体内から排出される。また小型ピロ

プラズマ原虫の蛍光抗体法を用いた診断の標準化、原虫株の分類・同定の標準化のために良質のモノクローナル抗体が必要とされる。

以上のようにワクチン開発、ELISA・蛍光抗体法等の診断法の改良・標準化、治療法の開発、原虫株の分類・同定のための *Theileria sergenti* に対する牛型モノクローナル抗体の開発が長く待ち望まれていた。

我々は *Theileria sergenti* に対する牛型モノクローナル抗体を作製するため、原虫を実験感染させた牛の腋窩リンパ節を取り出し、フィコール・ハイパーク法によりリンパ球を分離した。1×10<sup>8</sup>牛リンパ球を1×10<sup>7</sup>マウスミエローマ細胞株(P3U1)と融合した。融合法はポリエチレングリコール4000(メルク社)を用いた。融合後、室温でHAT選択培地に移し、増殖させた。この培地内では融合細胞のみが増殖する。スクリーニングのために細胞を無血清培地に移した。培養上清における *Theileria sergenti* に対する抗体産生はELISAで検出した。陽性細胞をさらに限界希釈法によりクローニングした。得られた原虫に対するモノクローナル抗体のガンマグロブリンクラスは、免疫電気泳動で抗牛IgM(重鎖特異性)と強く反応することにより、IgMであることが明らかとなった。

ELISA および後述するウエスタンブロットティングのための抗原は *Theileria sergenti* 池田株を用いた。原虫は10%グリセリン液を加え、-70℃に保存したものを2×10<sup>8</sup>感染赤血球の量を牛頸部皮下に接種して牛体内で増殖させた。牛体内で増殖した原虫の抗原は全採血後、高圧窒素ガス法<sup>8)</sup>により精製した。この方法を用いれば、総たんぱく量1 mlあたり270 μgの原虫抗原が得られる。また、*Theileria sergenti* を実験感染させた牛を採血し、血清を蛍光抗体法ELISAおよびウエスタンブロットティングの陽性対照として用いた。

*Theileria sergenti* に対する蛍光抗体間接法を常法により行なった<sup>7)</sup>。牛型モノクローナル抗体は、蛍光抗体法で特異的に反応した(口絵)。周囲の牛赤血球や白血球の細胞質に抗体の反応は見られなかった。またこの上清

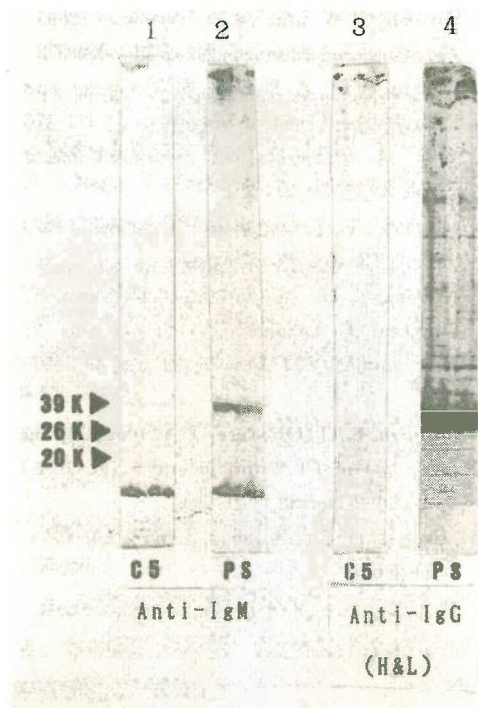


図2 *Theileria sergenti* 抗原および牛型モノクローナル抗体を用いたウエスタンブロッティング

C5：一次抗体として、牛型モノクローナル抗体を用いたニトロセルロース膜

PS：一次抗体として、*Theileria sergenti* 感染免疫牛血清を用いたニトロセルロース膜

Anti-IgM：二次抗体として、抗牛IgMを用いたニトロセルロース膜

Anti-IgG：二次抗体として、抗牛IgGを用いたニトロセルロース膜

1レーンは、牛型モノクローナル抗体の反応性で、29k、26k及び20kの位置に反応バンドが見られる。

4レーンは、免疫牛血清の反応性で、29k、26k、20kを含む多数の反応バンドが見られる。

は、*Theileria sergenti* 抗原を用いたELISAにおいても強陽性を示した。

牛型モノクローナル抗体と反応する *Theileria sergenti* 抗原の分子量を明らかにするために、ウエスタンブロッティングを行なった。まず上記の方法で精製した抗原を用いて5～20%連続濃度のSDSポリアクリルアミドゲル(PAGE)を用いた電気泳動を行なった。次にPAGEにより分離されたポリペプチドを電氣的にニトロセルロース膜に転写し、牛型モノクローナル抗体を一次抗体として用い、二次抗体としてパーオキシダーゼ標識抗牛IgMを用い反応抗原の分子量を測定した<sup>7)</sup>。これらの操作を *Theileria sergenti* 感染牛血清に対しても同時に行なった。図2に見

られるように、ニトロセルロース膜の39k、26kおよび20kの位置に牛型モノクローナル抗体は3本のバンドを示した。このことから我々の得たモノクローナル抗体は39k、26kおよび20kの3種類のポリペプチド抗原と同時に反応することが明らかになった。また *Theileria sergenti* 感染免疫牛血清は、39k、26kおよび20kを含む多数のポリペプチドと反応するのが見られた。

ハイブリドーマ細胞内に存在する牛染色体およびマウス染色体をGバンド法を用いて観察した。得られた細胞株内には10本前後の牛染色体が確認された。またクローニングしたハイブリドーマは6か月まで高濃度の抗体産生が認められた。抗体産生能力を維持するためにはクローニングをくりかえす必要がある。

以前報告された *Theileria sergenti* に対するマウス型モノクローナル抗体は32kまたは23kの1種類のみポリペプチドと反応した<sup>7)</sup>。したがって牛型モノクローナル抗体はこれまでのマウス型モノクローナル抗体と全く異質の抗原エピトープを検出していると考えられる。したがって、マウス型モノクローナル抗体を応用したELISAより牛型モノクローナル抗体を用いたELISAの方が *Theileria sergenti* に対する牛抗体検出において有用と考えられる。また、感染耐過牛血清も、39k、26k、20kを含む多数のたんぱくと反応することから、これらのポリペプチドはワクチン開発に重要な物質と考えられる。

#### 4. おわりに

家畜感染症に対する診断およびワクチン開発のためにモノクローナル抗体の重要性はますます高まってきている。一方、ヒトの腫瘍における研究から、腫瘍に対するヒト型モノクローナル抗体を作製することにより癌特異抗原がより明確になっている<sup>9)</sup>。我々は原虫感染牛より牛型モノクローナル抗体を作製し、原虫抗原の分類を試みた。最近、家畜衛生上の問題となっている慢性感染症の病原体には、ヘルペスウイルス、原虫、腫瘍ウイルス、好酸菌等、抗原構造の複雑なものが多い。それ

らの病原体の抗原分類をモノクローナル抗体で行う際に、マウス型モノクローナル抗体と、牛型または豚型モノクローナル抗体とでは認識される抗原エピトープの異なることが考えられる。将来これらの抗原を分類する際に自然宿主動物のリンパ球を用いたモノクローナル抗体の作製がますます重要になると思われる。

#### 文 献

- 1) Tanaka, M., T. Okabe and N. Sasaki (1988) *Jpn. J. Vet. Sci.* 50 : 1136-1138
- 2) Anderson, D. V., E. M. Tucker, J. R. Powell and P. Porter (1987) *Vet. Immunol. Immunopathol.* 15 : 223-237
- 3) Nielsen, K. H. and M. D. Henning (1989) *Vet. Immunol. Immunopathol.* 21 : 363-372
- 4) Tucker, E. M., A. R. Dain, S. W. Clarke and R. A. Donker (1984) *Hybridoma* 3 : 171-176
- 5) 児玉 道, 伊藤隆司(1989) 日本免疫学会総会・学術集会記録 19 : 251
- 6) Ohgitani, T., T. Okabe and N. Sasaki (1987) *Jpn. J. Vet. Sci.* 49 : 531-534
- 7) Kobayashi, N., M. Onuam, R. Kirisawa, T. Ohgitani, K. Takahashi, N. Sasaki and Y. Kawakami (1987) *Jpn. J. Vet. Sci.* 49 : 697-702
- 8) Shimizu, S., T. Onodera, T. Minami, Y. Tanaka, N. Goto, T. Fujinaga and S. Ito (1986) *Jpn. J. Vet. Sci.* 48 : 591-594
- 9) Hirohashi, S. et al (1986) *J. Immunol.* 136 : 4163-4168

#### 国内情報

## 茶葉からのカテキン抽出技術の開発

農林水産省 野菜・茶業試験場 製品開発研究室

堀田 博

#### はじめに

茶は薬用植物として中国から日本に伝来し長い間飲用されているものであり、カフェイン、カテキン類、ビタミンC、ビタミンE等の薬理作用を持つ有効成分が含まれていることが知られている。

このような茶の生理活性成分を、医薬品や天然食品添加物として利活用する研究・開発が盛んに行われている。特に、茶葉中に最も多く含まれるカテキン類は茶タンニンとも呼ばれるポリフェノール化合物で、多くの漢方生薬の有効成分として知られるフラボノイドの一つである。また、緑茶、紅茶の味に渋みを与え、更に、ポリフェノール酸化酵素の働きにより、橙赤色のテアフラビンや赤色もしくは褐色のテアルビジンといった紅茶の色素が生成される。

茶に含まれる主なカテキン類は、エピガロカテキンとエピカテキン、それらの没食子酸エステルであるエピガロカテキンガレートとエピカテキンガレートの4種類であり、抗酸化作用、抗菌作用、消臭作用、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用、突然変異抑制作用、血中コレステロール調整作用、血圧上昇抑制作用、アンジオテンシンI変換酵素抑制作用、抗血小板凝集作用等多く生理活性を持つことが知られ<sup>1)</sup>、その利活用が注目されている。

その理由は、

① カテキン類抽出用原料としての「茶」を考えると有利な点が幾つかある。まず、茶は永年作物であり毎年一定量収穫できるが、夏や秋に採れる三番茶や番茶等は余り利用されていないため、それを収穫するだけで年間1万トン以上の量が調達可能である。次に、原料用作物(茶樹)を新たに栽培する必要がないため、新しい投資とそのリスクを負うこ



とがない。更に、カテキン類は茶葉中にその乾重量当たりで15~25%と多量に含まれる。

② 「茶」は日常の飲料として長年親しまれており、人体に有害な成分は含まれていない。

③ 最近「機能性食品」が話題となっているが、カテキン類はその三次機能（生理活性、生体調節機能）を持つ成分として注目されている。

④ 消費者の天然食品添加物指向が強いが、1991年からは全ての食品添加物の表示が義務化される。そこで、添加物を使った食品に日頃親しんでいる「茶の抽出物」と表示されれば消費者に安心して受け入れてもらえるものと予想される。

このような観点から、天然物であり抗酸化作用や抗菌作用の強いカテキン類を多く含む緑茶抽出物を使った食品添加物が、既に実用化されている。しかし、茶からのカテキン類を抽出すると生理活性の強いカフェインも同時に抽出されるため、ある製品はカフェインを多量に含み、また精製された製品ではカフェイン除去工程に塩素系有機溶媒を使用するため、カテキン類製造工程でのカフェインの安全な除去法の開発という問題が残されていた。

