

CODEN : BTEEEC

TECHNO NEWS

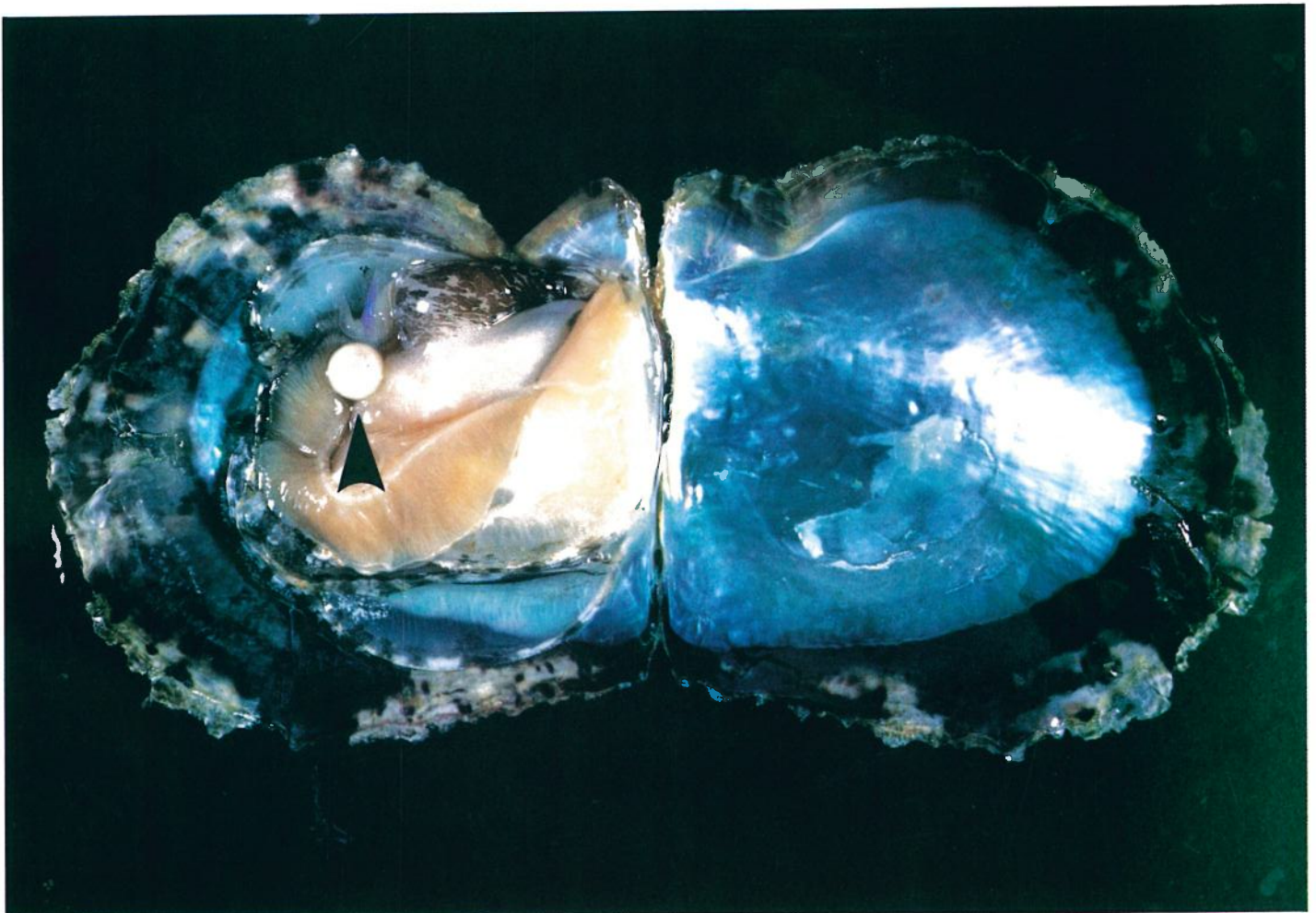
〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

第 52 号

BRAIN
Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

NOVEMBER 15, 1995



三倍体アコヤガイと真珠 (矢印)
(本文14ページ参照)

発行=生物系特定産業技術研究推進機構

総 説

伏木 亨

消化管における食品中脂肪の認識…………… 1

国内情報

高畑京也・物部啓一・多田幹郎

培養神経細胞を用いたドコサヘキサエン酸 (DHA) による脳神経機能活性化機構の解析…………… 5

下地善弘・横溝祐一・森 康行・関崎 勉

豚丹毒菌の病原因子の解析とクローニング…………… 8

反町 稔

海産魚イリドウイルス感染症の迅速診断法……………11

地域の先端研究

内村祐之

三倍体アコヤガイの真珠形成から明らかになった真珠養殖用母貝の改良指針……………14

稲葉幸司

細胞融合によるナス青枯病・半枯病抵抗性台木 'AD 2' の育成……………17

文献情報

似て非なるもの, 日本産シマアジは1種類ではなかった…………… 20

酵母の細胞間認識に関与する糖タンパク質……………21

Nod factor lipo-chitoooligosaccharide のタバコプロトプラストに対する影響……………22

アフラトキシン生合成に関与する遺伝子群の構造解析: 染色体中で遺伝子が生合成経路の順番に並んでいる?……………23

海外便り

野口明德

アメリカにおけるバイオマス資源高度利用技術に関する研究開発の動向調査…………… 25

国際学会レポート

山内 稔

水稲の直播栽培——第2回アジア作物学会議シンポジウムレポート……………30

消化管における食品中脂肪の認識

京都大学 農学部食品工学科 栄養化学講座

伏木 亨

脂肪は食品の美味しさに深く関与しているばかりでなく、小腸に作用して、多くの消化管ホルモンの分泌を刺激する。しかし、脂肪がどのような機構で味覚や消化管を刺激するのかは明らかではない。ラットを用いた脂肪酸による消化酵素分泌実験から、小腸において脂肪は脂肪酸になってはじめて化学的に認識されることが示唆された。脂肪酸のカルボキシル基および炭素鎖の長さは重要で、炭素鎖長が短い中鎖や短鎖脂肪酸は消化酵素の分泌を惹起しない。また、カルボキシル基をエステルやエーテルの形にすると、一切の生理的応答が消失する。最近、血小板や脂肪細胞で、細胞膜に脂肪酸結合タンパク質が存在することが明らかとなってきたが、同様のタンパク質は小腸上皮細胞にも存在する。これらに対する抗体は細胞内カルシウムの動員を阻害した。すなわち、消化管における脂肪酸の認識機構に、細胞膜上の脂肪酸結合タンパク質が関与していることが示唆される。

1. はじめに

脂肪は食品の物性や、美味しさなどに深く関わっている。乳脂肪分の多いアイスクリームやチョコレート、油の乗った旬の魚、トロ、霜降り肉など、脂肪を抜きにしては食品の美味しさは考えられない。

脂肪はまた、美味しさだけでなく、消化管ホルモンの分泌や神経系の活性化など、代謝にも大きな影響を与える。例えば、脂肪を摂取すると、血液中の消化管ホルモンコレシストキニンの濃度が上昇する¹⁾。コレシストキニンだけでなく、セクレチン、ガストリン、PYY などほとんどすべての消化管ホルモンの分泌が脂肪によって刺激されることが明らかになっている^{2,3)}。これは、脂肪が消化管に作用して、ホルモン分泌を刺激するからである。ところが、消化管ホルモン分泌などの生理的応答が起こるにあたって、脂肪のどの部分が、どのようなメカニズムで消化管に認識されるかについては全く明らかでない。

脂肪の構造は比較的単純で、疎水性の炭素鎖とカルボキシル基あるいはグルセロールとのエステルがあるだけである。教科書には、

一般に、脂肪は細胞膜の脂質2重層にしみこむようにこれを通り抜ける、という意味のことが書かれている。あるいは膜に取り込まれて、膜の流動性を変えることが信号になっているという解説もある。しかし、植物性の脂肪のように常温で液体のものが、無制限に膜に取り込まれては膜の構造維持の上からも大変危険であり、また、栄養素としての脂肪の取り込みと、消化管ホルモン分泌などの信号としての脂肪の取り込みが同じであるかどうか不明かではない。ここでは、信号としての脂肪に着目して、消化管の上皮細胞が、どのようにして脂肪を認識しているかについて、我々の研究をもとにして述べてみたい。

2. 消化管ホルモン分泌信号としての脂肪の認識

消化管の脂肪は小腸に認識され小腸を刺激してコレシストキニンが血液中に分泌され、膵臓に作用して消化酵素を分泌させる。脂肪のどのような構造が重要なのかを調べるために、脂肪の関連物質を、順に小腸に投与して、膵酵素分泌を調べた⁴⁾。表1はその結果を示したものであるが、トリグリセリドはほとんど膵酵素分泌を刺激しない。一方、長鎖の脂肪酸は強い刺激を持っていた。つまり、トリ

表1 脂肪およびその誘導体のラット膵酵素分泌刺激作用

	トリプシン分泌量 (μg/hr)
生理食塩水	145±36
トリオレイン	329±124
オレイン酸	1348±63
リノール酸	1135±102
カプリル酸 (C=8)	519±189
カプリン酸 (C=10)	469±121
オレイン酸メチルエステル	110±34
オレイン酸エチルエステル	107±38

数字は平均±標準誤差 (n=4-7)

グリセリドの形では脂肪は消化管に認識されないことを示している。カルボキシルのOHが決定的に重要らしく、カルボキシル基をエステルやエーテルの形にしたものでは全く脂肪として認識されないことがわかる。炭素鎖長に注目すると、長鎖の脂肪酸ではC16もC18も差が無く、また、ここには示していないがC20でも刺激があった。しかし、中鎖脂肪酸C8やC10では著しく刺激作用が低下した。これは、中鎖脂肪酸が消化管には長鎖の脂肪酸とは同じようには認識されていないことを示唆している。

3. 細胞内カルシウムの動きを指標とした脂肪酸認識系の解析⁵⁾

食品脂肪によって消化管ホルモンが分泌される過程では、消化管ホルモンの分泌の直前に細胞内カルシウム濃度の変化が起こるので、これが良いマーカーとなる。この系では脂肪がどのようにして細胞のカルシウム動員を刺激するかを解析すればよいわけで、ラットを用いたインビボの実験に比べて非常に系が単純になる。そこで、この細胞内カルシウムの上昇を指標にして、小腸細胞の脂肪酸認識機構を解析した。小腸分散細胞はコラゲナーゼ、ディスペラーゼ、分散法を用い、細胞内カルシウムの変化の測定は⁴⁵Caを用いて測定した。

このような実験系を用いて、小腸分散細胞に脂肪酸を添加したときの細胞内カルシウム濃度の変化を調べたところ、リノール酸、オレイン酸を添加すると、細胞内のカルシウムが著しく増加したが、インビボの結果と同様、メチル、あるいはエチルエステルは全く細胞

に認識されず、カルシウム動員は観察されなかった。すなわち、分散細胞を用いた実験系でも、脂肪酸に対する応答の特異性はインビボと全く同じであることが示された(図1)。