コーヒー豆や紅茶の種々の脱カフェイン技術<sup>2)</sup>として、①有機溶媒、熱水、油脂や超臨界液体炭酸による抽出法、②非イオン性吸着樹脂、活性炭、シリカゲルや活性アルミナへの吸着法等が公表されている。これらの中で、カテキン類製造工程での安全なカフェイン除去法として考えると、前記②の方法では、カフェインと同時にカテキン類も吸着されるためにその損失が多く、①の中でも超臨界状態の液体炭酸を利用する抽出法<sup>3)</sup>だけでカフェインの選択的除去がほぼ完全に行われる。しかし、危険な高压ガスを取り扱う大がかりな抽出装置を必要とし、抽出コストも高く、実用化には難点があると考えられる。

最近、分析用のゲルろ過充てん剤を使用したカテキン類精製法<sup>4)</sup>が公表された。ところが、この方法は実験室規模での茶や茶葉中からのカテキン類抽出・精製法を大規模化した

ものであり、カテキン類をクロマト的に遊離型とエステル型のカテキンに分離して、高速液クロで個々のカテキン類を分取するための注入試料を得ることを目的としている。

昨年、筆者が報告した茶カテキン類の抽出精製法<sup>5)</sup>は、茶抽出物の調整からカテキン類の精製までの全工程で有機溶媒としてエタノールのみを使用する方法であり、安全で純度の高いカテキン類混合物を得ることができるので、その概略を紹介する。

### 1. 茶葉からのカテキン類の効率的抽出法

粉碎した茶から、種々の溶媒および熱水によるカテキン類の抽出を行った。熱水による抽出の場合には粉茶では抽出液をろ別できないため、未粉碎の茶を用いた。その結果、アセトン、メタノール、エタノール等の含水溶媒では茶葉に含まれるカテキン類全てを4時間以内に抽出できたが、水を含まないか、あるいは水に不溶な溶媒では抽出率は5%以下であり、また、熱水による抽出率は60%以下であった。この抽出物が食品添加物の製造原料に使用されることを考慮に入れ、抽出溶媒はエタノール水溶液(80% V/V)とした。

### 2. 吸着樹脂、ゲルによるカテキン類の吸着、エタノール水溶液による溶出

非イオン性吸着樹脂とゲルろ過用充てん剤にエタノール抽出物を吸着させ、脱イオン水で洗浄後、高濃度のエタノール水溶液(80% V/V)で溶出させた。

その結果(表1)、トヨパールHW-40とセファデックスLH-20では、溶出物中のカテキン類の含有量が高く、カフェイン等の不純物は少なかった。特に、トヨパールHW-40ではカテキン類が特異的に吸着・溶出された。

### 3. ゲルによるカテキン類の精製

ゲルろ過用充てん剤を使用した場合は、高濃度のエタノール水溶液で溶出する前に低濃度のエタノール水溶液(15% V/V)で洗浄す



6 国内情報

表1 茶エタノール抽出物の樹脂, ゲル類に対する吸着量とその高濃度エタノール溶出物および低濃度エタノールによる洗浄処理の効果

吸着剤	吸着量 (g)	溶出物		
		全カテキン量 (g)	カテキン類含量 (%)	カフェイン含量 (%)
Amberlite XAD-2	3.45	1.86	56.7	10.2
〃 XAD-4	7.55	4.48	66.8	9.7
〃 XAD-7	9.25	4.77	51.6	7.2
〃 XAD-8	9.08	6.87	75.7	10.5
〃 XAD-16	10.04	6.72	66.9	13.8
Duolite S-587	4.32	3.19	73.8	9.2
〃 S-761	4.60	2.62	57.1	16.7
〃 S-862	7.44	4.76	64.0	14.4
Toyoparl HW-40	7.18	6.81	94.8	2.2
Sephadex LH-20	8.54	7.75	90.8	5.2
Toyoparl HW-40	洗浄処理*	6.37	98.4	0.1
Sephadex LH-20	〃	6.55	98.2	0.4

Amberlite XAD系とDuolite S系は非イオン性吸着樹脂

Toyoparl HW-40とSephadex LH-20はゲルろ過用充てん剤

\*高濃度のエタノール水溶液(80%V/V)で溶出する前に低濃度のエタノール水溶液(15%V/V)で洗浄処理を行った。

ることにより, カフェインを選択的に除去することができ, 非常に純度の高いカテキン類が得られた(表1)。これは, カテキン類, カフェインとゲルろ過用充てん剤との分配を利用した方法である。それに対して, 非イオン性吸着樹脂ではエタノールの濃度の違いによるカフェイン等の不純物の選択的除去はできなかった。

この方法によるカテキン類の回収率はゲルに対するカテキン類の負荷量にもよるが, 57% (約10g/100mlゲル) から73% (約3g/100mlゲル) であったが, カテキン類の純度を高くするには, 負荷量のある程度以上多くすることがポイントである。また, 精製した

カテキン類と原料茶との個々のカテキン組成を比較すると, エピガロカテキンは減少し, エピガロカテキンガレートとエピカテキンガレートは増加した。

カテキン類精製に使用したゲルろ過用充てん剤は, 高濃度エタノール水溶液で何回か洗浄し最終的に脱イオン水で洗浄することにより再生できる。

以上の結果をもとに, 茶葉からのカテキン類抽出精製法を図1のように設定した。

おわりに

カテキン類抽出原料用茶としては価格が安くカテキン類含量も高い夏に収穫される茶や紅茶用品種が適している<sup>9)</sup>。その他, 茶くずや粉等も使用できる。生葉からもエタノールを加えてミキサー等により粉碎し抽出することができる。

この方法で製造されたカテキン類は, 不純物をほとんど含まず [全カテキン・97%以上, カフェイン・0.1%以下], 抽出・精製工程で有害物質を使用しないため安全である。また, このカテキン類は脂溶性かつ水溶性であり, 酸化防止作用, 消臭作用や抗菌作用を持つ天然食品添加物として用いられるほか, カフェインをほとんど含まないため, 小児用の菓子や菌磨き粉等の添加物としても利用することが期待できる。

なお, 本研究は, 農林水産省の大型プロジェクト研究「生物資源の効率的利用技術の開発に関する総合研究(バイオマス変換計画)」

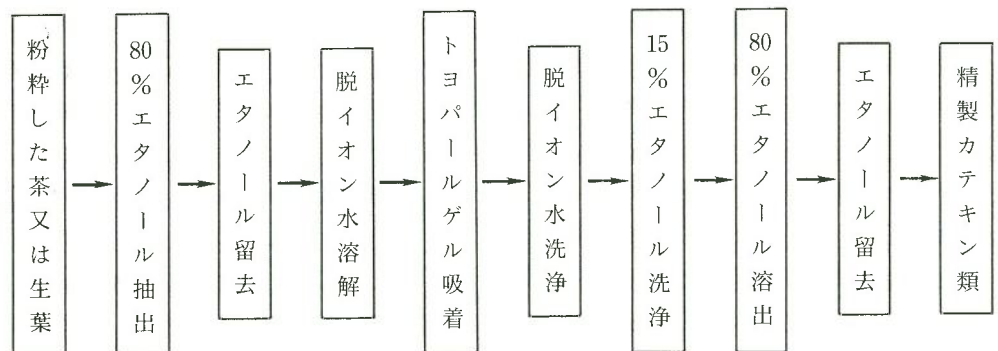


図1 カテキン類精製法の概略

(昭和61年～63年)に参画して得られた成果である。

## 文 献

1) 原 征彦(1990) ニューフードインダストリー 32(2): 33-38

- 2) 谷口良平(1989) 日食工業 36: 777-784  
 3) 有馬 満(1987) 食品工業 30(14): 31-43  
 4) 良辺文久・衣笠仁・竹尾忠一(1989) 農化 63: 845-847  
 5) 堀田博(1989) 野菜茶試研報 B3: 65-74  
 6) 中川致之・鳥井秀一(1964) 茶技研 29: 85-98

### 国内情報

## イネのトランスポゾンの分離

農林水産省 農業生物資源研究所 形質転換研究室  
 廣近洋彦

### はじめに

動く遺伝子トランスポゾンは、約40年前に B. McClintock によってトウモロコシにおいて発見された。その後、細菌や酵母、ショウジョウバエでも発見され、現在では生物の染色体上に普遍的に存在し、遺伝子の発現調節、染色体の再編、生物の進化に大きな役割を果たしていると考えられている<sup>1)</sup>。また、近年トランスポゾンは遺伝子をクローン化するための手段 (transposon tagging) として<sup>2)</sup>、また遺伝子を導入するためのベクターとしても注目されている。しかし、トランスポゾンはイネを含めて多くの有用植物で未だに発見されていない。

真核生物のトランスポゾンの研究は1980年代に入って飛躍的に進んだ。その結果、転移の機構の違いにより大きく二つのタイプが存在することが明らかとなった。これらは、転移の中間体としてRNAを経由するか否かによって区別されている。トウモロコシの *Ac/Ds* やショウジョウバエの *P* 因子は、RNAを経由しないが、酵母の *Ty* やショウジョウバエの  *copia* 様因子は、RNAを経由して転移をする。後者は、レトロトランスポゾン<sup>3)</sup> と呼ばれレトロウイルスと構造および複製機構が非常に似ており、レトロウイルスはレト

ロトランスポゾンから進化してきたものと考えられている。レトロトランスポゾンは、酵母からヒトまで広く分布する主要なトランスポゾンであるが、植物においては最近数例報告があるのみで研究が非常に遅れている。私達は真核生物のトランスポゾンの主要メンバーであるレトロトランスポゾンに着目し、植物からレトロトランスポゾンを同定、クローン化する方法を開発するとともに、上記の観点から研究を行っている。

### 1. トランスポゾンのクローン化と構造解析<sup>4,5,6)</sup>

トランスポゾンはもともと遺伝学的解析によって見出されてきたが、1970年代の終わり頃からはクローン化されたDNA断片に存在する挿入配列として数多く発見されている。酵母の *Ty 1* 因子や線虫の *Tc 1* 因子などがその例である。植物においても、同様な方法でレトロトランスポゾン *Ta 1* がシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) から発見されている<sup>7)</sup>。私達は、これまでとは違った方法でイネのトランスポゾンのクローン化に成功したので以下に紹介したい。

レトロトランスポゾンは、まずRNAに転写され、その後逆転写によってDNAとなり新しい場所へと転移する。この逆転写のプラ

イマーとしてトランスファーRNA (tRNA) が使われ、使われる tRNA はトランスポゾンの種類によって異なっている。このプライマーが鋳型RNAに結合する部位 (PBS: primer binding sequence) は、対応する tRNA の3' 末端と相補的である。これまでに同定された植物のレトロトランスポゾン *Ta 1* と *Wis-2* (コムギから分離)<sup>3)</sup> は、同じ種類の tRNA (tRNA<sup>i met</sup>) と相補的な PBS をもっている (図1)。植物の2本鎖DNAウイルスであるカリフラワーモザイクウイルス (CaMV) と類縁のウイルスは、レトロウイルスと類似の様式で複製をし<sup>9)</sup>、しかもプライマーとして tRNA<sup>i met</sup> を利用している。この様に、これまでに発見された逆転写を介して複製または転移をする植物の因子は全て同じ tRNA をプライマーとして利用していることが明らかとなった (図1)。このことは、これらの因子が共通のレトロトランスポゾンから由来し、また同じプライマーを用いる因子が植物界に広く分布している可能性を示している。また、PBS を指標に未知のトランスポゾンをクローン化できる可能性が考えられる。そこで、tRNA<sup>i met</sup> の3' 末端の14base に対応する合

成オリゴヌクレオチドをプローブとして日本型イネのゲノミックライブラリーをスクリーニングした。その結果、これまでに少なくとも4種類のトランスポゾン (*Tos 1*, *Tos 2*, *Tos 3*, *Tos 4*) を同定することに成功した。用いたプローブは、tRNA 遺伝子とも相補性をもつが、幸いなことに tRNA の3' 末端の CCA 配列は遺伝子上にはコードされていないので、ハイブリダイゼーション後の洗いの条件を適当に選ぶことによって tRNA 遺伝子由来のノイズを消すことが可能である。私達の用いている条件は、x6SSC, 37°C, 5分である。同定されたトランスポゾンは、それぞれ違った長さの long terminal repeat (LTR) をもち、その末端配列は酵母やショウジョウバエの場合と同様に良く保存されていることがわかった (図2)。LTR の下流には、図1に示される PBS が見出された。トランスポゾンの構造を詳細に調べるために *Tos 3-1* の全塩基配列を決定した。その結果、図3に示されるように挿入の際につくられたと思われる5bp のターゲット配列の重複、115bp のLTR、PBS および⊕鎖合成に必要な purine rich 配列 (PPT) 等レトロトランスポゾンに特徴的な配列を持つことが明らかとなった。全長は、5099bp であった。PBS の下流には長いオープンリーディングフレームが存在し、*gag* 遺伝子に特徴的なアミノ酸配列が見出された。しかし、逆転写酵素遺伝子に対応する領域には長いオープンリーディングフレームは存在せず *Tos 3-1* 自身には転移能はないと思われる。インド型イネの *Tos 3-1* 挿入部位に相当する位置には *Tos 3* が見出されないの で、*Tos 3-1* の挿入は、インド型と日本型が

ACCAUAGUCUCGGUCCAAA	tRNA <sup>i met</sup>
***** * *	
TGGTATCAGAGCCATGAAT	CaMV
***** *	
TGGTATCAGAGCCATAGTG	CERV
***** ** *	
TGGTATCAAAGCCATGTGC	FMV
***** ** *	
TGGTATCAGAGCAAGATTC	SoyCMV
*****	
TGGTATCAGAGCCA	Ta1-3
*** *****	
TGGCATCAGAACCA	Wis-2
***** **	
TGGTATCAGAGCCACATTA	Tos1-1
***** *	
TGGTATCAGAGCCATATAC	Tos2-1
* ***** *	
TAGTATCAGAGCCTTGGAG	Tos2-2, 2-3
***** ** *	
TGGTATCAGAGCCTCGTTT	Tos3-1
*****	
3'-ACCATAGTCTCGGT-5'	oligonucleotide probe

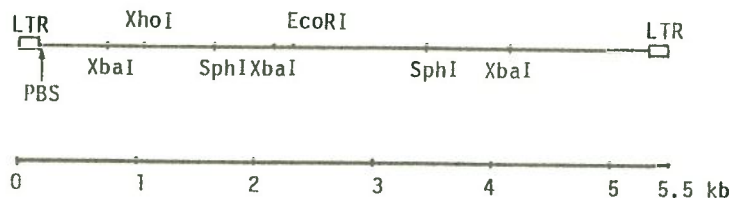
図1 プライマー結合配列と tRNA<sup>i met</sup> の3' 末端との相補性

element	size of LTR (bp)	terminal bases	
		5'	3'
Tos1-2	145	TGTTGG-----	CCAACA
Tos2-1	245	TGTTAG-----	TCTACA
Tos3-1	115	TGTTGA-----	CCTACA
Tos4-1	1052	TGTTGC-----	CCAACA
Bs1	302	TGTCAG-----	CTAACA
Wis-2	>500	TGTTGG-----	CCTACA
copia	276	TGTTGG-----	ACAACA
Ty1	334	TGTTGG-----	TTCTCA

図2 LTRの長さおよび末端配列の比較



A



B



Percentage = 94.78

```

L-LTR TGTTGAATAGTTCACATTGGTTGTGGAAGGGCAAGGGACCTAAGATATAAGTGGGGGAG
*****
R-LTR TGTTGAATAGTCCCATATTGGTTGTGAATGGCAAGGGACCTAACATATAAGTGGGGGAG
  
```

```

L-LTR CCCCTCACCTCAATGGCTAGCTTTTGGGTGGGAAAGGCCCTTTACGATCCTACA
*****
R-LTR CCCCTCACCTCAATGGCTAGCTTTTGGGTGGGAAAGGCCCTTTACGATCCTACA
  
```

図3 *Tos3-1*の構造

A. 制限酵素切断地図

B. LTRおよび近接する領域の塩基配列

分化した後におこったと考えられる。LTR上にはプロモーターおよび poly A シグナルの存在が予想されるが、*Tos 2*のLTR上には、これらの配列および、エンハンサーを構成すると思われる11bpからなる配列が5コピー存在する。

ゲノミックライブラリーをスクリーニングした結果、イネゲノム上には約1000コピーのレトロトランスポゾンが存在すると推定された。また、*Tos 1*~*Tos 4*はそれぞれ約30コピー存在するので、約30種類のトランスポゾンが存在すると推定される。これらの結果は植物(イネ)においてもレトロトランスポゾンが主要なトランスポゾンであることを示している。

## 2. トランスポゾンの分布<sup>6, 11, 12)</sup>

*Oryza* 属に属する18種について調べた結果、*O. subulata*を除く全ての種で上記のトランスポゾンが存在することが示された。この結果は、*O. subulata*を別の属に入れるという分類法を支持する。コピー数は、種および系統によっても違い、それぞれのトランスポゾンは10~100コピー存在することが示された。タバコ、トウモロコシには相同な配列は検出されなかった。

## 3. トランスポゾンの転移能<sup>6, 11, 12)</sup>

イネのトランスポゾンが現在も転移能をも

っているのか否かを調べるために、栽培イネ (*O. sativa*, *O. glaberrima*) の品種間での分布の差異を調べた。日本型イネの品種間にはコピー数および分布の差は検出されなかった。インド型および *O. glaberrima* の品種間には差異が検出され現在でも転移している可能性が示された。野生イネの系統間では、栽培品種間で見られた以上の差が見られるものがあり、現在でも活発に転移している可能性が考えられる。

#### 4. トランスポゾンの発現制御<sup>6, 11, 12)</sup>

mRNA および転移の中間体となり得る転写産物について調べた。日本型イネにおいては、*Tos 2* を除いて転写産物は検出されなかった。*Tos 2* についても、*Tos 2* の挿入された遺伝子からの read-through によって転写されており *Tos 2* のプロモーターからの転写は見られなかった。転写活性が見られない原因の一つとしてDNAのメチル化が考えられた。*Msp I*, *Hpa II* 酵素に対する感受性の差から、いずれのトランスポゾンも高度にメチル化されていることが示され、DNAのメチル化が転写抑制さらには転移抑制の一因となっているものと考えられる。現在この可能性を確かめるために脱メチル化剤 (5-アザシチジン) 処理による活性化について検討中である。トウモロコシでの研究から“genomic shock<sup>4, 13)</sup> (ウイルス感染, 放射線照射, 組織培養等) によるトランスポゾンの活性化が報告されており、今後このような観点から解析も必要である。

#### 5. トランスポゾンの利用

転移活性の高いトランスポゾンを同定、単離することにより、transposon-tagging への利用が考えられる。また、日本型イネとインド型イネの間でトランスポゾンの分布に大きな差が存在し、これらの差は比較的安定であり、トランスポゾンは約1000コピー存在すると予想されるので、トランスポゾンは有効な RFLP マーカーとして使える可能性が考えら

れる。現在インド型イネ由来の有用遺伝子と連鎖しているトランスポゾンを同定しており近い将来トランスポゾンを指標にこれらの遺伝子のクローン化が可能になると思われる。

日本型イネの品種間においても、メチル化および塩基置換に起因する多型が見られるのでトランスポゾンが品種間差の同定に利用可能である。

#### おわりに

私達は、イネのトランスポゾンの研究を約1年前に開始したが、その後、タバコ (*N. tabacum*)<sup>14)</sup> およびユリ (*Lilium henryi*)<sup>15)</sup> でもレトロトランスポゾンが発見され、私達の予想通り、これらも tRNAi<sup>met</sup> に相補的な P B S をもつことが報告されている。また、*Bs I*<sup>10)</sup> も同じ配列をもつことが報告されている。

私達の開発したクローン化の方法は、高等植物一般に適用可能であり、この方法を用いて今後種々の植物からトランスポゾンがクローン化されるものと期待される。

#### 文 献

- 1) Berg, D. E. and M. M. Howe (ed.) (1989) Mobile DNA, 1~992, American Society for Microbiology
- 2) Wienand, U. and H. Saedlev (1987) In: Plant DNA infectious agents, Hohn, T. and J. Schell (ed), 205-227, Springer-Verlag
- 3) Baltimore, D. (1985) *Cell* 40: 481-482
- 4) 廣近洋彦・福地 淳・富山雅光 (1989) 育種学雑誌 39巻 別冊 2, 170-171
- 5) 廣近洋彦・福地 淳 (1989) 第12回日本分子生物学会年会要旨 p.232
- 6) Hirochika, H. and A. Fukuchi (1990) *Proc. 2nd international workshop on molecular biology of rice.* p. 69
- 7) Voytas, D. F. and F. M. Ausbel (1988) *Nature* 336: 242-244
- 8) Harberd, N. P. et al (1987) *Mol. Gen. Genet.* 209: 326-332
- 9) 廣近洋彦・池田穰衛 (1986) 植物バイオテクノロジー, 山田康之, 岡田善美 (編) 東京化学同人, 213-221
- 10) Jin, Y. K. and J. L. Bennetzen (1989) *Proc. N. A. S.* 86: 6235-6239

- 11) 福地 淳・菊池文雄・廣近洋彦(1989) 育種学雑誌 39巻 別冊 2, 172-173
- 12) 廣近洋彦・福地 淳・富山雅光・菊池文雄(1989) 第12回日本分子生物学会年会要旨, p. 232
- 13) McClintock, B (1984) *Science* 226 : 796-801
- 14) Grandbastien, M. A. et al (1989) *Nature* 337 : 376-380
- 15) Smith, D. R. et al (1989) *Proc. N. A. S.* 86 : 5015-5019

## 国内情報

## ヒト染色体のソーティング

慶応義塾大学 医学部 分子生物学教室

清水信義

## はじめに

我々は最近ヒトの染色体を高純度で無傷、無菌的に分別することに成功した。この機会に染色体ソーティングの目的と数年間にわたる技術改良の経過を振り返ってみたい。

ヒト体細胞の核には22対の常染色体とX, Y性染色体の46本の染色体が含まれている。これらの染色体には5万種類以上の遺伝子が存在している。最近、ヒトゲノムの全解析プロジェクトが世界的に開始され生命現象のブループリントの解明が飛躍的に進展すると期待されている。ゲノム解析の対象は個々の染色体であり、それらを単離することは極めて重要なスタートポイントである。染色体は細胞の増殖状態によって形態を変えるが、最も凝縮して安定な構造をとる分裂中期のものは穏やかに取り出すことができる。このような染色体のDNAに蛍光色素を結合させ、その結合量の違いによって分別することが可能になったのは10年程前である。染色体ソーティングと呼ばれるこの技術はもともと細胞分別用のセルソーターとして開発されたもので、レーザー光線、高速度フローシステム、コンピュータ技術を組み合わせたハイテクマシンである。米国の二つの国立研究所(ロスアラモスとローレンスリバモア)では数年前ヒト染色体の全てを分別し、それぞれのDNAを断片化してプラスミドやファージに組み込み