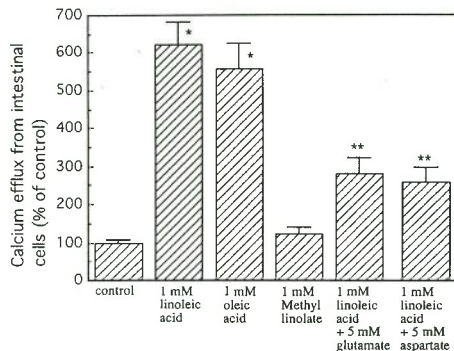


図1 ラット小腸分散細胞に脂肪酸、メチル化脂肪酸および脂肪酸+グルタミン酸・アスパラギン酸を添加したときの細胞内カルシウムの変化

あらかじめ細胞に⁴⁵Caを取り込ませた後、脂肪酸等を添加し細胞内カルシウム変化を起こさせた後、回復期の細胞からの⁴⁵Caの遊離を測定した。

ソマトスタチンは消化管をはじめ至る所に存在し他のホルモン作用に対し抑制的に作用するホルモンであるが、リノール酸による細胞内カルシウム上昇を抑制した(図2)。こ

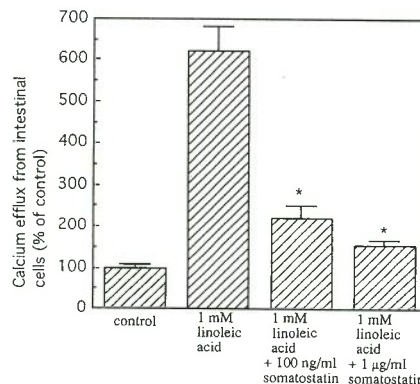


図2 ラット小腸分散細胞の脂肪酸応答のソマトスタチンによる抑制

実験条件は図1と同じ

これらの結果から、用いた分散細胞と脂肪酸によるカルシウム上昇の指標は、動物の脂肪酸認識と同じ特異性を持ち、脂肪酸の認識系を解析する実験系として有用である。

リノール酸によるカルシウムの上昇は、カルシウムチャンネルの阻害剤である、マンガヤランタンによって完全に阻害された。さらに興味深いことには、脂肪酸の認識が、グル

タミン酸やアスパラギン酸などの α 以外のカルボキシル基を持つアミノ酸で阻害された。ガンマカルボキシル基をアミドにしたグルタミンやアスパラギンは脂肪酸の認識に影響を与えなかった。これは、脂肪酸のカルボキシル基とアミノ酸のカルボキシル基が消化管による認識のレベルで拮抗していることを示唆している。脳で記憶の可塑性などに関与していると考えられているグルタミン酸受容体のアナログである NMDA も用量依存的に脂肪酸の認識を阻害した。

このようなことが、動物個体のレベルでも本当に観察されるかを常に振り返ることは重要である。この脂肪酸の認識にグルタミン酸のカルボキシル基が拮抗することを、動物の脂肪酸による膵酵素分泌の実験系で確認した。消化管に 20 mM のリノール酸と 50 mM のグルタミン酸を投与すると、グルタミン酸はリノール酸による膵酵素分泌を完全に阻害することが確かめられた (図 3)。分散細胞で

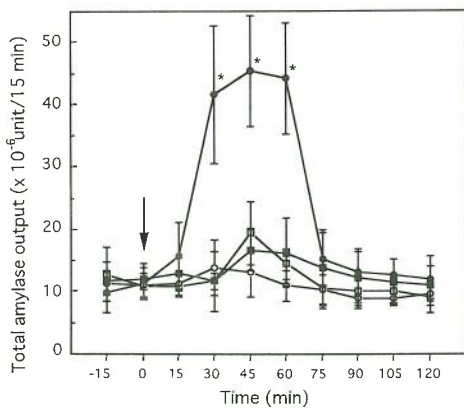


図 3 脂肪酸によるラット膵酵素分泌促進のグルタミン酸による阻害
ラット空腸に20mMリノール酸を投与しアミラーゼの分泌を経時的に測定した(●), リノール酸と同時に50mMグルタミン酸投与した(□), メチル化したリノール酸(■), 生理的食塩水(○)を対照として投与した。

得られた結果が、インビボでも再現されたわけである。この拮抗現象は、脂肪酸を認識して消化管ホルモンを分泌する受容体が存在することを強く示唆している。

4. 小腸培養細胞 IEC-6 を用いた解析⁶⁾

さらに単純な系で実験を行うために、小腸培養細胞 IEC-6 を使ってみた。この細胞は、小腸由来であるが、あまり分化しておらず、微絨毛も非常に少なく、幹細胞のモデルと考えられている。もちろんホルモン分泌作用はない。この細胞に脂肪酸を添加すると、ラットや小腸の分散細胞で観察されたのと同じ特異性を持った応答がみられ、これも脂肪酸の認識機構を解明する材料として使えることが明らかになった。

膵酵素分泌の応答と同様、長鎖脂肪酸は強い刺激を与えるけれども、そのエステルには作用はなく、また中鎖脂肪酸にも作用がない。また、ランタン、マンガンで阻害されるカルシウムチャンネルを介していることもこれまでの実験と同様であった。さらに、ソマトスタチンを細胞の培地に添加すると、脂肪酸によるカルシウムの応答を抑制することから、ソマトスタチン受容体はこの細胞で機能しており、脂肪酸による細胞応答がホルモン分泌同様に抑制されることがわかる。このことは、脂肪酸によるカルシウム動員が極めて生理的な現象であることを支持している。

グルタミン酸、アスパラギン酸による阻害もこの系で再現された。これらのことから、培養細胞が脂肪酸を認識するという点では、このような分化していない培養細胞でも共通にみられる現象であると思われる。

このカルシウムの濃度変化が用いた培養細胞のすべての細胞で均一に起こっていることを示すために、フルオ-3 とセルソーターを使って、細胞内カルシウム濃度が高い細胞を分離した。これはカルシウムイオノフォア A-23187 を添加したもので、ほぼすべての細胞が、傾向強度の強い方へシフトしている。この系にオレイン酸を添加すると、すべての細胞のカルシウム濃度上昇が観察された。オレイン酸のメチルエステルではこのようなことは起こらず、これは今まで追跡しようとしてきた脂肪酸認識機構の特異性と一致する。

5. 脂肪酸を認識している実体は何か

さて、この脂肪酸を認識して、メチルエス

テルや中鎖脂肪酸とは応答しない認識機構の実体は分子レベルでは何なのか、というのが重要な問題である。最近、ヒト血小板から、細胞膜に存在する脂肪酸の結合タンパク質の遺伝子がシードラ^{7,8)}のグループによってクローニングされた。これは細胞質にある脂肪酸結合タンパク質とは全く異なる分子である。この膜結合脂肪酸結合タンパク質はCD 36と呼ばれている。これと類似のタンパク質が、ニューヨーク州立大学のアブムラッド⁹⁾によってラット脂肪細胞の細胞膜に見いだされ、彼女らはこのタンパク質を脂肪酸のトランスポーターであるとしてFATと呼んでいる。

類似のタンパク質が消化管における脂肪酸の認識に関係があるのではないかと考え、FAT様のタンパク質が小腸上皮細胞にも存在するかどうか調べてみた。アブムラッド博士にいただいたFATのcDNAをプローブにして小腸の先端から根本まで細胞を分画して調べたところ、小腸の先端部分に大量のmRNAが存在することがわかった。

また、このタンパク質に対する抗体は、約3000倍くらいに薄めた抗血清でも、脂肪酸による小腸の細胞のカルシウム上昇を阻害することが明らかとなった。

これらの実験事実からラットの小腸にある脂肪酸結合タンパク質が、脂肪酸の認識に関与していることが強く示唆される。小腸で発現している脂肪酸結合タンパク質が脂肪細胞や血小板などと全く同じものであるかどうかはまだ明らかでなく、現在小腸のものの遺伝子をクローニングしている。

6. おわりに

消化管において、脂肪は脂肪酸としてはじめて認識されること。脂肪酸のカルボキシル基と炭素鎖が膜にある脂肪酸結合タンパク質と相互作用することによって認識されること

が示唆された。最近になって、脂肪の吸収が、タンパク質の輸送担体を介して起こることを示唆する論文も現れ始めている¹⁰⁾。従来の教科書のように、脂肪は細胞膜を単純拡散によってすり抜けるだけではないのかもしれない。

近年、低カロリー食品を目指して、脂肪の代替物質の開発が盛んであるが、脂肪の生理的な刺激に係る部分を持たないものでは、本来の脂肪とは異なる生理状態をもたらす可能性があり、我々の消化管に簡単に見破られてしまうかもしれない。

食べた後の細胞による認識を考慮した食品脂肪の開発が重要であろうと思われる。

なお、本総説は、京都大学栄養化学研究室において、新谷隆史、高橋信之、河田照雄をはじめ、多くの研究室員諸氏によって行われた研究をもとにしたものである。

引用文献

- 1) Meyer, J. and R. Jones. (1974) *Am. J. Physiol.* 226: 1178-1187
- 2) Walsh, J. H. (1987), *In Physiology of Gastrointestinal Tract*, 2nd ed. Raven Press, New York, pp. 181-253
- 3) 伏木亨・井上一知 (1989) 食物と消化管ホルモン：消化管ホルモン最近の進歩，ヘルス出版，pp. 127-136
- 4) 伏木亨 (1994) *G. I. Research*, 2: 46-59
- 5) Shintani, T. *et al.* (1995) *Biosci. Biotech. Biochem.* 59: 1428-1432
- 6) Shintani, T. *et al.* (1995) *Biosci. Biotech. Biochem.* 59: 479-481
- 7) Oquendo, P. *et al.* (1989) *Cell*, 58: 95-101
- 8) Tandon, N. T. *et al.* (1989) *J. Biol. Chem.* 264: 7570-7575
- 9) Abumurad, N. *et al.* (1993) *J. Biol. Chem.* 268: 17665-17668
- 10) Gore, J. C. *et al.* (1994) *Lipids*, 29: 701-706

国内情報

培養神経細胞を用いたドコサヘキサエン酸 (DHA) による脳神経機能活性化機構の解析

岡山大学農学部

高畑京也・物部啓一・多田幹郎

脳にはドコサヘキサエン酸 (DHA, 22:6n-3) が、豊富に存在することは既に判明しているが、その生理的意義については、まだ未解明の部分が多い。DHA などの n-3 系高度不飽和脂肪酸を含有する油脂の投与により、学習能の向上作用が見出され、また、脳の発達や脳機能における DHA の重要性は指摘されているが、その作用機構は全く不明である。筆者らは、神経細胞のモデル細胞として PC12 細胞を用いて、DHA の神経細胞活性化機構の細胞内機序を明らかにする目的で実験を行った。その結果、DHA は神経細胞に対し直接の作用を有することが判明し、中枢神経活性化能との関連性が示唆された。

1. はじめに

近年食品起源の特定構造物質が、従来の栄養素給源としての視点とは全く異なる新規の生体調節機能を発現しうることが判明しつつある。すなわち人間の身体の恒常性の維持に、日常摂取する食品成分の生体調節機能が大きく関与していることが確立されてきている。脳神経機能については、食品の選択によって行動、性格や記憶が変化するという考えは従来容易に受け入れられなかったが、魚油等に多く含まれる高度不飽和脂肪酸、特にドコサヘキサエン酸 (DHA) の脳神経機能活性化作用を支持する報告が近年多数なされ、注目されている。すなわち学習行動能試験装置により、高度不飽和脂肪酸を摂取した動物の学習能や行動パターンの改善が明らかにされている¹⁻³⁾。しかしこの高度不飽和脂肪酸による脳神経機能活性化の生化学的基盤に基づいた作用機構については未だ未解明の部分が多く、作用機序の解明が早急に必要とされているのが現状である。

図1に示すように、リノール酸(n-6系列)と α -リノレン酸(n-3系列)の2つの高度不飽和脂肪酸は植物が作り、動物体内では作られない。ところがリノール酸を摂取すると体内でアラキドン酸などに変換され(n-6

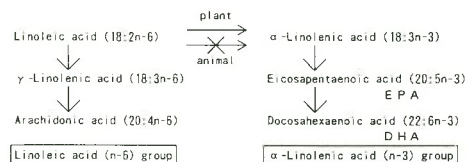


図1 高度不飽和脂肪酸の生合成代謝経路

系列)、一方、 α -リノレン酸はエイコサペンタエン酸 (EPA) や DHA に変換される。マグロやカツオ、イワシなどの青魚が特に多く含む炭素鎖長22、二重結合数6個のDHAは、摂取により脳神経、網膜などに集まり、これらの組織で比較的一定に保たれている。脳の正常な発達にはDHAが必須であることが報告¹⁻³⁾されており、また脳神経機能の活性化能⁴⁾が期待されている。

筆者らは、魚油由来の高度不飽和脂肪酸、とくにDHAの脳神経機能活性化機構の解明を目的とし、神経細胞のモデル細胞として培養PC12細胞を用いて、細胞膜レベル(膜脂肪酸組成や膜流動性)、細胞内情報伝達系レベル(細胞内Ca²⁺代謝)および遺伝子レベル(neuromodulinの発現)での影響を系統的に検索したので紹介する。