大腸菌で増殖できるようにした。こうして作ったクローンライブラリーは最近の目ざましいヒト遺伝子解析の進展に多大な貢献を果たした。

## 新しいソーターの開発

筆者がソーターを初めて使ったのはエール大学留学中の1974年であるからもう随分昔のことである。当時は細胞を分別することが主流であり染色体のソーティングなどは思いもよらなかった。それから10年経った1985年に慶応の研究室にソーターが入ったときソーティング技術をリフレッシュするために米国ベクトン・ディッキンソン社に出向き、一週間の特訓を受けたことが懐しく思い出される。この時一緒に特訓をうけた藪島伸生助手がその後の技術開発の主役を演じてくれた。米国のグループは超高速染色体ソーティングを行っているが、調整された染色体は純度が70%程度でかなり損傷をうけており大きなDNA断片を得ることができない。また細菌の混入が種々の問題を生んでいる。我々は種々の改良を加え90%以上の純度で無傷の染色体を無菌的に分別することに初めて成功した。

我々のFACS 440はもともとセルソーターなので細胞分画用の装備を染色体分画用に改良する必要があった。例えば、目的に合った光学フィルターを設計し特注して製作したこと、シース液タンクを2連式にしてコック操



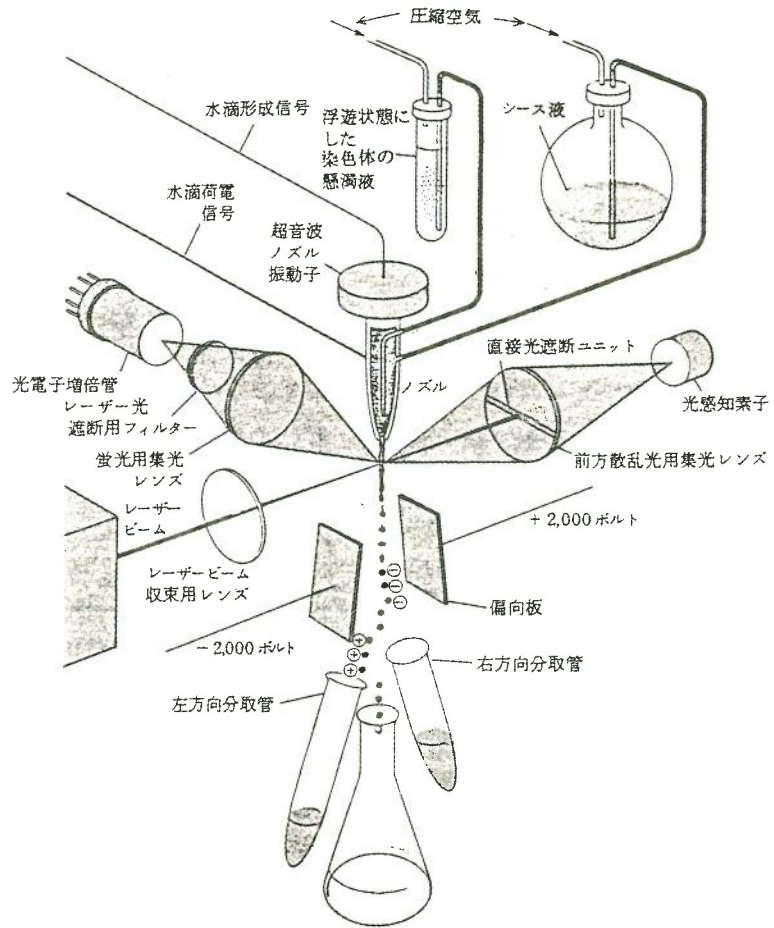


図1 染色体ソーティングの概念図

作のみで瞬時にシーズ液や洗浄液の交換を可能にしたこと、ノズルホルダーやサンプルデリバリーフィルターを独自に設計したこと、1024チャンネルの解析結果をYHPコンピュータに取り込むプログラムを開発したこと、一本のレーザーで3種の波長を正確に出す迅速操作法を確立したこと、光学系の標準設定に関する独自の接作法を開発したことなどである。さらに良質の染色体を得るために最適のBリンパ球細胞を選び最良の培養条件の設定、分離を最高にするための染色体の蛍光染色条件の画期的な改良、染色体がソーターを通過する間に損傷をうけないようにするあらゆる条件の検討と改善、分別した染色体を穏やかに回収良く扱う方法の開発など、数々の工夫をこらした。このような改良は藪島助手の徹底した研究心、緻密な解析、卓越したセンスなくしてはとても成し得なかった。

新ソーターの性能

我々は今、例えばアルツハイマー病やダウン症と関連している第21染色体を1秒間に

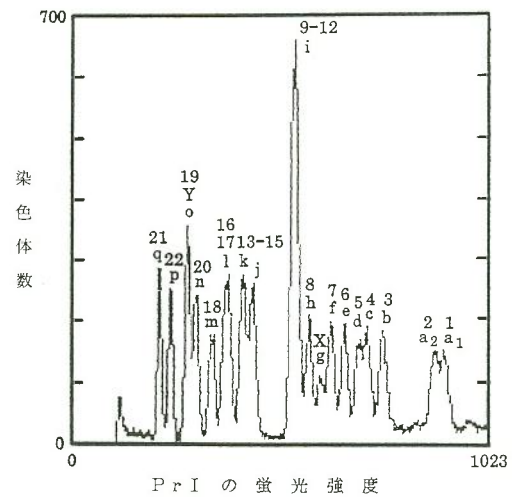


図2 フローカリオタイプ  
第21, 22染色体は特に純粋に分画される。

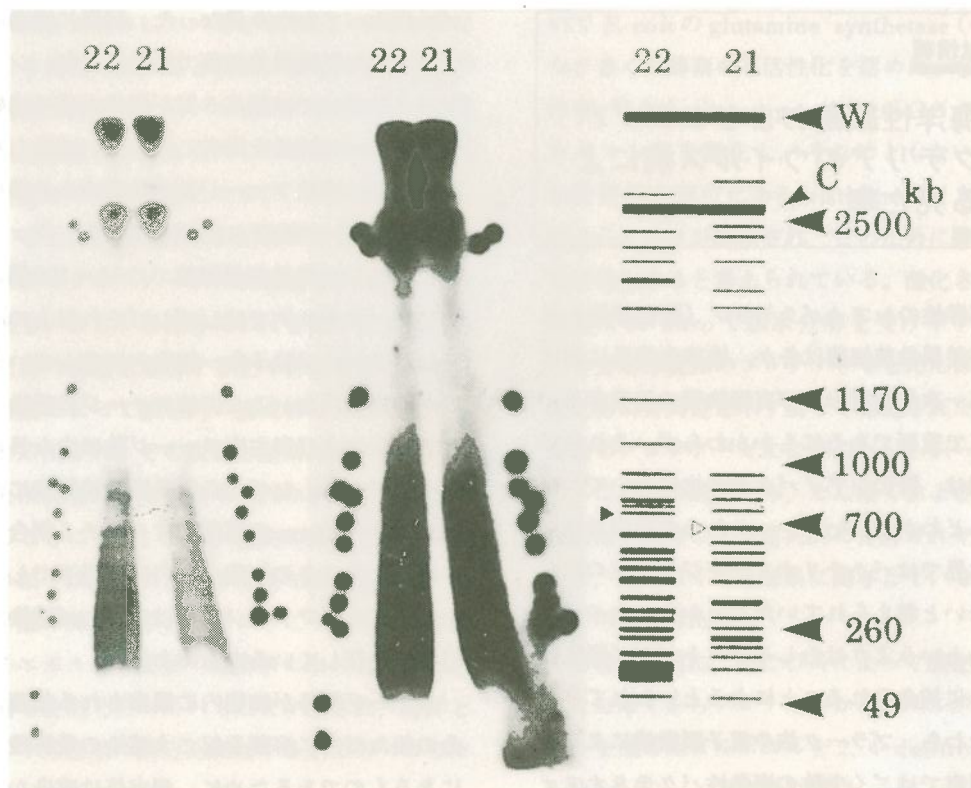


図3 パルスフィールドゲル電気泳動による巨大断片の分離

ソーティングした染色体を制限酵素 *NotI* で切断後、反復配列 *Alu* プロンプを用いてサザン・ハイブリダイゼーションを行った。オートラジオグラムは露出時間を変えて撮った。

70本のスピードで集めることができる。集めた染色体は無傷であるため可能な限りの巨大DNA断片を得ることができ、病因遺伝子を追求するために有用な材料として利用できる。最近開発されたパルスフィールドゲル電気泳動は数 Mb の DNA断片まで分離できるし、イースト人工染色体 (YAC) は数百 kb の DNA断片をクローニングできるなど関連領域の発展に伴って無傷ヒト染色体の応用範囲は急速に拡大するであろう。我々はいくつかの

利用技術を開発中であり、それによってヒトゲノム解析に新しい道が開かれ飛躍的に発展させることができると意欲を燃やしている。

#### 文 献

- 1) Minoshima, S. et al.(1990) Isolation of giant fragments from flow-sorted human chromosomes, *Cytometry* 11(4), in press
- 2) 義島伸生・清水信義(1986) フローサイトメトリー：原理と医学生物学への応用, トキシコロジーフォーラム 9(1): 63-72



## 文献情報

## 海洋性細菌およびシアノバクテリアのウイルス病による死亡率

海洋性のシアノバクテリア（藍色植物）および従属栄養細菌は各々、地球生態系における第一次生産者および有機物質の消費者という点で重要であるにもかかわらず、それらの死因は、特にシアノバクテリアにおいて、ほとんどわかっていない。これらの死因は従来、自然界ではバクテリオファージや宿主の数が少ないと考えられていたことから、ウイルス感染というよりはむしろプロトゾア（原生動物）に捕食されることによるといわれてきた。すなわち、プラーク法や電子顕微鏡による直接観察ではごく少数の海洋性バクテリオファージしか観察されず、観察されるファージ様物体の一部のみが活性を持つと考えられたためである。ここでは海洋におけるウイルス数の豊富さだけでなく、細菌とシアノバクテリアのウイルス感染最終段階における溶菌について特に考慮した。後者は、観察される遊離（フリー）ウイルスの由来、宿主、生存力および令が未知であることから、死亡率を明らかにするために必要である。すなわち、細胞に吸着しているウイルス粒子の確認でさえ有効な感染であることの証明にはならないのである。

本研究ではロングアイランド（米国ニューヨーク州南東部の島）、カリブ海東部および西部、サルガッソー（北大西洋・南大西洋の一部）およびメキシコ湾流においてサンプリングを行った。これらの海水から濾過法によりフリーの粒子を集め、ネガティブ染色による電子顕微鏡観察によってファージ様粒子の検出を行った。その結果、既知の多くのバクテリオファージに類似した種々の粒子が観察され、それらは30nmから160nmの直径の多面体の頭部を持ち、多くは50nmから200nmの長さの尾部を持っていた。海水1ℓ当りの粒子数は $10^8$ から $10^{11}$ 個であり、サン

プルによってかなり異なった。同様に濾過法で得られた従属栄養細菌では最高7%、シアノバクテリアでは最高5%が個体内部に成熟したファージ粒子を保有していた。感染した細菌内部の成熟ファージ粒子は海水から検出されるフリーの粒子に酷似していた。ファージに感染した従属栄養細菌では10~100個、シアノバクテリアではしばしばそれ以上の成熟したファージ粒子を一細胞内に含んでいるのが観察された。ここではファージに感染した細胞数および宿主内ファージ数は少な目に見積ってある。なぜなら電子顕微鏡観察に供試した60~90nmの超薄切片の占める割合は平均的な大きさの細胞全体の15%以下でしかなく、さらにファージ粒子はしばしば感染細胞内に局在しているからである。

ファージ粒子が細胞内に観察される細菌はその後ただちに溶菌を起こす感染の最終段階にあるものであるために、測定値は感染から溶菌までの時間（潜伏期間）のうちのごく一部を示すものでしかなかった。そこで、細菌集団全体のうちのどれほどのものが常時ファージに感染しているかを推定するために、海洋性細菌 *Cytophaga marinoflava* の感染パターンを適用した。この菌ではファージ粒子が細胞内に観察されるのは潜伏期間内の10%の時間である。本研究では従属栄養細菌で平均3.2%、シアノバクテリアでは平均1.5%が成熟ファージ粒子を含んでいたにすぎないが、実際には各々の32%および15%が常時感染していたことになる。

どのような天然に生息する生物でもいえることであるが、おおよその死亡率を健全細胞の生育との比較において見積る場合、ファージの潜伏期間と宿主の分裂率との関係を知らなければならない。このようなデータはあまり知られていないが、海洋性細菌では潜伏期間は非感染細菌の二分分裂時間とほぼ同じであると考えられる。つまり、定常期にある生物集団では死亡率と生存数とが等しくつりあっていなければならない。このためウイルスに起因する死亡率は単純に算出された死亡率の2倍となる。例えば、5%がウイルスによって死に、45%が他の原因によって死に、残り



の50%が生存していくとすると、ウイルスによる死亡率は10%となる。すなわち本研究の結果では、シアノバクテリアでは30%、従属栄養細菌では60%ものものがウイルスが原因で死んでいることになる。

ここでは海洋性原核生物の死亡率におけるバクテリオファージの重要性を示した。この死ということは海洋における第一次、第二次生産の構造を理解する上で特に重要である。溶菌によって細胞内の構成物は外部環境中へと放出され、その炭素と窒素は第一次生産者と消費者によって利用されながら循環していることになる。また、感染に失敗したウイルス粒子は細菌にとって重要な核酸およびアミノ酸の源となる。このようにウイルスは海洋のエネルギー変換・循環系において非常に重要な役割を担っていることが示され、海洋という生態系の構造を理解する上での一つのモデルと考えねばならない。

(抄訳 奥 尚——東大)

### Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria

Lita M. Procter and Jed A. Fuhrman  
*Nature* 343: 60-62

#### 文献情報

### 老化および酸素ストレスによるたんぱく質の酸化と分解

生体のエイジングに伴い、生理代謝にかかわる酵素の多くが活性を消失もしくは低下した状態で集積することはよく知られている。この現象のメカニズムについてはまだほとんど解明されていないが、酵素活性に重要なアミノ酸残基の酸化によるという説が提出された。この説はエイジングの間に生体に集積した酵素が *in vitro* の Metal Catalyzed Oxidation (MCO) によって容易に不活性化することにもとづいている。著者らは以前に、

いて *E. coli* の glutamine synthetase (GS) など多くの酵素の不活性化を認めた。GS では  $Fe^{2+}$  と hydrogenperoxide が GS の 2 価カチオン部を酸化し、それにともない GS の金属結合部位にある histidine 269 または arginine 344 が酸化され、このために酵素が不活性化すると考えられている。酸化された酵素は *in vitro* で加水分解を受けやすい。この分解は既知のプロテアーゼとたんぱくの酸化物に特異性を示す新しく発見された細胞質性のプロテアーゼによることがわかっている。これらの研究から、たんぱくおよび酵素は酸化されることで選択的に分解されやすくなり、たんぱくの分解系に関与している可能性が示唆された。

著者は以前に、MCO系によって酸化されたたんぱくからプロテインカルボニルが生成し、生成したカルボニルを 2, 4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) もしくは tritiated sodium borohydride を反応試薬として検出することができることを示し、この検出法を用いてたんぱく酸化物はエイジングとともに集積することを示した。今回の論文では、*in vivo* でのたんぱくの酸化および分解と酵素の代謝系の関係を明らかにするために、2種類の実験系で研究を行った。一つは“oxygen exposure 系”で、ラットを濃度100%の酸素条件に54時間さらすことで酸素ストレスをかけ、肝細胞の経時的な採取を行い、もうひとつは“エイジング系”で、月齢3~26か月のラットから肝細胞の採取を行った。採取した肝細胞はたんぱく酸化物の集積、GS と glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) の活性の経時変動、プロテアーゼ活性のパターンの比較を行い、第1に *in vivo* での酵素の不活性化、たんぱく酸化物の集積、それを分解するプロテアーゼの活性のエイジングに伴う変動について、第2に酸素ストレス下で上記三つの測定値とエイジングとの関係を明らかにすることを試みた。

“oxygen exposure 系”では、若いラット(月齢3か月)に濃度100%の酸素処理を行った。その結果、たんぱく酸化物の集積は処理開始後48時間までみられ、以後急速に減少し

た。GSとG-6-PDHの酵素活性は実験期間中(54時間)減少し続けた。GSおよびG-6-PDHに特異的に反応する抗体の量は処理開始後48時間まで無処理のものより多く、以後減少した。たんぱく酸化物を分解するアルカリプロテアーゼは、処理後54時間の間に誘導あるいは活性化された。このことは酸素処理により誘導されたプロテアーゼが酸素処理の初期に生じたたんぱく酸化物を分解することを示している。

“エイジング系”では、エイジングとともにラットの肝細胞にたんぱく酸化物が集積し、月齢20~26か月の間にもっとも急激な集積がみられ、GSとG-6-PDHの活性低下がみられた。この間、両酵素に特異的に反応する抗体の量に変化はみられず、酵素活性の低下は量的な変化によるものではなく、質的な、すなわち、酵素たんぱくの酸化によると思われる。また、月齢26か月のラットの肝細胞のたんぱく酸化物を分解するアルカリプロテアーゼの活性は月齢3か月のラットの活性と比較して20%に低下しており、この酵素活性の低下がたんぱく酸化物の集積の原因の一つであることが示唆された。さらに、老齢(月齢26か月)のラットに濃度100%の酸素処理をすると、たんぱく酸化物は増え続けたが、アルカリプロテアーゼの活性は低レベルであったことから、老齢のラットでは若いラットのように酸素ストレスでアルカリプロテアーゼの活性の誘導は生じないと考えられた。

著者らの行なった二つの実験系から、たんぱくの酸化系とその分解系が *in vivo* で運動していることが示唆された。若いラットに酸素ストレスをかけたときのたんぱく酸化物の濃度が処理開始48時間後に最大になり56時間後に減少することは、48時間以降、たんぱく酸化物の生成速度の増加よりもアルカリプロテアーゼ活性の増加の方が上回ることで説明できる。しかし、*in vivo* でMCO系によるたんぱくの酸化が *in vitro* での ascorbate-MCO系によるたんぱくの酸化と全く同一の機構であるかどうかは不明である。たんぱく酸化物の測定値には、無処理の若いラットで 2 nmol DNPH/mg protein, 酸素処理をし

た若いラットでは6, 老齢のラットでは7, 酸素処理をした老齢のラットでは13と幅が見られた。たんぱくサブユニットの平均分子量を50,000と仮定すると、酸化されたサブユニットの割合は、それぞれ、10, 30, 35, 65%になり、生体内でサブユニットの30%以上がMCO系により酸化されるならば、この酸化系が細胞代謝に重要な影響を持つていると考えてよいだろう。

(抄訳: 河辺邦正——東北大)

### Protein oxidation and proteolysis during aging and oxidative stress

Pamela E. Starke-Reed and Cynthia N. Oliver

*Archives of Biochemistry and Biophysics* 275: 559-567 (1989)

#### 文献情報

動脈硬化症に関与すると考えられる  
マクロファージ スカベンジャー  
レセプター遺伝子のクローニング

アテロール性動脈硬化症(atherosclerosis; 特殊な例を除いて、ほとんどすべての動脈硬化症はこのタイプであるので単に動脈硬化症と略記する)は癌とともに現代人の主要な死亡原因として知られる病気である。この病気ではコレステロールが動脈壁に蓄積して大きな斑点を作り、それがついに血流を止めるほどの大きな塊となって心筋梗塞や脳卒中を引き起こす。水に難溶性のコレステロールは血中で特異的なたんぱく質(LDL; 低密度リポたんぱく質)に結合され運搬される。マクロファージが細胞膜上のLDLに対する受容体を介して食作用によりLDLを細胞内に運び込むことにより、コレステロールが蓄積されるわけであるが動脈硬化症の場合には病的状態の泡沫細胞化することが知られている。重い先天的コレステロール代謝異常が原因して若年で心臓発作を起こすことで知られる家族性高コレステロール血症の患者では、LD

L受容体が欠損していることが明らかにされ、更に正常人に比べマクロファージは通常のLDLよりも酸化やアセチル化された変性LDLを好んで取り込むことが明らかとなった。そのため、こうした変性LDLや他の種々の巨大分子を取り込む新たな受容体〔スカベンジャー（掃除屋）と名付けられた受容体〕が関わっていると考えられるようになり、動脈硬化症の機序解明のためにその構造の解明が待たれていた。児玉龍彦（東大医）は5年程前からKrieger (MIT)のもとで、この受容体を、材料の豊富にとれる牛の組織から精製する仕事に取り込み、分子量77,000のサブユニット糖たんぱく質が三量体構造をなしていることを明らかにしてきた。今回は、精製したたんぱく質のプロモシアン分解断片のアミノ酸配列を基にアミノ酸に対応するオリゴヌクレオチドをプローブとして牛の肺臓由来のcDNAライブラリーからスカベンジャー受容体の2種のcDNAクローンを分離し、その遺伝子配列を報告した。これが目指す受容体遺伝子であることは肺胞マクロファージなどで、この遺伝子mRNAおよび膜たんぱく質が組織特異的に発現していることと、このcDNA遺伝子を培養細胞（COS細胞）で発現させたときに細胞にこの受容体の特性が再現されることから確認された。核酸の一次構造解析から推定される受容体たんぱく質（type I）は453アミノ酸からなる膜貫通型の $\alpha$ -らせんでかつコラーゲン様の三重鎖を形成しており、細胞膜たんぱく質としてはユニークな構造を有していた。受容体たんぱく質は連続する次の六つの構造単位領域（ドメイン）からなっている。すなわち、①N末端側の細胞質領域（アミノ酸残基1～50）、②トランスメンブラン領域（51～76）、③スパーサー領域（77～108）、④ $\alpha$ -らせん領域（109～271）、⑤コラーゲン様領域（272～343）、⑥カルボキシ末端側のシステインに富む領域（344～453）である。塩基配列から推定される分子量は、50,000のたんぱく質であるが、N-グリコシル化の修飾を受けているらしい。特に興味深いのはコラーゲンとの構造類似性である。進化において新しいたんぱく質が創造される際