2. 細胞膜における生化学的応答の測定

先ず細胞内情報伝達の初発段階に関与する細胞膜リン脂質とDHAの作用発現の関連を検討するために、DHA添加後のリン脂質取り込みへの影響を測定した。

TAKAHATA Kyouya, MONOBE Kei-ichi,
TADA Mikirou

各種濃度 (20, 50, 100 μ M) の DHA 添加により, 細胞総脂質中の DHA 含量は濃度依存的に増加した。一方, DHA の添加によっても EPA 含量への大きな影響は認められなかった。このことは, PC12細胞においては取り込まれた DHA の EPA への retro-conversion はないことを示している。

またさらに, PC12細胞に取り込まれたリン脂質の分子種分析を GC-MS で検討したところ, 図2に示すように, 各種リン脂質へ

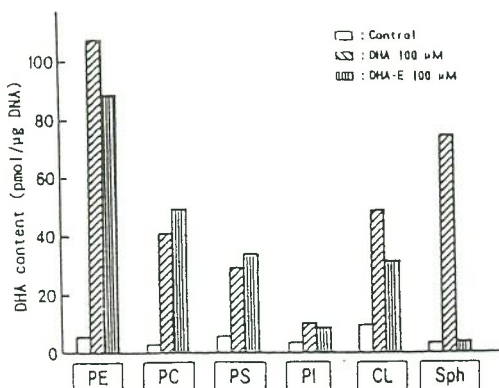


図2 DHA処理(48時間)によるPC12細胞膜リン脂質への取り込み

の取り込みがみられた。とくに, ホスファチジルエタノールアミン (PE), ホスファチジルコリン (PC) に多くの取り込みがみられた。また, DHA のエチルエステル体 (DHA-E) の取り込みについても検討したところ, 各リン脂質への取り込みが DHA と同様に認められたが, スフィンゴミエリン (Sph) については DHA と DHA-E で取り込みに大きな相違がみられた。PC12細胞においては, 種々の生理作用は DHA-E では

なく DHA のみに検出されることより, Sph への取り込みの有無の差が, 生理作用発現と密接に関連することが示唆され, 興味深い。事実, 近年, 細胞内情報伝達系におけるスフィンゴミエリンサイクルの重要性が注目されており^{5,6)}, 本サイクルに対する DHA の影響が予想される。続いて膜脂肪酸組成と密接に関連している細胞膜流動性をピレン蛍光法⁷⁾により測定したところ, DHA により流動性の上昇が観察された。一般的に, 細胞においては, 膜脂肪酸の不飽和度の上昇と共に, 膜流動性の上昇が観察されることより⁸⁾, PC12細胞においても, 膜流動性の上昇は, 膜リン脂質への DHA 取り込みと関連した作用と考えられる。

3. 細胞内 Ca^{2+} 濃度への影響

図3に示すように, Fura-PE3蛍光法により, DHA 添加による細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇がみられた。この上昇作用は濃度依存的であるが, EGTA を添加してもその作用が阻害されないことより, 細胞外 Ca^{2+} には非依存性であることが判明した。また, 各種の Ca^{2+} チャンネル阻害剤の添加によっても細胞内 Ca^{2+} は上昇することより, 細胞外よりの Ca^{2+} 流入には関与しないことが判明した。さらに, IP_3 レセプターや CICR (Calcium Induced Calcium Release) チャンネルの各種阻害剤 (Cinnarizine⁹⁾および Dantrolene¹⁰⁾が, 細胞内 Ca^{2+} 上昇作用には無効であることより, DHA の Ca^{2+} 上昇作用には, 細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位から細胞内への Ca^{2+} 動員も関与しないことが示唆された。現在のところ, DHA の細胞内 Ca^{2+} 上昇作用は, 細胞外へ

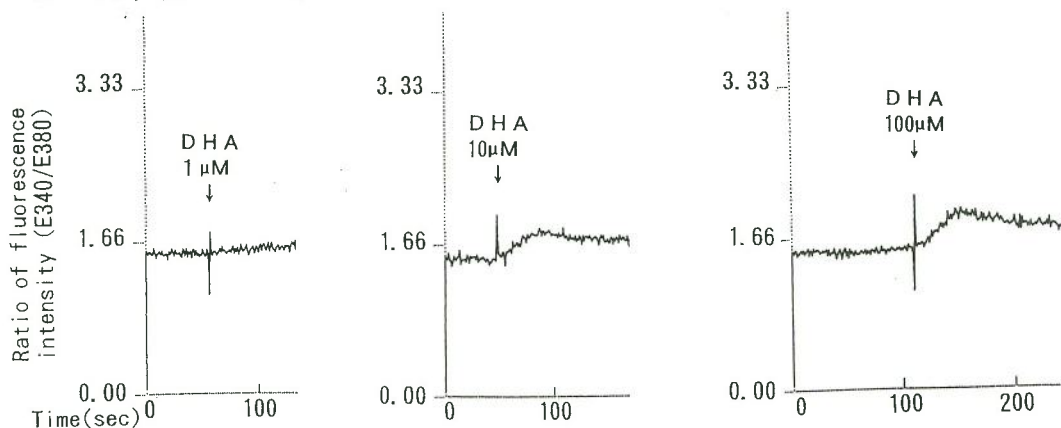


図3 PC12細胞内カルシウム濃度に対するDHAの影響

のCa²⁺排出系に関与するCa²⁺ポンプ(Ca-ATPase)の阻害が予想され、現在検討を行っているところである。

4. Neuromodulin 遺伝子発現と神経突起形成への影響

PC12細胞はNGF処理により神経突起を伸長し神経様細胞へと分化するが、その際、神経突起形成のmarkerであるneuromodulin遺伝子の発現も観察される。そこでDHA添加によるneuromodulin遺伝子発現への影響をラットcDNA由来のプロンプ¹⁾を用いて検討したところ、ドットプロットおよびノーザンブロット法により、DHAのneuromodulin遺伝子発現増強作用が確認された。

またさらに、DHA添加による形態的变化、とくに神経突起形成について調べたところ、NGF添加によるものに比べ、突起長は短い、数の多い突起形成が観察された。また、DHAとNGFとの共存により、NGFの神経突起伸長作用が相乗的に高められた。

5. おわりに

記憶力や学習能向上などの脳神経機能活性化は、個々の神経細胞の活性化並びに神経細胞間の相互作用向上に由来すると考えられる。DHAによる脳神経機能活性化作用は、ラット等の個体動物に投与した行動薬理的検討で報告¹⁻³⁾されてきている。筆者らは細胞レベルでの生理的応答、すなわち細胞表面から細胞内遺伝子、さらに細胞形態変化(神経突起形成)までの系統的な活性化機序の解明を目的として、実験を行った。その結果、図4にまとめたような結果が得られた。すなわち、

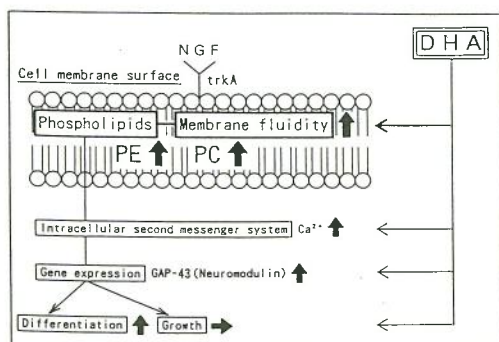


図4 PC12細胞に対するDHAの効果

DHA処理による細胞膜流動性の上昇、細胞内Ca²⁺の上昇、neuromodulin (GAP43) mRNAの増加、ならびにNGF(神経成長因子)作用のmodificationなどが観察された。同様のことが中枢神経系の細胞でも示されれば、DHAの作用発現機序解明の糸口の一つになり得るであろう。

我が国では、従来欧米よりDHAをはじめとするn-3系列の摂取量が多かったが、近年の食環境の著しい変化により「魚離れ、野菜嫌い」が進行してきた。また、偏食が多く、一方で多動、集中力・協調性の欠如、無表情・無感動などの情緒異常が増加してきている。このような脳神経にかかわる機能の異常発現と摂取脂肪酸のアンバランスの関係に関心をもたれるが、生体の恒常性機能の維持が神経系、免疫系、内分泌系などの相互作用の厳密な調節の上に成り立っており、健康上の問題のみでなく、食物がヒトの行動にも変化を及ぼし得ることは、食環境が現代社会の方向性をも左右する可能性を示唆している。

我々の研究課題は、魚油成分由来のDHAの作用解析を通して、食物-脳神経機能関連の解明に迫るものであるが、さらには強い神経賦活性作用物質の開発を通じてアルツハイマー病疾患などの脳機能疾患の予防療法などの極めて重要な応用研究も期待される。

文 献

- 1) Carlson, S. E. and N. Salem (1991) *World Rev. Nutr. Diet.*, 66 : 74
- 2) Brekke, O. L. *et al.* (1992) *Lipids*, 27 : 485
- 3) Bjerve, K. S. *et al.* (1992) *Nutrition*, 8 : 130
- 4) Bourre, J. M. *et al.* (1993) *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 48 : 5
- 5) Hannun, Y. A. (1994) *J. Biol. Chem.*, 269 : 3125
- 6) Kim, M. -Y. *et al.* (1991) *J. Biol. Chem.*, 266 : 484
- 7) Soutar, A. K. *et al.* (1974) *Biochemistry*, 13 : 2828
- 8) Albrts, B. *et al.* (1983) *Molecular Biol-*

- ogy of the Cell, 255pp.
- 9) Seiler, S. M., (1987) *Biochem. Pharmacol.*, 36: 3331
- 10) Ohta, T. and M. Endo (1986) *Proc. Jpn. Acad.*, 62: 329
- 11) Karns, L. R. et al. (1987) *Science*, 236: 597

国内情報

豚丹毒菌の病原因子の解析とクローニング

農林水産省 家畜衛生試験場

下地善弘・横溝祐一・森 康行・関崎 勉

細菌の染色体にトランスポゾン挿入し、その挿入場所の構造を大きく変えることにより突然変異菌をつくることのできる。そこで、トランスポゾンによる挿入突然変異を利用して豚丹毒菌の病原因子の解析を行った。その結果、本菌は莢膜を保有しており、宿主食細胞の貪食作用に抵抗することが本菌の病原因子の一つであることを初めて明らかにした。また、トランスポゾンが挿入された遺伝子領域のクローニングにも成功し、その分子遺伝学的解析を進めている。これらの成績は本菌感染症の発病機構の解明をはじめ、その予防技術の確立に向けて大きな前進になるものと思われる。

1. はじめに

豚丹毒は豚丹毒菌 (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) によって起こる豚の伝染病であり、我が国においては家畜法定伝染病の一つに指定されている。その発生件数は他の家畜法定伝染病と比較してきわめて多く、毎年2千頭近くが罹患・発病しており、畜産経営上大きな問題となっている。その病型は多彩で、大別すると、急性に経過する敗血症および蕁麻疹型、慢性に経過する関節炎型および心内膜炎型に分けられる。豚丹毒菌は宿主域が非常に広く、豚以外にも牛や羊の多発性関節炎、鳥類では鶏、七面鳥などに敗血症を起こす。また、ヒトにも類丹毒症と呼ばれる皮膚疾患のほか、まれに心内膜炎や敗血症を起こすことが知られており、公衆衛生の面からも重要な菌である。

本菌の病原因子に関する研究は少なく、これまでヒアルロニダーゼ、ノイラミニダーゼ、細胞付着能等が報告されてきた^{1,2,3)}。しかしながら、これらの病原因子に対して遺伝子レ

ベルで解析されたものはなく、また、本菌の病原性については未だ不明の分野が多く残されている。そこで、我々はトランスポゾンによる挿入突然変異を利用して豚丹毒菌の病原因子の解析を行った⁴⁾。この方法はトランスポゾンを目印として、トランスポゾンの挿入により突然変異を起こした遺伝子の一部を同定・クローニングできることから、病原因子の解析に非常に有効である^{5,6)}。本稿では、トランスポゾン Tn916 を利用した豚丹毒菌の病原因子の解析について紹介する。