に既に存在していたコラーゲン遺伝子のエクソン構造をたまたま利用した名残りであるというような可能は否定できないが、たんぱく質の機能面での類似性、例えばコラーゲンと同様に変性LDLを含む多くのたんぱく質分子を結合できる活性を有するとか三重鎖構造をしているというような性質を反映したものであろうと予想される。また、この受容体は変性して役に立たなくなったたんぱく質を取り除く防御機構において重要であり、多くの組織では安全のために機能しているのに、動脈硬化症では血管に傷害を引き起こすのだと考えることもできる。傷害の際にはサイトカインや増殖因子などが、マクロファージから分泌されるが、変性リポたんぱく質の取り込みが、こうした応答の引き金となっている可能性もありマクロファージ細胞の起源とも関わっている受容体であるかもしれない。発見された2種のよく関連している受容体が、マクロファージのスカベンジャー活性をすべて説明できるかどうかは、まだ明らかではないが、高コレステロール血症をおこして実験的に動脈硬化を作り出す系は種々の実験動物で既に開発されているので、コレステロールの他に、喫煙、高血圧、老化、遺伝的要因等が、どのようにして動脈硬化症を引き起こすのかという問題は、スカベンジャー受容体を軸にして、ちょうど癌の理解ががん遺伝子により統合的に理解できるようになったのと同様に解明されていく期待が持たれ始めている。

（抄訳：小山卓美——家畜衛生試験場）

#### **Type I macrophage scavenger receptor contains $\alpha$ -helical and collagen-like coiled coils**

Kodama, T., M. Freeman, L. Rohrer, J. Zabrecky, P. Matsudaira and M. Krieger  
*Nature* 343 : 531-535 (1990)

## 文献情報

## メイン州の事件は、DNAフィンガープリンティング法に疑問を投げかけた

1988年5月アメリカ合衆国メイン州サウスポートランドで5歳の少女が強姦されるという事件が起きた。

第1容疑者は、被害者の供述と合う点が多く、また現場に落ちていた精液のついたティッシュペーパーとよく似たティッシュペーパーを持っていた者であった。しかしながら、DNAフィンガープリンティング法による人物判定を商売にしているライフコード社（バルハラ、ニューヨーク州）で、調べたところ、現場に残されていた精液と容疑者の血液のDNA型が一致せず起訴されなかった。

第2容疑者は、被害者の供述とはくい違ふものの、DNAフィンガープリンティング法では、精液と血液のDNA型が一致したところから、検察は起訴の準備を進めていった。

ところが、第2容疑者の弁護士の努力が実り、検察は起訴を取り下げることとなった。

その弁護士の反論の要点は、DNAフィンガープリンティング法では、バンドのずれ（band shifting）として知られる現象が全体の30%程度生じており、精液と血液のDNA型一致を決定するのはそもそも困難であるというものであった。また検察側も独自の調査で、ライフコード社の手法により遺留物（精液、血液）と容疑者の血液のDNA型を照合し、判断を下すことは無理であるとの専門家の証言を得ており、結局起訴とり下げとなった。

また、最近ニューヨーク市のブロンクスで起きた事件でも、DNAフィンガープリンティング法の判定結果を法廷で使用することが認められていない。（ただし、後日、ライフコード社の方法で犯人と判定された者はその犯行を認めている。）

ライフコード社によれば、メイン州の事件では、4種類のDNAプローブを用いて人物

判定を行っており、間違いが起こる確率は1,350万に1であり問題はないとのことであった。しかしながら依然として一つの問題が残っていた。それはDNA断片が作るバンドが直線上に乗っていないことであった。パターンは同一であるが、微妙にずれを生じていたのである。メイン州の事件では容疑者のDNA断片がわずかながら、精液由来のDNA断片より大きいと推定されたのである。この点についてライフコード社のその後のテストにより、現場に残された精液由来のDNA断片の大きさが3.15%容疑者の血液由来のDNA断片より大きいと測定され、これは容疑者自身の精液のDNA断片が作るバンドが示すずれと一致し、結局、当初のライフコード社の結論が正しいと証明された。

ライフコード社はバンドのずれによる誤差は同社が用いているDNAプローブに関しては全て3.15%であると主張している。このことについて、Y染色体上のDNAに関係するプローブ（Yプローブ）による誤差の測定値の1.72%を示し、同社の主張には問題があるとする専門家もいる。これに対する同社の反論はYプローブは使用していないというものであった。

ここで問題とされているバンドのずれについては、電気泳動に用いるゲルとの関係も可能性として考えられており、同社の主張のとおりであるとはいいきれないとする専門家もいる。

今のところ裁判に関係する側の研究者達は、3%あるとされるバンドのずれについて十分な解明がなされていないことから、ライフコード社の実施しているDNAフィンガープリンティング法を裁判の証拠としては使用できないと判断している。

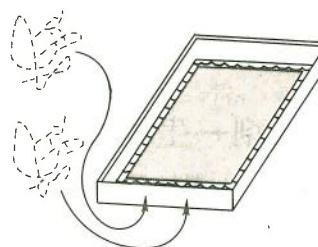
メイン州の事件においては、DNAフィンガープリンティング法の有効性が専門家により確かめられることになったものの、なお一層の基礎的研究が必要であることを明らかにすることにもなったのであった。



- ① 遺留物（精液・血液）由来のDNAと容疑者のDNAを制限酵素で切断し、ゲル上に置く。

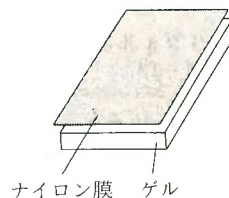
これらのDNAの断片は、ゲルに電流を流すことによりゲル中を移動する。この時、小さな断片は大きな断片より大きく移動する。

遺留物由来のDNA      電気泳動



容疑者の血液のDNA ↓

サザン・ブロッティング



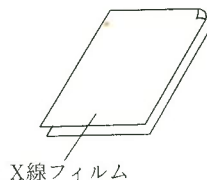
ハイブリダイゼーション



- ② DNA断片をナイロン膜に移し取る。これによりDNA断片が作るバンドは半永久的に保存される。

- ③ 放射線物質でラベルされたDNAプローブを含む溶液中にナイロン膜を置き、そのDNAプローブと特異的に反応するDNA断片を結合させる。

- ④ 溶液を洗い流したナイロン膜とX線フィルムを密着させる。



- ⑤ DNAプローブと結合したDNA断片がフィルム上にバンド模様を描き出す。

もし、遺留物を残した者と容疑者が同じであればバンドは一致する。

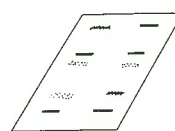


図1 DNAフィンガープリンティング法（概略）

（抄訳：廣川 治——生研機構）

**Maine case deals blow to DNA fingerprinting**

Colin Norman

Science 246 : 1556-1558 (1989)

海外便り

## カリフォルニア大学留学記

### 薬剤—生体高分子相互作用の分子レベルでの研究

農林水産省 農業環境技術研究所 殺菌剤動態研究室

吉田 充

#### 1. カリフォルニア大学での研究

日本からみて太平洋の向こう岸、アメリカ西海岸カリフォルニア州で1988年9月から1年間、私は科学技術庁の長期在外研究員として青い海をながめながら留学生活を送りました。留学先はカリフォルニア大学のサンフランシスコ校です。カリフォルニア大学は、パークレイ校を本校とし有名なUCLA（ロサンゼルス校）を含む八つの分校を持つ州立大学で、私の通っていたサンフランシスコ校はHealth Science Campusと呼ばれ、医学、薬学、歯学、看護学の四つの学系からなる大学院大学です。静かな住宅街に囲まれ、サンフランシスコ湾を見おろす丘の上にあるこのキャンパスには、いわゆる“普通の”大学生はおらず、大学院生とポスドク、研究スタッフ、そして大学病院に勤務する医者や看護婦がその構成員です。そのため一般の大学にみられる若さあふれる奔放な雰囲気はなく、アダルトで落ちついたアカデミックな雰囲気が漂っています。

私はここの薬学系大学院の薬剤化学科で、DNA化学の専門家 Richard H. Shafer 教授のグループの一員として、薬剤分子とDNAの結合体の立体構造解析を核磁気共鳴（NMR）法を用いて行いました。まず最初に私は、牛のタイレリア病およびバベシア病用の薬剤ベレニルがDNAのA-T塩基対が四つ連続した部分に結合することを紫外吸収スペクトル法、円偏光二色性スペクトル法で明らかにしました。次にd(GCAATTGC)<sub>2</sub>という塩基配列の合成オクタヌクレオチド duplex をDNAのモデルに選び、これとベレニルとの

結合体を作ってその2次元<sup>1</sup>H NMRスペクトルの測定を行いました。そして各共鳴ピークの各水素原子核への帰属を行いました。さらに、NOESY法という測定法によって得られる水素原子間距離を反映したピークの強度をもとに、DNA-ベレニル結合体の立体構造モデルを作り出しました。ベレニルは分子の両端に位置する二つの-NH<sub>2</sub>基がTのとなりのAのN3もしくはGのとなりのTのO2と水素結合を形成するようにDNAの副溝(minor groove)に沿ってはまりこんでいると考えられます。そしてこのDNA-ベレニル結合体の形成が、薬剤ベレニルの殺原虫作用機構であると考えられます（口絵参照）。

私のいた薬剤化学科には500MHzの高分解能NMR装置が2台あり、その他に1台の中分解能NMR装置、3台の小動物用NMR装置（非波壊測定用）があります。高分解能NMR装置には約20人の使用者がひしめいているので、半月～1か月前に予約を入れ、他の使用希望者との使用時間の調整を行なわねばなりません。もちろん夜中に実験をしなければならぬこともありましたが、それでもNMRのハードの専門家が一人ついていて、装置のトラブルが生じた場合にはすぐに対応し、測定法についての相談にものってくれるので、測定上の失敗は少なく、効率よく時間を使うことができました。また十人十色なら二十人二十色、仲間が多いということは情報もそれだけ豊富だということで、核酸の専門家、たんぱく質の専門家、有機合成が得意な者、化学反応論に詳しい者、分光學に強い者、機械に強い者などいろいろな専門分野の人達がNMRという共通の測定機器を仲介として情報を交換し合い、お互いの得意を生かして

協力しながら研究が進められていきます。私もそんな環境の中で、多くの仲間助けられつつ仕事ができたのは幸いでした。

協力体制がしっかりしているのはNMR分光学の分野に限ったことではありません。化学者達が協力して一連のスペクトルデータを得ると、そのデータの解析にはコンピューターソフトの専門家の手による解析プログラムが使用されます。スペクトルのシミュレーションソフトやスペクトルデータから原子間距離を求めるソフトの開発もこの大学で行われており、化学者が簡単に最新のソフトを利用できるようなシステムが確立されています。スペクトルの解析が終了し、いくつかの原子間距離が推定された後は、その原子間距離を満足させる分子モデルの一つを初期構造としてエネルギーの最小化を行い、エネルギーの面からみて最も安定な3次元構造を導き出し、それをコンピューターグラフィクスを用いて描き出します。エネルギーの最小化計算は理論化学の専門家が担当し、コンピューターグラフィクスのソフトとハードもまたその方面の専門家があたります。そしてこの協力体制を支えるのがコンピューターネットワークです。この大学には目的別に大型からパソコンまでいろいろなコンピューターが導入されていますが、それらがネットワークで結ばれており、各分野どうしの協力に必要なデータや情報のやりとりがすべてこのネットワークを介して楽にできます。もちろんコンピューターネットワークに関するトラブルについては、コンピューターのソフトとハードの専門家達が責任を負うことはいまでもありません。