2. トランスポゾン挿入変異株の作出と弱毒株の選択

トランスポゾン Tn916 は腸球菌 (*Enterococcus faecalis*) のある株で発見されたテトラサイクリン耐性遺伝子を保有した転移遺伝子で、接合伝達により目的とする細菌の染色体に導入することができる⁷⁾。Tn916 を保有する *Enterococcus faecalis* CG110株と豚丹毒菌の強毒株である藤沢株のストレプトマイシン耐性株 Fujisawa-SmR 株をメンブランフィルター上で培養した後、テトラサイクリンとストレプトマイシンの入った培地を用い

SHIMOJI Yoshihiro, YOKOMIZO Yuichi,
MORI Yasuyuki, SEKIZAKI Tsutomu

て、Tn916の接合伝達されたFujisawa-SmR株を選択した。伝達頻度は豚丹毒菌 $10^7 \sim 10^8$ 個あたり1個と比較的効率よく挿入変異株が得られたことから、Tn916は豚丹毒菌の病原因子の解析を目的とした本実験に有用であることがわかった。合計約6千個の挿入変異株を作成し、その中で親株であるFujisawa-SmR株とコロニー形態の異なった変異株(33H6株、28G5株、28G12株)について詳しく解析した(図1)。Tn916をプ

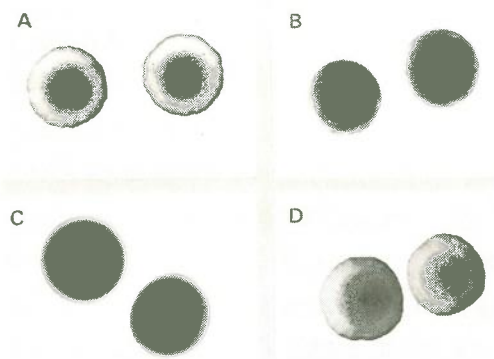


図1 変異株のコロニー形態

A: Fujisawa-SmR株 B: 33H6株
C: 28G12株 D: 33H6-R株

ロープとしてサザン・ハイブリダイゼーションを行ったところ、これらの変異株は1個から数個のトランスポゾンを持有していることが確認された(図2)。また、33H6株からト

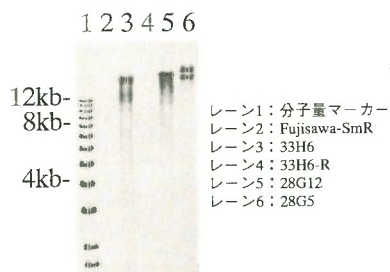


図2 サザン・ハイブリダイゼーションによるTn916挿入の確認

ランスポゾンが脱落した株(33H6-R)はトランスポゾンの脱落と同時にコロニー形態が復帰したことから(図1)、コロニー形態の変化はある遺伝子領域におけるトランスポゾンの挿入が原因であることが証明された。

3. 変異株の病原性と食食抵抗能

これらの変異株の病原性を調べるためマウスに対する50%致死量を算出した(表1)。

表1 変異株のマウスに対する病原性

strain	Tn916	LD ₅₀ ^{a)}
Fujisawa-SmR	+	$10^{3.5}$
33H6	-	$>10^8$
28G12	-	$>10^8$
28G5	-	$>10^8$
33H6-R	+	$10^{3.9}$

a) 腹腔内接種による50%致死量

この結果から、33H6株、28G5株、28G12株のいずれの変異株も病原性を失っているが、トランスポゾン脱落株である33H6-Rは親株のFujisawa-SmRと同様に強い病原性を有していることが判明した。このことは、33H6株におけるトランスポゾンの挿入場所が本菌の病原性に関与する遺伝子領域であることを強く示唆している。

菌体の表層構造物に変化することで培地上のコロニー形態が変化することはよく知られており、その一つに莢膜がある。莢膜は白血球の認識を逃れて貪食作用に抵抗する重要な病原因子であることが種々の細菌で報告されている。そこで、得られた変異株が病原性を失った原因を探るため、これらの変異株に対する好中球の貪食能を調べた。図3が示すよ

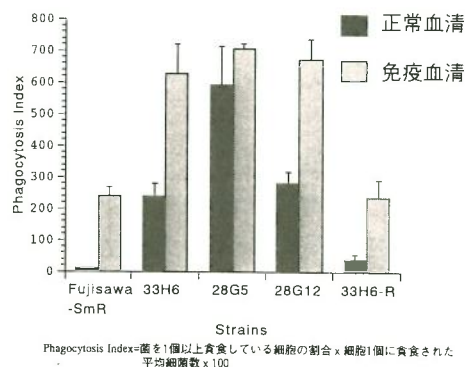


図3 マウス好中球による変異株の貪食能試験

うに、親株であるFujisawa-SmR株とトランスポゾン脱落株である33H6-Rは正常血清存在下で強い貪食抵抗能を示したが、33H6株、28G5株、28G12株はいずれも貪食された。これらの結果から、本菌の病原性の一つとして貪食抵抗能の重要性が示唆された。

4. 電子顕微鏡による菌体表層の観察

寒天培地上のコロニーを化学的に固定し、電子顕微鏡により菌体表層の観察を行った。

その結果、親株には菌体最外層に莢膜様構造物が認められたのに対し、変異株にはこのような構造物は認められなかった (図4)。



図4 電子顕微鏡による菌体表層の観察
左: Fujisawa-SmR株, 右: 33H6株

以上の成績を総合すると本菌も他の莢膜保有株と同じように、莢膜による食餌抵抗能が重要な病原因子であると考えられた。

5. トランスポゾン・タグgingによる遺伝子のクローニング

トランスポゾンを目印として突然変異を起こした遺伝子をクローニングする方法を、トランスポゾン・タグgingとよんでいる。我々はトランスポゾン・タグgingによる遺伝子の単離を試みた (図5)。得られた変異

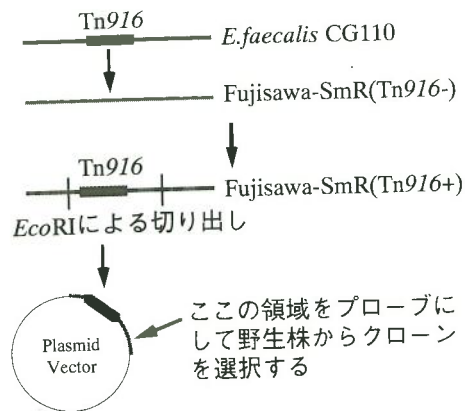


図5 トランスポゾン・タグgingによる遺伝子のクローニング

株の中の一つ33H6株からDNAを抽出し、Tn916を切断しない制限酵素のEcoRIで消化後、pUC系のプラスミドベクターに連結した。この組換え体プラスミドを大腸菌に導

入し、テトラサイクリンの入った寒天培地で選択することにより、Tn916を含むDNA断片をクローニングした。この断片はTn916の他にも突然変異を起こした豚丹毒菌のDNAの一部を含んでいることから、さらにこの部分の配列をプローブとして野生株のゲノミックライブラリーより目的の遺伝子のクローンを選択した。得られたクローンは約4.5 kbの領域を持つクローンで、現在その塩基配列を決定中である。

6. おわりに

豚丹毒の発病機構については依然不明な点が多い。その病理発生には本菌の多様な病原因子が関わっていると考えられるが、本菌の病原因子の遺伝子レベルでの解析はまだ手がつけられたばかりである。現在、我々が行っている病原因子の解析により、豚丹毒菌感染症の発病機構の一端が解明され、本病の予防対策に必要な知見が得られるものと期待している。

文 献

- 1) Stöhr, P., W. Rudolph und M. Harm (1963) *Arch. Exp. VetMed.* 17: 1019-1030
- 2) Krasemann, C. and H. E. Müller (1975) *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd Infektionskr Hyg. Abt.1 Orig. Reihe A231*: 206-213
- 3) Takahashi, T., N. Hirayama, T. Sawada, Y. Tamura and M. Muramatsu (1987) *Vet. Microbiol.* 13: 57-64
- 4) Shimoji, Y., Y. Yokomizo, T. Sekizaki, Y. Mori and M. Kubo (1994) *Infect. Immun.* 62: 2806-2810
- 5) Gaillard, J. L., P. Berche and P. Sansonetti (1986) *Infect. Immun.* 52: 50-55
- 6) Kathariou, S., P. Metz, H. Hof and W. Goebel (1987) *J. Bacteriol.* 169: 1291-1297
- 7) Franke, A., and D. B. Clewell (1981) *J. Bacteriol.* 145: 494-502

海産魚イリドウイルス感染症の迅速診断法

農林水産省 水産庁養殖研究所

反町 稔

マダイイリドウイルスに対する単クローン抗体を作製し、それを用いて間接蛍光抗体法によりイリドウイルスを実験感染させたマダイならびに感染の疑われたマダイ、ブリ、カンパチなどの自然発病魚の診断の可否を検討した。脾臓スタンプ標本における検査では、単クローン抗体による蛍光抗体法はこれまで用いられてきたギムザ染色法よりも検出感度が優れ、各種海産養殖魚のイリドウイルス感染症の迅速確定診断に有効であることが分かった。

1. はじめに

1990年の夏から初秋にかけて初めて発生したマダイの大量斃死は、養殖研究所と県水産試験場との研究協力により、イリドウイルスによる感染症であることが明らかされた¹⁾。本症に関する当初の研究の概要については、本誌第33号ですでに述べた²⁾。

本症に罹病したマダイ病魚の症状の特徴として、体色の黒化や褪色、体表や鰭の出血性のスレ、眼球の突出や出血、貧血による鰓や肝臓の褪色、脾臓の肥大などがあげられ、肉眼観察によっても病魚の診断はある程度可能であるが、症状の顕著でない個体や魚種も多く、あくまでも推定診断の域をでない。

マダイイリドウイルスの培養は、BF-2やGFなどの魚類由来株化細胞で可能となっている^{3,4)}。しかし本症の発生当初は感受性の高い培養細胞が明らかにされていなかったこと、あるいは診断に時間と設備を必要とすることなどから、ウイルスの分離培養による診断は養殖現場ではほとんど用いられなかった。

病魚は病理学的には脾臓の病変が最も顕著であり、細胞質が塩基性色素に染る肥大球形化した細胞が多数みられるのが特徴である。これらの肥大細胞は脾臓のほかにも心臓、鰓、腎臓などにもみられるが、いずれもウイルス感染によって変性した血球細胞と考えられて

いる⁵⁾。病魚にはこのような肥大細胞が多数出現することから、養殖現場では脾臓のスタンプ標本にギムザ染色を施し、顕微鏡観察によって青紫色に濃染する肥大細胞を確認する簡易迅速診断法が広く用いられてきた。

しかし、1991年以降マダイと同様の症状を呈するイリドウイルス感染症が各種の海産養殖魚にも発生し、特に近年ではブリやカンパチ、シマアジなどでの被害が大きな問題となっている。これらの中には脾臓における肥大細胞の出現が顕著でない魚種もあり、ギムザ染色法による簡易診断では判定が困難なものがみられるようになった。

このような背景から、養殖研究所ではマダイイリドウイルスの構造タンパク質や誘導抗原の解析、あるいは迅速診断への応用を目的に、イリドウイルスに対する単クローン抗体を作製し、それを用いた迅速確定診断法を開発した^{6,9)}。以下にその概略を紹介する。

2. マダイイリドウイルスに対する単クローン抗体の作製

マダイイリドウイルスを感染させたBF-2細胞を可溶化し、フロイント完全アジュバントと混合してマウスの腹腔内に接種した。約1か月後に脾臓を摘出し、免疫マウス脾細胞とマウスミエローマ細胞とを細胞融合させ、抗体を産出するハイブリドーマの培養液を単クローン抗体とした。つぎに、イリドウイルス感染BF-2細胞と非感染BF-2細胞を用

い、間接蛍光抗体法によって感染細胞にのみ特異的に反応する抗体を産生するハイブリドマクローンをスクリーニングし、20クローンを得た。これらの単クローン抗体を用いた間接蛍光抗体法により、ウイルス感染によって球形化した細胞が特異的に反応している像を図1に示した。

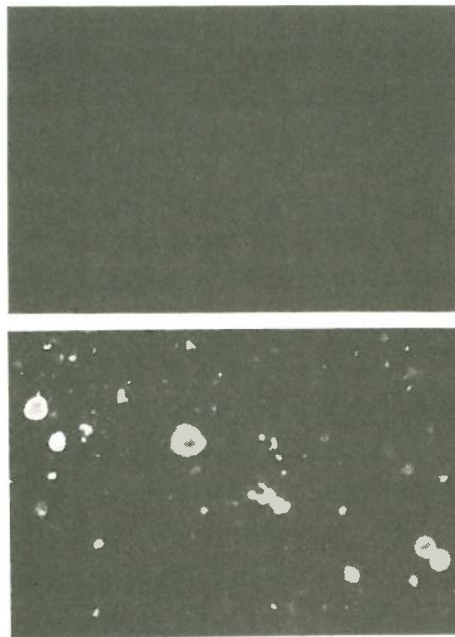


図1 マダエイリドウイルス感染BF-2細胞の単クローン抗体による間接蛍光抗体像 (上: 非感染細胞, 下: 感染細胞)

3. 各種イリドウイルスに対する単クローン抗体の反応性

異なる地域(愛媛, 鹿児島, 三重)から分離された3株のマダエイリドウイルスをBF-2細胞に接種し, 間接蛍光抗体法によって得られた20の単クローン抗体の反応性を調べた。その結果, いずれの抗体も陽性反応を示したことから, マダイ由来のイリドウイルスの抗原性は同一であると考えられた。同様に単クローン抗体をスズキおよびイシダイから分離されたそれぞれ1株のイリドウイルスと反応させたところ, スズキ由来株に対してはマダイと同様にすべての単クローン抗体が反応したが, イシダイ由来株には若干の反応の差異が認められた。これらのことから, スズキ由来のイリドウイルスはマダイと同一もしくはきわめてよく類似したウイルスであること, イシダイ由来のイリドウイルスは共通の

抗原決定基を有するが, 抗原性に多少の差異があることが分かった⁶⁾。

一方, 今回作製した単クローン抗体は, 養殖ウナギから分離されたイリドウイルス⁷⁾や, 魚類由来のイリドウイルスとの近縁性が報告されている; カエル由来のイリドウイルス⁸⁾に対してはまったく反応しなかったことから, 現在海産養殖魚で問題となっているイリドウイルスとのみ特異的に反応する抗体であることが分かった。

4. 単クローン抗体の魚病診断への応用

そこで, イリドウイルスを実験的に感染させたマダイの脾臓スタンプ標本を用いて, 単クローン抗体による間接蛍光抗体法が魚病診断に適用可能か否かを検討した。感染初期にはウイルス抗原の検出は困難であったが, 時間の経過とともに陽性細胞が検出されるようになり, 発症魚では明瞭な蛍光陽性細胞が観察された(図2)。また, 併せて行ったギム

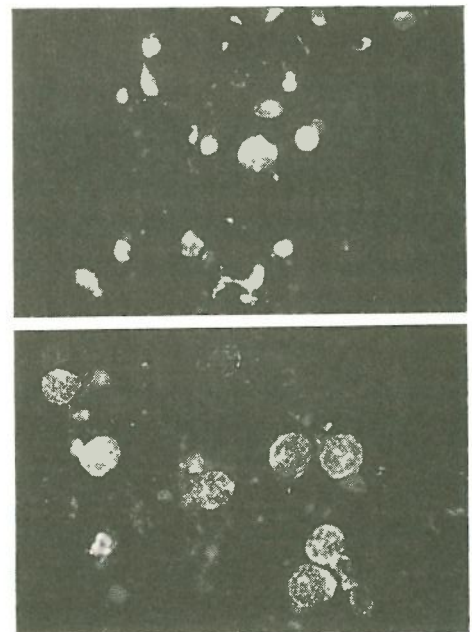


図2 感染病魚の脾臓スタンプ標本の間接蛍光抗体像 (上: マダイ, 下: イシダイ)

ザ染色法による診断よりも早い時期に確実に診断できることが分かった。

上述したように, 今回作製した単クローン抗体はマダイをはじめスズキ, イシダイ由来のイリドウイルスにも特異的に反応することから, 養殖場で発生している各種海産魚のイリドウイルス感染症の診断にも応用が可能で

あると考え、1994年に県水産試験場の協力のもとに野外調査を実施した。

すなわち、九州、四国、紀伊半島沿岸などの西日本各地の養殖場で発生した種々の感染症のうち、細菌感染症などの原因の明らかなものを除き、イリドウイルスの感染が疑われた700検体余の病魚について、単クローン抗体を用いた間接蛍光抗体法による診断を行った。その結果、マダイ、ブリ、カンパチ、ヒラマサ、シマアジ、イシダイ、イシガキダイ、チダイ、スズキ、トラフグおよびキジハタの11魚種でマダイイリドウイルスと共通の反応を示すウイルス抗原が検出され、これまで感染が疑問視されていた数魚種を含めて各種の海産養殖魚にイリドウイルスの感染が広く蔓延していることが判明した。

間接蛍光抗体法とギムザ染色法によって、700検体余の病魚について診断した結果を比較すると、後者の陽性反応が53.8%であったのに対して前者は75.6%とはるかに高かった。また、ブリなどの病魚ではマダイのように典型的な肥大細胞を形成せず、出現する細胞数も少ないことから、ギムザ染色法による診断は困難であったが、蛍光抗体法では明瞭な陽性反応が得られた。

以上のように、今回作製した単クローン抗体を用いた間接蛍光抗体法による病魚の診断は、現在海産養殖魚で流行しているイリドウイルス感染症の迅速確定診断にきわめて有効であることが分かった。これらの詳細については著者らがすでに報告している⁹⁾ので、ご興味ある方は参考にされたい。

5. おわりに

以上、単クローン抗体の作製とそれを用いた間接蛍光抗体法による診断について述べた。本法は、単クローン抗体と蛍光顕微鏡があればどこでも誰でも実施することが可能であり、病魚あるいはスタンプ標本を得てから2時間程度で判定ができる簡便・迅速な確定診断法である。上述のように1994年の調査によって本法の有用性が明らかにされたことから、1995年はさらに多数の県水産試験場や魚病センターなどで単クローン抗体を用いた魚病診断が実施されており、養殖現場におけるイリドウイルス感染症の迅速診断に役立っている。

文 献

- 1) 井上 潔・山野恵祐・前野幸男・中島員洋・松岡 学・和田有二・反町稔 (1992) 魚病研究, 27: 19-27
- 2) 反町 稔 (1992) BRAIN テクノニュース, 33: 10-12
- 3) Nakajima, K. and M. Sorimachi (1994) *Fish Pathol.*, 29: 29-33
- 4) 栗田 潤・中島員洋・反町 稔 (1994) 平成6年度日本魚病学会秋季大会講要, p.17
- 5) 井上 潔・三輪 理 (1995) 平成7年度日本魚病学会秋季大会講要, p.5
- 6) Nakajima, K. and M. Sorimachi (1995) *Fish Pathol.*, 30: 47-52
- 7) 反町 稔 (1984) 養殖研報, 6: 71-75
- 8) Granoff, A., P. E. Came and D. C. Breeze (1966) *Virology*, 29: 133-148
- 9) Nakajima, K., Y. Maeno, M. Fukudome, Y. Fukuda, S. Tanaka, S. Matsuoka and M. Sorimachi (1995) *Fish Pathol.*, 30: 115-119

地域の先端研究

三倍体アコヤガイの真珠形成から明らかになった真珠養殖用母貝の改良指針

愛媛県中予水産試験場

内村祐之

三倍体アコヤガイを作出し二倍体と同じ大きさの核を挿核した場合、三倍体では真珠層の厚い良質な真珠が得られることが明らかになった。この機構を解明するため、養殖中の二倍体および三倍体アコヤガイの生理学的研究を行った結果、性成熟の抑制による軟体部の継続的成長が三倍体において顕著にみられたことから、三倍体における性成熟の抑制が核上の真珠層の成長の原因であることが明らかになった。このことから、二倍体の改良においては性成熟の遅延が必要と判断された。

1. はじめに

愛媛県の真珠生産量は国内の36%を占め全国第一位である。しかし、この10年間で品質の良い真珠の出現率は20%以上減少したため、真珠品質を向上させる技術の開発が強く求められるようになった。ところで魚介類においては、三倍体育種により大型で品質の良い商品の生産が可能となった例がある。そこで、真珠品質の向上に三倍体アコヤガイが利用できるのではないかと考え、三倍体アコヤガイの比較養殖試験を行うとともに、二倍体と三倍体の生理学的特徴を比較検討し、品質の良い真珠生産に関わる要因を明らかにした。

2. 三倍体胚の誘導と処理の副作用

通常のアコヤガイの発生と二倍体胚から三倍体を誘導する模式図を図1に示す。三倍体は、第1成熟分裂が終了した胚を細胞分裂阻害剤であるサイトカラシンBで処理し、第

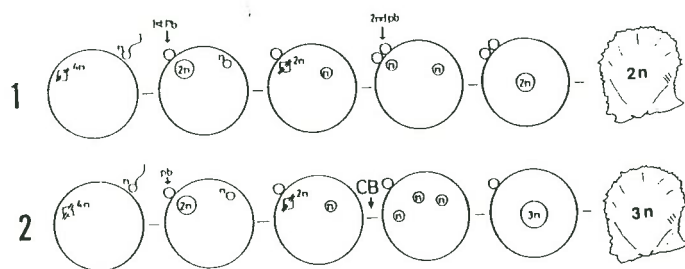


図1 二倍体の発生と三倍体の誘導

1: 二倍体の発生, 2: サイトカラシンB処理による三倍体の誘導

2 極体放出を阻害して二つの雌性前核と雄性前核とで三倍体として発生させる原理を利用して作出する。ところで、三倍体処理した幼生には正常な幼生と異なり、蝶番が湾曲した奇形幼生が多く含まれ(図2)、これが浮遊

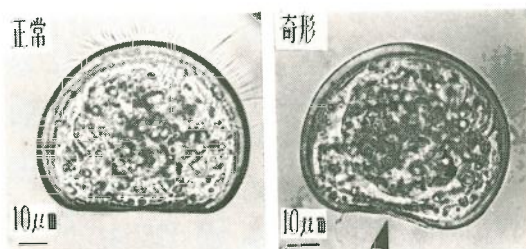


図2 正常幼生と奇形幼生

左: 正常幼生, 右: 奇形幼生, 蝶番が内側に湾曲している。

生活の後に付着変態して稚貝になることができず死滅するため、三倍体幼生の生残率は二倍体幼生が約10%であるのに対し0.1%以下と低く、大量生産の妨げとなっていた。

3. 副作用の少ない処理条件

そこで、奇形幼生の出現率が低い最適処理条件を検索した。サイトカラシンB中で二倍体胚の発生が進むと、第2成熟分裂を終了したものは三倍体に変化する¹⁾が、胞状核期を過ぎるとその副作用を受け、奇形幼生となることが明らかになった²⁾(図3)。このことから処理中のほとんどすべての胚が第2成熟分裂を終了した時期に、すみやかにサイトカラシンBを除けば、三倍体の割合は高く、しかも相対的に奇形幼生の出現率の低い処理が行えることが分った。以上のことをもとに、

UCHIMURA Yushi

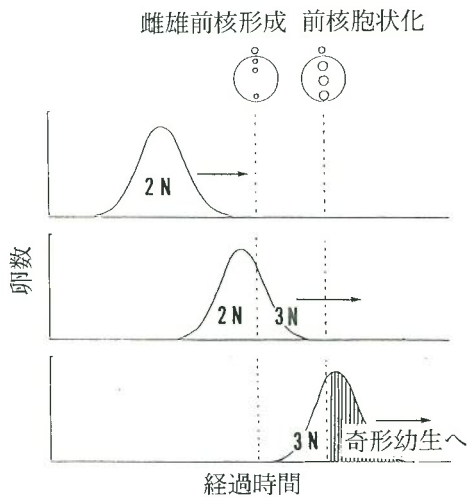


図3 サイトカラシンBの胚への作用

サイトカラシンBを含む海水で発生中の胚は、第2成熟分裂終了すると三倍体となるが胞状核期を過ぎると副作用を受け奇形幼生となる。

表1 二倍および三倍体から得られた真珠の直径

バッチ		直径 (mm)				
		6~7	7~8	8~9	9~10	10~11
1993 a	2N	2,585*1 (81.2)*2	598 (18.8)	—	—	—
	3N	2,086 (72.1)	807 (27.9)	—	—	—
1993 b	2N	562 (95.3)	28 (4.7)	—	—	—
	3N	284 (89.6)	33 (10.4)	—	—	—
1993 c	2N	102 (71.8)	40 (28.2)	—	—	—
	3N	312 (66.1)	160 (33.9)	—	—	—
1992 b	2N	—	—	121 (64.7)	63 (33.7)	3 (1.6)
	3N	—	—	17 (58.6)	12 (41.4)	0 (0)
1992 b	2N	74 (43.8)	95 (56.2)	0 (0)	—	—
	3N	55 (20.8)	204 (72.3)	5 (6.9)	—	—
1990	2N	—	72 (82.8)	15 (17.2)	—	—
	3N	—	5 (21.7)	18 (78.3)	—	—
1989 a	2N	124 (77.5)	34 (21.3)	2 (1.2)	—	—
	3N	38 (67.6)	18 (32.4)	0 (0)	—	—
1989 b	2N	2 (2.9)	65 (94.2)	2 (2.9)	—	—
	3N	1 (3.2)	29 (93.6)	1 (3.2)	—	—