このようにひとつの分子の3次元構造を導き出す最先端の仕事の裏には、複数の研究室に所属する各分野の専門家達の力があることがよくわかります。彼らは研究室は異なるけれども仲間と思って協力を惜みません。一人の人間は多くのことはできない、多くのことをやろうとするとそれぞれの仕事のレベルが低下する、だからハイレベルで仕事をするためには専門家どうしの協力体制が必要だということがここでリーダーシップを取る教授達の考えです。アメリカの科学者ひとりひとり



Richard H. Shafer教授(右)と  
共同研究者Hu博士

の専門分野は狭いが深く、テクニックのレベルは高く、共同研究が上手です。それに比べて日本人は興味が広く、ひとりがまずまずのレベルで器用にいろいろなことをこなし、また器用な人間が重宝がられる傾向がありますが、逆にこれがわざわざして基礎科学の多くの分野で欧米に遅れを取っているように感じられました。また、アメリカでの人間関係は日本よりもドライで気配りは少なく、マイペースでやっているけれど、仕事の面ではオープンで、所属にこだわらず give and take の精神で実質的な協力体制を作り上げているようです。この辺は、形式を重んじ、また一家意識、縄張り意識で閉鎖的になりがちな日本の研究者の見習いたいところです。

## 2. アメリカの学会に出席して

留学中には、アメリカの生物化学会、細胞生理学会、生物物理学会、薬剤情報学会、Institute of Biomolecular Stereodynamicsの大会、講演会などに出席しました。そこで知ったことは、NMRの技術の開発と応用の発展のめざましさです。アメリカの優れたコンピューター技術と結びついて、NMRは今や2次元の時代を過ぎ、3次元スペクトルの測定と解析技術の開発の時代が訪れています。従来2次元NMR法で測定されてきたNOESYスペクトルとHOHAHAスペクトルを一つの3次元スペクトルとして表現するNOESY-HOHAHA法、 $^1\text{H}$  NMRと $^{15}\text{N}$  NMRを一つにまとめる方法等が開発され、たんぱく質の立体構造解析に利用されようとしています。

分子の立体構造を図形化するのに用いる化

学系コンピューターグラフィックスシステムも、アメリカで今最も発展しつつある分野のひとつです。大きなコンピューター会社はしのぎを削ってカラーの3次元リアルタイムグラフィックスシステムを開発し、スーパーコンピューターとつないで20,000原子を一度に扱え、1ステップのenergy minimizationが1秒以内、1ピコ秒のmolecular dynamicsが5分以内で行えるソフトが市販されています。コンピューターグラフィックスは基礎構造化学の分野だけでなく、protein engineeringやdrug designなど応用生物化学の分野にも大いに利用され、これからの分野の発展に役立っています。中でもカリフォルニア大学サンフランシスコ校のコンピューターグラフィックス研究室はアメリカでも有名なこの分野の先駆的な研究室で、ここで開発されたプログラムMIDASは初心者にも使いやすくうまく作られており、たんぱく質や核酸の構造を研究する化学者によく利用されています。コンピューターグラフィックスの素人の私も“楽しく”仕事に使うことができました。

### 3. アメリカで暮らして

私の暮らしたサンフランシスコはアメリカ

の東洋へ向けた玄関口で、アジア系の人も多く、町を歩けば英語の他に中国語、韓国語、そして日本語も耳にします。その他に私には聞き分けられませんがフィリピン語、タイ語、ベトナム語などもあるようです。またカリフォルニア州はメキシコと境を接するため、メキシコをはじめ中南米の国々からの出稼ぎ人や移民もかなりいて、まさに人種と文化のつぼ、住んでいておもしろいところ。また、サンフランシスコは大都市ですが、町を歩けばそこには乾燥した荒野が広がり、そこを開墾して農場や牧場を営んでいる人々がいます。彼らは日照り、雷雨、雪、竜巻、山火事などの自然の脅威に囲まれてそれと戦いながら生きるたくましい西部の開拓民です。故郷を離れ移民としてやってきた人々の築いた国、アメリカのパイオニア精神をこのように感じます。このパイオニア精神と文化の多様性がアメリカのサイエンスを根底で支えているに違いありません。

まさに発展しつつある学問領域のそれも最先端で活躍する研究仲間にも囲まれて、かつ多民族国家の中の複数の文化を体験しつつ過ごせたこの一年はたいへん貴重な時間でした。このような機会を与えてくださった科学技術庁をはじめ関係者の方々に御礼申し上げます。

#### 海外便り

## 第8回国際羊毛研究会議に参加して

農林水産省 蚕糸・昆虫農業技術研究所 物質変換技術研究室  
塚田益裕

### 1. はじめに

第8回国際羊毛研究会議が、1990年2月7～14日にかけて、ニュージーランド国、クライストチャーチ市のカンタベリー大学で開催された。筆者は科学技術庁国際研究集会派遣研究員として参加する機会を得た。研究集会

の概要ならびにニュージーランドにおける羊毛研究の近況等について紹介することにした。

この国際羊毛研究会議は、1955年に第1回研究会議がオーストラリアで開催されて以来、イギリス、フランス、アメリカ、ドイツ、南アフリカ、日本の順に5年ごとに開かれてきた。今回カンタベリー大学で開かれた研究会



議は、ニュージーランド羊毛研究所の羊毛研究組織委員会によって組織化され主催されたものである。本研究集会には、世界の動物たんぱく質繊維生産国の応用化学、繊維材料、高分子材料、有機化学、繊維化学工業、繊維工学の専門家ならびに繊維生産者、加工業者を含め、26か国から300名が参加した。我が国からは、国立研究所、県立研究所、大学、民間企業ならびに国際羊毛事務局等から合計20名が学会活動に参加し研究交流を行った。会議は、動物たんぱく質繊維の基礎、応用、実用の全領域を網羅しており、基盤的研究開発会議として世界的に高い評価を受けている。すなわち、羊毛をはじめ、絹ならびにその他類似たんぱく質繊維の構造と物性、加工技術ならびに非衣料分野での利用等の先端技術開発研究に関して権威ある世界的な国際研究集会である。

## 2. 研究集会の概要

発表は三つの分科会場で所定の研究内容が公表され、論議が行われた。公開されたテーマの内訳はおよそ次のとおりであった。たんぱく質繊維の構造(19%)、化学測定、評価技術(28%)、その他の動物性たんぱく質繊維(7%)、原料評価(11%)、織物の製造と性質(13%)、化学修飾加工(10%)、染色加工法(9%)、廃棄物、その他であった。すべて研究内容をここでは紹介できないので、分科会名と発表内容のキーワードを次にまとめ補助資料としたい。

### (1) たんぱく質繊維の物理的特性に関する研究

2次構造、 $\alpha$ -helix、非ガウス粘弾性、摩耗特性、セット機構、圧縮特性、精練工程、カーディング剤、ドラフト理論のシミュレーション、風合解析

### (2) たんぱく質繊維の化学

防虫加工、オルソ・ペラコルテックスの分離技術、毛髪のスチン架橋の特性、還元剤作用による粘弾性挙動変化、照射漂白、精練工程の効率化、染色性、湿潤加工、低温染色加工法、酸性染色料によ



写真1 国際羊毛研究会議のシンボルマーク

る染色、防縮加工、エキソクチクル除去、水分拡散、化学修飾、微生物分解

### (3) その他の動物繊維、原料特性

ゴート繊維生産と評価、アンゴラ繊維試験、オーストラリア羊毛の市場、繊維長—繊維直径の測定法、直径—繊維長分布測定法、近赤外分析法ならびにフーリエ分析法による脂肪分の定性分析

今回発表された上記成果のうち、筆者が所属している蚕糸・昆虫農業技術研究所の仕事に有益であると思われる研究概要を次に記述する。

## 3. 織物の風合評価法

繊維状試料の集合体である織物の性能は、主として手触り感覚等の主観的で総合的な評価により判断されてきた。これに対して布の力学量の測定値をもとにして計算で風合評価を行う試みが報告された。すなわち布の引っ張り、まげ、せん断、圧縮、表面特性等に関する力学的測定結果を用い、既知の変換式により基本的な風合の強さを示す値に変換し、さらにその組み合わせで風合の良否の度合いの値を求めることにより織物の風合を評価し

ようとの研究が盛んとなっている。こうした方面からの風合解析は、京都大学、奈良女子大学等我が国の大学をはじめ、ニュー・サウス・ウェールズ(N. S. W.)大学、ニュージーランド羊毛研究所等種々の研究機関において精力的に進められていることから、風合評価の研究がまさに国際的研究テーマであるとの印象を受けた。ポッスル教授(N. S. W. 大学)の研究により多種類のウール織物の変形機構をモデル化することが可能となった。奈良女子大学の丹羽教授は風合解析の結果からニュージーランドウールから作出した織物が高級洋服地に適していること、ウール/木綿のブレンド織物が他の織物に比べて特徴ある優れた風合を持つことを明らかにした。

蚕糸・昆虫農業技術研究所では絹の用途を拡大するため、民間企業と共同研究を組むなどしながら、繭糸と他繊維との交絡複合糸等を作成し、消費者のニーズの多様化に伴って生ずる感性と高級感を備えた絹新素材開発を進めている。ウールの風合解析法は、こうした絹新素材の品質を評価するうえで有益な情報を与えるものとなろう。

#### 4. 日本人研究者の成果発表

短繊維長の羊毛繊維は、製品に至る過程で引き揃え、梳けずり、引き伸ばし等の複雑な力学的作用を受ける。こうした過程を科学的に分析することにより、製品の製造過程で生ずる形態的、構造的変化を解析することができる。岐阜大学の岡村氏は、イメージセンサーを用いてスライバーブレンド物ならびに、ウール/モヘアブレンド物を対象として断面の均一性評価法を論じた。岐阜大学短期大学部渡辺氏は、同様の手法でメリノウールから作出したトップの不均一性を解析した。トップ製造工程中で試料に加わる強度は、糸の太さむら等の品質とも密接に関連しており、スライバーの性能を評価する上で重要であることから、岐阜大学近田助教授は羊毛繊維に加わる強度の測定法を開発した。こうした研究成果は、蚕糸・昆虫農業技術研究所で進められている、スパンロウシルク、あるいはシル

クトウ等繊維集合体が形成される過程の特性変化を解明したり製品の品質評価を行ううえで有益な手法となろう。

#### 5. 筆者の研究内容

絹たんぱく質に2塩基酸無水物修飾加工を施すことにより、耐黄変性、耐形態安定性等の機能を絹たんぱく質に付与できることを公表した。この研究概要はおよそ次のとおりである。無水グルタル酸等の酸無水物を含んだジメチルホルムアミド等の有機溶媒中で絹たんぱく質を処理することにより、絹たんぱく質の機能的特性上の欠点の一つである紫外線による黄変・着色の程度を軽減することが可能となった。また修飾絹糸から製織した絹織物の防しわならびにカチオン染料に対する染色性が向上するなどの特性を示した。この研究成果に対してオーストラリア連邦科学研究組織の研究員、イギリス国リーズ大学職員、ニュージーランド国羊毛研究所の研究者より問い合わせが寄せられた。