*1 個数 *2 割合 (%)

バッチごとに胚発生を観察しながら適切な処理を行った結果、三倍体種苗生産の生残率は向上して2~5%となり、数千個の貝を用いた真珠養殖試験が行えるようになった。

4. 養殖試験と真珠品質

養殖試験は、1989~93年に合計8回行った³⁾。なおアコヤガイの体内に挿入する核(真珠の基になる)は、二倍体と三倍体とも同じ直径のものを使用した。得られた真珠の直径は、二倍体に比べ三倍体で大きく、三倍体で小さな真珠が得られた群はなかった(表1)。次に、光沢、色彩および傷の有無から評価した品質の良い真珠(商品珠)の出現率は、三倍体の値が二倍体より高い群と、二倍体と大きな差がない群とがあった(表2)。

表2 二倍および三倍体から得られた真珠の商品珠の割合

バッチ	2N (%)	3N (%)
1993 a	24.4	27.4
1993 b	54.2	70.7
1993 c	42.9	72.9
1992 a	55.5	61.7
1992 b	17.8	12.1
1990	7.9	4.8
1989 a	46.7	50.0
1989 b	41.2	35.4

その後の調査で、海水中に餌(植物プランクトン)が少ない年の真珠品質は、二倍体と三倍体とに大きな差がないと考えられたため、三倍体を養殖貝として用いるには、餌料環境の変化に適応した技術開発が必要であると判断された。そこで品質の良い真珠生産にかかわる要因の解明を試み、光沢のある直径の大きな真珠をつくる養殖技術の指針を策定するために、三倍体の真珠品質が二倍体を上回った1993年の養殖結果を詳しく解析した。

5. 真珠の成長

1993年1月に挿核(核の重さは約320mg)し、4月から毎月調査した結果、三倍体の真珠の直径が二倍体を上回ったのは、秋に二倍体の真珠層の成長が停止したためであることが明らかになった(図4)。また、二倍体、三倍体とも、真珠の成長が停止する時期に光

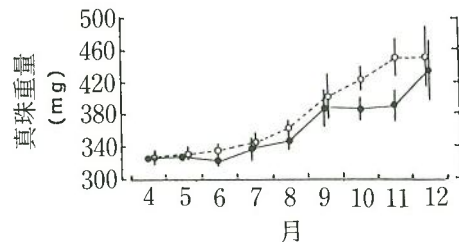


図4 真珠重量
●: 二倍体, ○: 三倍体(平均値±95%信頼限界)

沢を持った。

6. 真珠の成長と貝の成長

実験期間を通じてみると、軟体部重量、閉殻筋重量、閉殻筋のグリコーゲン含有量などにおいて、三倍体よりも二倍体の方が低い傾向にあり、そこに三倍体としての有利な特徴を見いだすことができるが、二倍体は9月以降の血清タンパク含有量をみても、三倍体より著しく生理状態が劣っていたとは考えられなかった。

二倍体の軟体部の成長は秋に停止し、三倍体は初冬に停止しており、真珠の成長とよく相関したのに対し、閉殻筋重量は、真珠の成長が停止した時期に減少し明確な相関は認められなかった。したがって真珠の成長と最もよく相関したのは軟体部の成長であり、軟体部の成長が停止した時期には、閉殻筋と閉殻筋のグリコーゲン含有量が減少し、真珠が成長を停止したことから、これらの変化は軟体部に生じた何らかの生理的变化に起因したと考えられた。また、その変化は性成熟ではないかと考えられた。

7. 真珠の成長と性成熟

生殖腺組織標本を作成し、二倍体と三倍体とで性成熟に相違がみられるか、また性成熟が真珠の成長に関与するかを解析した。なお、アコヤガイ⁴⁾など魚介類の三倍体は、性成熟が抑制されるが一部配偶子形成が進行することが知られている。

1993年の産卵期の終了後に性成熟の第3期(成長後期)が出現する時期は、二倍体では9月、三倍体では11月であり、この時期は、それぞれの軟体部の成長が停止した時期と一致した。すなわち、卵黄蓄積および精子形成が進行する第3期の時期には、閉殻筋と閉殻

筋のグリコーゲンが消費され、軟体部の成長が停止するとともに、真珠の成長も停止すると考えられた。このことから、三倍体では第3期への移行が二倍体により2か月遅れるので、この2か月の真珠の成長が、二倍体を上回る真珠重量を得た要因であることは明らかである。光沢との関係で考えれば、二倍体では9月の生殖腺の第3期移行による真珠の成長の停止にともない、光沢は出るがまだ直径が小さい。さらに11月以降の第3期の減少にともなって、真珠が再び成長し始めるために、光沢が劣ったと考えられた。一方、三倍体は、浜揚げ時(12月～1月)に第3期があり真珠の成長は停止し光沢ができるが、それ以前に真珠層が厚く形成されているために直径が大きく、光沢のある真珠が得られたことが明らかになった。これらのことから、二倍体母貝においても、性成熟の遅い母貝が作られれば、三倍体と同質の真珠が得られると考えられた。

これまで性成熟が真珠の成長と光沢に関与することは知られていなかった。約30年前アコヤガイで、性成熟⁵⁾と真珠の成長⁶⁾が調査されており、真珠の成長は水温の影響を最も強く受けると報告されている⁶⁾。当時は、性成熟の第3期の出現が現在より半年遅い3月であったため、低水温と性成熟の双方が真珠形成に同時に作用したにもかかわらず、低水温のみが真珠の成長の制御因子および光沢の原因と解釈され、性成熟の関与が見落とされたと考えられた。なお、真珠の成長の制御因子に関する研究結果の詳細は、水産増殖学会誌に投稿中である。

8. おわりに

真珠産業においては、近年、真珠層の薄い真珠の出現率の増加が問題になっている。本研究によって、近年の貝は過去の貝に比べ性成熟が早まったため、浜揚げ時には真珠層が薄く光沢が乏しい真珠の出現率が増加したことが明らかになった。性成熟開始が早まった原因は不明であるが、厳しい状況にある真珠産業にとっては、早急に貝の性成熟を遅延させる方策を講じる必要がある。

また、三倍体を実験動物として利用するこ

とで、アコヤガイの真珠形成に関する生理代謝への生化学的アプローチが容易になり、真珠品質の向上に三倍体が大きく寄与することが期待される。

本研究は、地域バイオテクノロジー実用化技術研究開発促進事業として水産庁から研究費の補助を受けて行ったものである。記して感謝の意を表す。また、本研究にご指導、ご協力いただいた、水産庁養殖研究所 和田克彦部長、古丸明室長、愛媛大学農学部阿部俊之助助教授、松下真珠株式会社 松下明弘氏、平田智法氏に厚くお礼申し上げる。

文 献

- 1) Komaru, A., H. Matsuda, T. Yamakawa and K. T. Wada (1990) *Nippon Suisan Gakkaisi*, 56: 1419-1422
- 2) 内村祐之・平田智法・阿部俊之助 (1994) 水産増殖, 42: 447-452
- 3) 内村祐之・平田智法・阿部俊之助 (1995) 水産増殖, 43: 225-258
- 4) 古丸明・和田克彦 (1994) 水産増殖, 42: 541-546
- 5) 植本東彦 (1958) 国立真珠研究所報告, 4: 287-307
- 6) 和田浩爾 (1972) 国立真珠研究所報告, 16: 1949-2027

地域の先端研究

細胞融合によるナス青枯病・半枯病 抵抗性台木 'AD2' の育成

京都府農業総合研究所
稲葉幸司

ナス栽培では、草勢強化と土壌伝染性病害対策のために接ぎ木栽培が広く普及しているが、近年、従来の抵抗性台木を用いても青枯病等の土壌伝染性病害の被害を防ぎ切れない現状にある。そのため、細胞融合によるナス属の種間雑種の作出を試み、ナスとヒラナスとの間で電気細胞融合法により種間雑種を作出した。そして、その後代の中から青枯病および半枯病に抵抗性を持ち、ナス用台木として生産性に優れた台木品種'AD2'を育成した。

1. はじめに

ナスの主要な土壌伝染性病害には、青枯病、半身萎ちょう病、半枯病などがあり、特に西日本では青枯病の被害が大きい。これらの病害に対する抵抗性品種はまだ育成されておらず、抵抗性台木を用いて対処している。

青枯病菌 (*Pseudomonas solanacearum*) は、多犯性で変異に富んでおり、病原性が異なる多数のレースがあることが知られている。尾崎・木村 (1992) は、青枯病菌を4種類のナス属植物に対する病原性の相違から5つの菌群 (レース) に類別している。現在、すべ

ての菌群に抵抗性を示す台木はない。そのため、さらに強力なナス青枯病抵抗性台木の育成が求められている。

京都府では、夏秋ナスが約300ha栽培されており、果菜類では最も生産額が大きい作物である。主に'千両二号'が栽培され、台木には'トルバム・ビガー'が最も多く用いられ、次いで'ヒラナス'が多い、いずれの台木においても、青枯病の発生が見られている。

今後病害抵抗性育種を進めて行くためには、交雑できない種間でも雑種を得ることができ細胞融合技術が重要な育種技術になるものと期待されている。そこで、ナスの細胞融合技術を確立して種間雑種を作出し、得られた

INABA Koji

細胞融合雑種についてナス用台木としての検討を加えて新品種を育成した。

2. 細胞融合による種間雑種の作出

青枯病に抵抗性を持つフィリピン産の長ナス (*Solanum melongena* L. cv. 'Dingaras Multiple Purple') と日本で最も広く利用されているナス用台木 'ヒラナス' (*Solanum integrifolium* Poir. 通称 'アカナス') とを育種親とし、電気細胞融合法により種間雑種の作出を図った。

無菌植物の胚軸から 0.1% マセロザイム R10, 0.5% メイセラゼほかを含む酵素液 (25°C, 16時間静置) でプロトプラストを単離した。そして、W 5 液で 3 回洗浄後、0.4 M マニトール液で 2×10^5 個/ml に調整し、両種を等量混合した。細胞融合には、電気細胞融合装置 (島津 SSH-1) を用い、高周波 1 MHz, 300 V/cm, 直流パルス 2,500 V/cm, 20 μ s, 3 回印加の条件下で行った。

初代培地には、2,4-D 1mg/l, NAA 1mg/l, カイネチン 1mg/l, 0.4M マニトール, ショ糖 1% を含む 1/2MS 培地 (NH₄NO₃ のみ 200mg/l に修正) を用い、2~3 か月後に 2~3mm に成長したコロニーを再分化培地 (ゼアチン 1mg/l, IAA 0.1mg/l, ショ糖 3%, グライト 0.3% を含む MS 培地) に移植して不定芽を誘導し、植物体を再生させた。

融合実験によって得られた多数のコロニーの中から 1,264 個を再分化培地に置床したところ、159 個のカルスから植物体が再生した。再生体を鉢上げし、形態観察・染色体数調査 (2n=48)・アイソザイム分析 (6-PGDH) および DNA ハイブリダイゼーションにより

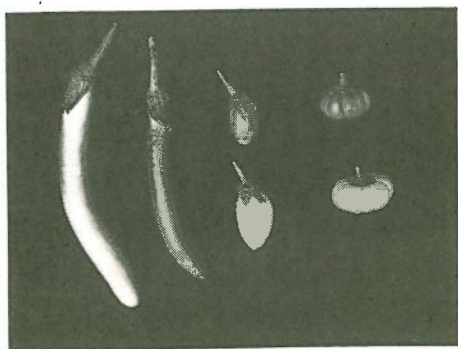


図1 長ナス (左), 'AD2' (中央), 'ヒラナス' (右) の果実

雑種性検定を行ったところ、7 個体の体細胞雑種が得られた。

得られた体細胞雑種 7 個体のうち 5 個体は、生育良好であり、正常な自殖種子が多数得られた。雑種個体は、両親と比較して旺盛な生育を示し、葉形、花形、果形 (図 1) は中間的な形態を示した。

3. 青枯病および半枯病に対する抵抗性

この細胞融合雑種 5 個体の後代について、青枯病および半枯病に対する抵抗性検定を行ったところ、系統間の差はほとんどなかった。

幼苗接種検定により青枯病に対する抵抗性を検討したところ、I~III 群菌に強い抵抗性を示し発病は見られなかったが、IV 群菌・V 群菌では 'ヒラナス' より強いもののがかなりの発病が見られた (表 1)。半枯病については、完全な抵抗性を示した。

表 1 接種検定による青枯病および半枯病の発病株率 (%)

台木 品 種	青 枯 病					半枯 病
	I 群菌	II 群菌	III 群菌	IV 群菌	V 群菌	
AD2	0	0	0	20	40	0
ヒラナス	0	0	29	33	51	0
アシスト	0	0	0	33	40	0
千両 2 号	100	100	86	93	95	100

青枯病の発病には、菌群の影響が非常に大きい。'AD2' 台木は、IV 群・V 群に属する青枯病菌では、菌株によってかなり発病することがあり、台木の利用にあたって発病地における菌群の事前検定が重要である。

4. ナス台木としての利用

ナス台木としての生産性について検討したところ、いずれの系統も穂木 '千両 2 号' との接ぎ木親和性は良く、接ぎ木ナスの生育は良好であった。接ぎ木ナスの収量は、系統によって差があり、最も収量性が高く果実の品質等も良好であった 'AD2' 系統を優良系統として選抜した。

'AD2' 台木は、'ヒラナス' と比較して、発芽は約 2 日遅れるが、初期生育は旺盛で、接ぎ木の活着は 'ヒラナス' と同程度に良く、育苗は容易である (表 2)。接ぎ木ナスの果実形状や収量性、上果率は 'ヒラナス' 台木、

表2 'AD2' と他の台木用品種との生育特性比較

台木用品種	果実当たり種子数	100粒重	7日目発芽率	播種60日後	
				草丈	莖径
AD2	個 70	mg 629	% 78	mm 85	mm 4.2
ヒラナス	524	304	88	75	4.6
アシスト	—	442	74	55	3.6

(注) アシストそれ自体からは種子は採れない。

の間でほとんど差はなかった。草勢が強く果形正常で着果良好な株を選んで採種することが重要である。

5. おわりに

今後さらにナスの青枯病抵抗性育種を進めるためには、新たな育種素材の導入を図るとともに、病原菌と作物との相互関係や病害抵抗性の発現機構等の解明、病害抵抗性遺伝子の単離など基礎的研究の蓄積が望まれる。

表3 接ぎ木ナスの収量および上果率

台木品種	1991年		1992年		1994年		収量比の3年平均
	収量(対比)	上果率	収量(対比)	上果率	収量(対比)	上果率	
AD2	kg/m ² (%) 6.8(96)	% 71	kg/m ² (%) 10.0(91)	% 71	kg/m ² (%) 9.3(104)	% 81	% 97
ヒラナス	7.1(対照)		11.0(対照)	72	8.9(対照)	78	100
アシスト	6.8(96)		10.1(92)	71	8.6(97)	80	95

(注) 露地栽培，穂木は千両2号。

'アシスト' 台木とほぼ同等である (表3)。

'AD2' 台木は、'ヒラナス' や 'アシスト' などを利用している全国のナス産地で、ナス用青枯病耐病性台木の1つとして利用できる。'アシスト' は、種間F₁ 品種であり、'AD2' は、'アシスト' と同じ組合せの体細胞種間雑種 (複2倍体) である。'アシスト' はそれ自体から種子は採れないが、'AD2' は安定して採種することができ、ナス台木としての生産力はほぼ同等であった。

細胞融合雑种植物の遺伝的安定性については、通常の2倍体植物と比べると不安定であるが、ナス台木としての生産力は、優良株を選んで採種すれば自殖第1代と自殖第3代と

文 献

- 1) 稲葉幸司ら (1990) 園芸学会雑誌, 59 別 2 : 282-283
- 2) 岡山健夫 (1994) 植物防疫, 48 : 405-408
- 3) 尾崎克己ら (1992) 中国農研報, 10 : 49-58
- 4) 尾崎克己 (1990) 植物防疫, 44 : 291-294
- 5) 尾崎克己 (1994) 農業及園芸, 69 : 183-188
- 6) 甲谷 潤ら (1994) 京都農研報, 16 : 43-47
- 7) 西尾 剛ら (1984) 野菜試報, A12 : 57-64
- 8) 西尾 剛ら (1989) 野菜・茶試報, A3 : 67-96
- 9) 西尾 剛 (1990) 野菜の組織・細胞培養と育種, 農業図書, p. 189-210

文献情報

似て非なるもの、
日本産シマアジは1種
類ではなかった

シマアジ, *Pseudocaranx dentex* は世界中の温, 熱帯海域に分布しており, 近年高級増養殖対象魚としてその経済的重要性が高まっている。山岡ら (日本水産学会誌, 58:39-44, 1992) は, 日本近海産のシマアジには脊椎骨数によって2つのタイプ (25個型, 24個型) が存在することを示し, さらに, 両者において, 15酵素および1非酵素タンパクの電気泳動分析を行い, Sorbitol dehydrogenase と Sarcoplasmic protein-4 で完全な遺伝子の置換を認め, 種レベルの違いを示唆するデータを得ている。

一方, 紹介文献の筆者らは, 上記2つのタイプについて, restriction enzyme fragment length polymorphisms (RFLP) の手法を応用することによって, 遺伝学的な解析を行うとともに, 生態学的情報も交えて考察を試みている。材料は, 九州東部海域 (大分) の沿岸および沖合い, 小笠原海域周辺の3か所で採集され, ソフトックスにて脊椎骨数を計数した後, 筋肉を材料として Mitochondrial DNA (mtDNA) を抽出した。PCR法により, mtDNAの16S-rRNAをコードしている領域の遺伝子を増幅させ, さらに, そのPCR産物について各種制限酵素を用いて酵素消化した。酵素処理後1.6%アガロースゲルで電気泳動し, そのパターンと脊椎骨数との相関を検討した。

その結果, 九州東部海域沿岸のサンプルの95%が25個型, 5%が24個型であった。また, 同沖合いのサンプルの80%が25個型, 25%が24個型であった。小笠原海域においては大部分の個体が24個型であった。RFLP法による遺伝的分析によると, 小笠原の24個型と九州東部の24個型はパターンが一致し, 九州東部の25個型とは異なるパターンであった。このデータからも24個型と25個型は別種の可能性が高いと推測され, 山岡らの見解を支持するものである。

また, 九州東部海域における24個型は沿岸部では5%にすぎない占有率であるのに対して, 沖合いでは20%に上昇する。このことは24個型は沖合いに生息するか, あるいは回遊する個体群であることが推測され, 25個型とはある程度棲み分けている可能性がある。また, 九州東部海域では24個型は4~11月の間でしかサンプリングされず, さらに, 90mm以下の個体は出現することはない。このことは24個型が九州東部海域以外で産卵し, 仔稚魚期を過ごした後この海域に出現することを示唆している。さらには, 小笠原海域のシマアジのほとんどが24個型のRFLPパターンを示すこと, 小笠原海域のシマアジの産卵期が12月~2月であることから考えると, 24個型は真冬の時期に小笠原海域周辺で産卵, 孵化し, 90mmのサイズになるころに九州東部海域に回遊してくるというライフサイクルが推測される。25個型の産卵場所, 時期についてはほとんど情報が無いが, 九州東部海域で獲れる最小サイズが12月の40mmであることとシマアジの成長から考えると, 25個型の産卵期は10月で産卵場所も比較的この近海である可能性が高い。

以上のように本報は両タイプの相違を形態学的のみならず集団遺伝学的手法を用いて裏付けし, さらには生態的側面からも別種の可能性を論じており興味深い。さらに増養殖の観点からみると, 24個型の方が25個型のものより成長がよいという事実は, これらの個体群を選別することによって効率のよい養殖事業を展開できる可能性が考えられる。さらには, 近年猛威を奮うイリドウィリスに対して, 両者の耐病性の違いを検討してみるのもおもしろい。

(抄訳 清木興介—マルハ株中央研)
(SEIKI Kohsuke)

Mitochondrial DNA differentiation between two sympatric morphs of striped jack near Japan

Masuda, R., T.Kamaishi, T. Kobayashi, K. Tsukamoto and K. Numachi
J. Fish Biol., 46:1003-1010 (1995)

文献情報

酵母の細胞間認識に
関与する
糖タンパク質

酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) は α と a という2つの接合型を持ち、ヘテロタリックな生活環を示す。これら2つの株を混合培養すると初めに agglutination (凝集) が生じ、その後接合子から二倍体融合細胞の形成へと生活環が進行する。agglutination は2つの細胞間で最初に生じる相互作用であり、これには agglutinin という糖タンパク質同士の結合が関与している。

agglutinin はそれぞれお互いのパートナーによって分泌されるフェロモンペプチドによってその発現が誘導される。 α -agglutinin は α -細胞によって特異的に生産され、AGA1 と呼ばれる遺伝子にコードされる、推定分子量約71kDaのタンパク質である。a-agglutinin との結合ドメインは、N末から259-331アミノ酸に存在していると予想されている。一方、a-agglutinin は AGA1 と AGA2 という別々の遺伝子にコードされた2つのタンパク質からなる。AGA1 は約73 kDa と推定されるタンパク質をコードし、また AGA2 は分子量約7.5kDa と予想されるタンパク質をコードしているが、このうち AGA2 から翻訳されるタンパク質が α -agglutinin との結合活性を持つ。 α -および a-agglutinin はどちらも高度にグルコシル化されているが、どちらの agglutinin の糖鎖も結合には必須ではない。

a-agglutinin の結合ドメインは以前から糖鎖のない中央付近に存在すると推定されていた。Cappellaro らは、a-agglutinin の37番目の Glu と42番目の Lys が、 α -agglutinin の結合ドメインの中でその結合活性に必須と推定される273番目の His およびその周囲の Glu とイオンペアを形成すると仮定し、a-agglutinin の Glu と Lys を Gln に置き換えたミュータントを作製した。しかし、このミ

ュータントは結合活性に何の変化も示さなかったことから、新たに結合領域を推定するために、臭化シアン、V8プロテアーゼ、トリプシンそれぞれの処理によって得られたペプチド断片について検討を行った。これらは混合したままの場合ほとんど完全な活性を示した。このうち V8プロテアーゼ処理後 HPLC カラムで精製して得られた、C末から30アミノ酸のペプチドはほぼ完全な活性を持っていた。さらにこのペプチドとオーバーラップするような合成ペプチドを用いて詳細に検討したところ、C末側を含むものはわずか10アミノ酸でも活性を示したが、この領域を含まないものは全く活性を示さないことが判明した。しかし活性を示した合成ペプチドでも、intact または V8プロテアーゼ処理によって得られたものと比べて1/4~1/5の活性しか示さなかった。そのため、大腸菌で発現させたC末を含むタンパク質で検討を行ったところ、このペプチドの活性は合成ペプチドの活性と変わらなかった。以上より、a-agglutinin の活性ドメインはC末から10アミノ酸の中に存在し、糖鎖の有無が活性に関与していることが示唆された。