#### 6. ニュージーランドにおける動物たんぱく質繊維の研究機関

ニュージーランドにおける羊毛等の動物たんぱく質繊維の研究は、主としてニュージーランド羊毛研究所で積極的に進めているので、ここでの研究内容を中心に、また筆者が見聞きした他の研究機関の住所と研究概要を次に述べる。

(1) 羊毛研究所(WRONZ): Private Bag,  
Christchurch, New Zealand  
Tel: 0064-03-252-421,  
Fax: 0064-03-252-717

羊毛に関する基礎的学術的な研究蓄積を展開させ、より良質な羊毛製品の生産を行うとともに、国際的な視野に立って羊毛の需要を増進させることを研究の目標としている。研究予算はNZ羊毛協会(53%)、政府補助(25%)、羊毛工業界(12%)等からの補助によっている。

所長: Dr. W. S. Simpson

Group Leader: Textile Chemistry; Dr. A. J. Mckinnon, Textile Physics; Dr. G. A. Carnaby, Product Development; Mr. J. D. Watt, Wool/Cell Biology; Dr. D.F. Owen

(2) Otago University: P. O. Box 56, Dunedin, New Zealand

Faculty of Consumer and Applied Science; Dr. R. Laing

布の物性や被服材料学に関する研究が進められている。

(3) Lincoln College: Canterbury, New Zealand

Department of Wool Science; Prof. D. Ross

Ross 教授は WRONZ の研究員も兼ねている。羊毛繊維の品種、性質や構造についての研究が進んでいる。

(4) Massey University: Private Bag, Palmerston North, New Zealand

Department of Wool Technology; Dr. W. R. Regnault

羊の品種改良、羊毛繊維の性質の研究が進められている。

(5) 農業水産省 (DSIR): 羊の品種改良についての研究が行われている。

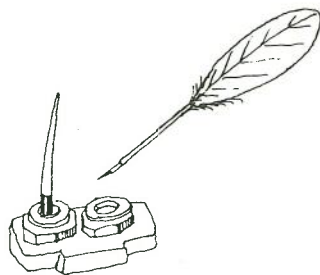
DSIR の栽培や園芸の部門は Lincoln にある。

## 7. これからの羊毛研究

国際研究会議の演説で、McPhee 氏は次のように講演している。“過去5年間における

羊毛工業の中にあつて、特にデザイン、市場、技術振興面においては目ざましい進歩が見られたが、1990年代には熾烈な競合時代を迎えることになるだろう”。羊毛等天然たんぱく質繊維に対する根強い需要は今後益々増進することは確かであろうが、効率的に研究開発を行うことにより、たんぱく質繊維の利用を更に拡大する必要がある。英国国際羊毛事務局の Benisek 氏は、連邦科学研究組織が開発し、商品名が Sirospun と呼ばれる羊毛素材が今後“Cool Wool”素材として有望であることを強調した。

羊毛業界における研究開発が進むことにより、新規機能性素材が次々と誕生することであろう。蚕糸・昆虫農業技術研究所の加工利用部門では、羊毛と類似した化学構造を持つ絹たんぱく質繊維を研究対象としており、絹の需要を増大させるため和装分野での拡大策を推進するとともに消費者ニーズに合致した高品質の洋装用絹素材の開発研究を進めている。また、当部はたんぱく質機能素材の開発研究に係わる仕事にも従事している。羊毛業界においては衣料、非衣料分野での利活用に関する研究が積極的に展開されているので、絹たんぱく質の素材開発研究は、羊毛業界での研究開発と相補いながら進展するものと予想できる。両業果が抱える問題点を打開しながら研究開発を進展させるには、研究交流がなによりも重要であろう。研究会議で知り合いとなった羊毛研究者達と今後更に研究上の交流を続けることにより、国際的視野に立脚した研究が更に前進できればと望んでいる。



特別情報

# 農林水産省プロジェクト研究課題一覧

生研機構 企画部

この表は、国の研究機関で今どのような研究が進められているかを知って頂くため、農林水産技術会議事務局研究開発課等の協力を得て、平成2年度に農林水産省が実施するプロジェクト研究の課題をまとめたものです。

課 題 名	期 間
1. 基礎的・先導的研究	
(1) 農林水産系生態秩序の解明と最適制御に関する総合研究	平成元年度～平成10年度
(2) 生物情報の解明と制御による新農林水産技術の開発に関する総合研究	昭和63年度～平成9年度
(3) 農林業における水保全・管理機能の高度化に関する総合研究	昭和63年度～平成5年度
(4) 根圏環境の動態解明と制御技術の開発	昭和61年度～平成2年度
(5) 生物資源の効率的利用技術に関する総合研究	昭和56年度～平成2年度
(6) 地球環境変化に伴う農林水産生態系の動態解明と予測技術の開発	平成2年度～平成7年度
(7) 特別研究	
① 分子設計による高機能・新機能蛋白質作出技術の開発	平成元年度～平成4年度
② 食品成分の分子構造と機能の解明	平成元年度～平成4年度
③ ノトバイオート反芻動物の作出技術の開発	平成元年度～平成3年度
④ やませ霧の微気象特性と作物の障害発生機作の解明	平成元年度～平成3年度
⑤ 植物遺伝資源の超低温保存技術に関する研究	昭和63年度～平成2年度
⑥ 有用天敵生物の機能向上と新害虫防除技術の開発	昭和63年度～平成2年度
⑦ 放牧牛のバイオテレメトリーシステムの開発に関する研究	昭和63年度～平成2年度
⑧ 主要マメ科樹木等の生理機構の解明と育苗技術の開発に関する研究	昭和63年度～平成3年度
⑨ 昆虫機能実験系及び昆虫細胞培養系の開発	平成2年度～平成4年度
2. バイオテクノロジー開発	
(1) 動物遺伝子の解析と利用技術	平成元年度～平成7年度
(2) 植物DNAの塩基配列解明に関する研究	昭和62年度～平成2年度
(3) バイオナーサリーシステムの開発に関する研究	昭和62年度～平成2年度
(4) バイテク植物育種に関する総合研究	昭和61年度～平成12年度
(5) 組換え体の生態系導入のためのアセスメント手法の開発	平成2年度～平成4年度
(6) バイオテクノロジー先端技術シーズ培養研究	昭和59年度～
(7) 特別研究	



課 題 名	期 間
① アワビ・カキ等の育種技術の開発 ② 核移植による家畜及び魚類の優良個体作出に関する研究 ③ 細菌性魚病迅速診断技術の開発	平成元年度～平成3年度 昭和63年度～平成3年度 平成2年度～平成4年度
3. 生産性向上技術開発	
(1) 需要拡大のための新形質水田作物の開発	平成元年度～平成7年度
(2) 体外受精による多子生産を基軸とした肥育もと牛の新生産技術の開発	昭和63年度～平成4年度
(3) 水田利用高度化のための高品質・高収量畑作物の開発と高位安定生産技術の確立	昭和62年度～平成8年度
(4) ポストハーベストフィジオロジーの解明による高品質野菜・果実の供給技術の開発	平成2年度～平成6年度
(5) 特別研究	
① マージ土地地帯における新規作物の導入・定着化技術の開発	平成元年度～平成3年度
② スギ・ヒノキ穿孔性害虫の生物的防除技術の開発	平成元年度～平成4年度
③ 微生物利用土壌改良資材の効果判定技術の開発	平成元年度～平成3年度
④ 農林地のもつ多面的機能の評価に関する研究	平成元年度～平成3年度
⑤ 高品質果菜類及び果実生産・流通のための品質変動要因の解明とその制御技術の開発	昭和63年度～平成2年度
⑥ 積雪下の麦類及び牧草病害の発病予測・診断技術の確立と生態的防除技術の開発	昭和63年度～平成2年度
⑦ 産業構造再編段階における土地問題と農地政策の展開方向に関する研究	昭和63年度～平成2年度
⑧ 絹新素材生産のための品質評価・管理技術の開発	昭和63年度～平成2年度
⑨ 高温による花きの生育障害機作の解明と対策技術の開発	平成2年度～平成4年度
⑩ 産肉特性の早期判定技術及び機能性粗飼料活用型給与技術の開発	平成2年度～平成5年度
⑪ 地域特性に対応した農村施設整備の評価手法の高度化	平成2年度～平成4年度
⑫ 木質系新素材による高強度・高耐久、環境調和型架構技術の開発	平成2年度～平成4年度
⑬ 木本性作物における幼若性(juvenility)の解明とその制御技術の開発	平成2年度～平成5年度
4. 地域農業技術開発	
(1) 特定農産物緊急技術開発事業	平成元年度～平成5年度
(2) 地域水田農業技術確立試験研究	昭和63年度～平成5年度
(3) 地域バイオテクノロジー研究開発促進事業	昭和61年度～平成2年度
(4) 地域重要新技術開発促進事業	昭和61年度～

課 題 名	期 間
<p>5. 民間技術開発（助成）</p> <p>(1) 超高压利用による高密度大量培養食品生産システムの開発</p> <p>(2) 農薬生産の効率化のための高度生合成系利用技術の開発</p> <p>(3) 遺伝子操作による原虫性疾患ワクチン実用化基盤技術の開発</p> <p>(4) 細胞内小器官等の導入による植物細胞の形質転換技術の開発</p> <p>(5) 種苗産業におけるニュー・ハイブリッド育成システムの開発</p> <p>(6) 食品産業における酵素機能変換技術の開発</p> <p>(7) 新肥料開発のための生物活性利用基盤技術の開発</p> <p>(8) 農業生物における遺伝子の構造解析</p> <p>(9) 食品産業におけるバイオリクターシステムの開発</p>	<p>平成元年度～平成4年度</p> <p>平成元年度～平成5年度</p> <p>平成元年度～平成5年度</p> <p>平成元年度～平成5年度</p> <p>昭和63年度～平成4年度</p> <p>昭和62年度～平成3年度</p> <p>昭和62年度～平成2年度</p> <p>昭和61年度～平成2年度</p> <p>昭和59年度～平成3年度</p>
<p>6. 熱帯農業研究</p> <p>(1) 基盤技術研究</p> <p>① 熱帯反芻家畜の特異的消化機能の解明と利用 他, 3 課題</p> <p>(2) 環境資源研究</p> <p>① アフリカ乾燥・半乾燥地帯における草地の資源変動の解明 と保全技術の開発 他, 3 課題</p> <p>(3) 熱帯農業プロジェクト研究</p> <p>① 中国における野菜ストレス耐性の改善 他, 3 課題</p> <p>(4) 地球環境研究</p> <p>① 地球環境変化にかかわる熱帯林の生態機能の変動の解明</p>	<p>平成元年度～平成5年度</p> <p>平成元年度～平成5年度</p> <p>昭和62年度～平成3年度</p> <p>平成2年度～平成6年度</p>

**編集後記**

吉田さんの海外便り「カリフォルニア大学留学記」を読ませてもらって、素人の私にもNMRの威力の片鱗をうかがうことができた。それとともにNMRという場を通じて、分野の異なるハイレベルの専門家の間で研究協力

が、いとも自然に行なわれている様子から、アメリカにおける基礎研究の強さを読みとることができた。共同研究のむずかしさを経験した編集子には身をつまされる思いがした。  
(大畑記)

ブレイン テクノニュース (第19号)

---

平成2年5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