2種類の agglutinin 同士で結合を行なう場合、それぞれの結合ドメインが細胞外に露出している必要がある。a-細胞をメルカプトエタノールあるいはジチオスレイトール入りの培地上で培養すると、agglutination する能力が失われることから a-agglutinin はジスルフィド結合で細胞外に露出している可能性が示された。そこで筆者らは、AGA2タンパク質の a-agglutinin に2か所存在する Cys を Ser に変えたミュータントを作製して検討を行った。どちらか一方の Cys を変異させるだけでは a-agglutinin は局在性、結合活性とともに変化がみられなかったが、両方を変異させた場合、a-agglutinin は細胞壁に結合する能力を失って全て培地に放出され、agglutination する能力も失った。この結果から、AGA2 から発現した a-agglutinin は細胞外の構造物にジスルフィド結合によって結合していると考えられ、この

細胞外構造物が AGAI から発現したものである可能性が示唆された。

α -agglutinin の場合 GPI アンカーと結合して細胞膜に存在している可能性が示唆されていた。その場合結合ドメインを細胞外に露出するために細胞壁を貫通していると考えられるが、細胞外の他の構造物と結合している可能性も否定されていない。そこでイムノゴールド法を用いて電子顕微鏡による観察を行いその存在様式を検討した。シグナルは細胞壁には全くみられなかったが、細胞壁外に露出したマンノプロテインからなるフィムブリエの先端に観察されたことから、 α -agglutinin は GPI アンカーからグルコシルトランスフェラーゼによって細胞外の他のコンポーネントと結合する可能性を支持する結果となった。

さらに筆者らは、agglutinin と相同性があると報告されていたイムノグロブリンスーパーファミリーを含む高等真核生物の細胞間接着分子との相同性に関して検討を行った。これにより筆者らは Ig3ドメインの結合部位に保存されている四つのアミノ酸配列が α -agglutinin には存在しないことからこれらの相同性を疑問視している。一方 *Dictyostelium* の細胞間結合タンパク質である csA=GP80 の結合ドメインが agglutinin の結合ドメインと高い相関を示したことから、筆者らは *S.cerevisiae* のヘテロタリックなシステムは *Dictyostelium* のホモタリックなシステムから進化したものだという大胆な仮説をたてている。

(抄訳 佐々木厚子—東北大)

(SASAKI Atsuko)

Mating type-specific cell-cell recognition of *Saccharomyces cerevisiae*: cell wall attachment and active site of α - and α -agglutinin

Cappellaro C., C. Baldermann, R. Rachel and W. Tanner

EMBO J. 13: 4737-4744, 1994

文献情報

Nod factor lipo-chito-origosaccharide のタバコプロトプラストに対する影響

Nod factor である Lipo-chitoorigosaccharides (LCOs) は根粒菌がマメ科植物に根粒を造るとき、初期の段階に分泌されることが知られている。その基本構造は非還元型の glucosamine に様々な脂肪酸で N-アシル化された, tetra-もしくは pentasacchride を含む β -1, 4 N-acetylglucosamine である。マメ科植物では, LCOs は植物の細胞周期の制御に影響を与え, 細胞分裂を開始し, 根粒の形成を起こすと考えられている。このようなことから, LCOs は植物の成長調節に何らかの役割を果たしている可能性もあり, またマメ科以外の植物でも, このような伝達分子が関与するメカニズムをもっているかもしれない。そこで, 著者らは LCOs を合成し, タバコのプロトプラストへ与えてやることでタバコのプロトプラストの細胞分裂への影響, 合成 LCOs と植物ホルモンとの関係を調べた。

まず, 非還元型 N-acetylglucosamine のアセチル基を NodB タンパク質 (chitoorigosaccharide deacetylase) で除いた後, 化学反応によってフリーのアミノ基に脂肪酸をつなげた。この操作によって, 飽和 C_{18} 脂肪酸や様々なモノ不飽和脂肪酸をもつ LCOs を合成した。

次に合成した LCOs を用いて, 野生型のタバコの葉肉プロトプラストの反応を調べた。オーキシンはサイトカイニンの存在下で, μ M の濃度で細胞分裂を促進するが, 合成 LCOs はサイトカイニンの存在下で nM ~ fM の濃度でオーキシンの無関係にプロトプラストの分裂が見られた。モノ不飽和脂肪酸で二重結合をトランス (E) の配位にもつ LCOs は 10^{-15} M の低い濃度でも細胞の分裂を活性化した。一方, オーキシンの存在下では, $C_{18:1}$ トランス-脂肪酸 (9E or 11E) をもつ LCOs はサイトカイニンの欠如下で, 10^{-13} M の濃度で細胞分裂をおこすことができ, 他の LCOs では 10^{-10} M で細胞分裂をおこした。つまり, LCOs はタバコ細胞の成長

に関してサイトカイニンの代わりになることが判明した。なお、C_{18:1}トランス-脂肪酸はオーキシシンとサイトカイニンの欠如下で10⁻¹³Mの濃度において、タバコプロトプラストの分裂を活性化した。このようにLCOsを培地に加えることで、植物ホルモンの役割をおぎなうことができた。

合成LCOsが植物ホルモンに代わることができるかをさらに調べるため、植物ホルモンによって誘導される遺伝子の発現を調べた。まず、CaMV35SプロモーターにGUS遺伝子を結合させて、オーキシシンによって誘導されるGUSの発現を調べたところ、 μ Mの濃度のオーキシシンとpMの濃度のC_{18:1}トランス-脂肪酸で発現された。また、オーキシシンとサイトカイニンに反応する*axi1*遺伝子の発現を調べたところ、上記と同様にオーキシシンとC_{18:1}トランス-脂肪酸において*axi1*の発現が認められた。

以上のことから、LCOsは明らかにオーキシシンの作用を媒介するタバコ遺伝子の発現を活性化している点で、オーキシシンと類似した働きをしており、オーキシシンによって引き起こされるプロトプラストの有糸分裂はLCOsによって活性化される細胞分裂とシグナル伝達の経路を共有していることが示唆された。少なくとも、マメ科植物における根粒の形成に必要なメカニズムの一部がマメ科植物以外の植物にも存在しているのかもしれない。

(抄訳 桂 幸次—東北農)

(KATSURA Kouji)

Growth of tobacco protoplasts stimulated by synthetic lipo-chitoorigosaccharides

Röhrig, H., J. Schmidt, R. Walden, I. Czaja, E. Miklasevics, U. Wieneke, J. Schell and M. John

Science, 269: 841-843 (1995)

文献情報

アフラトキシン生合成に関与する遺伝子群の構造解析：染色体中で遺伝子が生合成経路の順番に並んでいる？

アフラトキシンは *Aspergillus flavus* や *A. parasiticus* が生産する発ガン性を有するマ

イコトキシシン(カビ毒)で、1960年代にこれらのカビに汚染された穀物飼料により家禽に大被害が発生したことからその存在が知られ、またヒトに対しても肝ガンの原因になりうると考えられている物質である。ピーナッツ、トウモロコシやコメなどの穀物は収穫前後から貯蔵中にかけてこの生産菌に汚染されやすいため、アフラトキシシンが含まれる可能性があり、健康上大きな問題を引き起こすことになる。そのため、アフラトキシシン生産菌の汚染防止に多大な努力が払われているのが現状である。一方、生産菌におけるアフラトキシシン生合成経路に関する生化学的・遺伝学的な研究も精力的に行われており、特に1990年代になってカビでも遺伝子工学的な手法が一般的に利用されるようになって、アフラトキシシン生合成に関して分子レベルでの解析が急速に進展してきた。

アフラトキシシンの生合成系は、酢酸が縮合しpolyketideを経てnorsolorinic acid (NA)が生成され、その後少なくとも16個の酵素の関与によってアフラトキシシンが合成されるという非常に複雑な経路をとっている。これらの生合成に関与する遺伝子のクローニングがここ数年の間に急速に進められた結果、アフラトキシシン生産に関与する遺伝子が一本の染色体の少なくとも約60kbという短い領域内にクラスターを形成して存在しており、それも生合成経路の順序に従って並んでいるという興味深い事実が判明してきた。

当初アフラトキシシン生合成に関わる遺伝子は、コスミドライブラリーを用いて非生産性変異株を生産性に変えるDNA断片としてクローニングされたが、はじめに得られたコスミドクローンに生合成に関与する遺伝子が1個だけでなくいくつか存在していることが明らかとなり、アフラトキシシンの生合成系遺伝子がクラスターを形成しているのではないかと考えられた。そこで、*A. parasiticus*においてどのくらいの数の遺伝子がクラスターを形成しているかを調べる目的で、クローン化されている35kbのDNA断片をおおよそ12分画したものをプローブに用い、ノーザンプロットによって転写産物であるmRNAの検出を行った。その結果、サイズと存在部位

及び発現パターンから別々のものと考えられる転写産物が14個認められた。このうち、4個については、すでにクローン化された既知の遺伝子 (*nor-1*, *uvm8*, *aflR*, *ver-1*) のものであり、それ以外の10個中8個については *nor-1*, *uvm8* 及び *ver-1* と同様の発現パターンを示した。すなわち、2次代謝産物の生産に関与する遺伝子群の特徴である増殖期の後期から定常期にかけて発現し、この時期にアフラトキシンの生成も始まる。しかし、これだけの結果からこの8個が新たなアフラトキシシン生合成系の遺伝子に由来するものとはいえないので、この中で7kbと最もサイズの大きい転写産物とハイブリダイズするDNA断片を用いて、アフラトキシシンの生合成過程の中間体である versicolorin A (VA) を蓄積する *A. parasiticus* の遺伝子破壊実験を行ってその影響を調べた。遺伝子破壊した株はVAを全く蓄積せず、当然のことながらアフラトキシシンも生産しなかったことから、この遺伝子はアフラトキシシン生合成の前半の過程に関与していることが示唆された。さらに本遺伝子 (*gene-1*) をクローニングしてその塩基配列から推定されるタンパク質のアミノ酸配列についてホモロジーを調べたところ、*A. nidulans* の polyketide synthase (PKS) と高いホモロジーが認められ、また放線菌のPKSともホモロジーが認められた。このことから *gene-1* はアフラトキシシン生合成の初期ステップであるNA前駆体の polyketide の生成過程に関与しているものと考えられた。この遺伝子はコスミドクローンの35kb断片の最も左端にあり、そのすぐ下流(右側)にNAから averantin (AVN) を合成する遺伝子 *nor-1* が位置している。さらに、chromosome walking によって35kb断片の右端 (*gene-1* の反対側) から下流の20数kb内に3個の生合成に関わる遺伝子が存在することが明らかにされ、そのうちの最も下流にある遺伝子 (*omtA*) はアフラトキシシン生合成の最終ステップの1段階前の酵素をコードしていた。また、*nor-1* から *omtA* までの間で、VAから sterigmatocystin (ST) へ変換する酵素遺伝子 (*ver-1*) とアフラトキシシンの

生成をポジティブに制御する調節遺伝子 (*aflR*) のほかに、生合成の後半過程に関与していると考えられる遺伝子が4~5個すでにクローン化されている。これらの遺伝子がAVNからVAまでの6段階の反応に関与しているとすれば、アフラトキシシン生産に関与する多くの酵素遺伝子がほぼその合成の順番に秩序だてて並んでいることになり、その生物学的意義に大きな興味を持たれる。

なお、今回の文献とは別になるが、アフラトキシシン生産菌である *A. flavus* や *A. parasiticus* はわが国の醸造食品の製造に古くから利用されている麹菌 (*A. oryzae*, *A. sojae*) に極めて近縁のカビであり、アフラトキシシンの問題が発生した当時、麹菌のアフラトキシシン生産性に強い疑念がもたれた。しかし、わが国の研究者の多大な努力により、麹菌は全くアフラトキシシンを生産しないことが証明され、安全性が確かめられている。ただ、染色体DNAレベルで *A. oryzae* と *A. flavus* で100%、また *A. sojae* と *A. parasiticus* では90%以上のホモロジーがあるとされ、なぜ麹菌がアフラトキシシンを生産しないのかも非常に興味ある問題であった。この点に関して、アメリカとイギリスのグループにより、*A. oryzae* では生合成に必要な遺伝子の少なくとも1個が欠けていること、また転写産物としても検出されないものがあることなどが、つい最近の学会で報告されており、麹菌のアフラトキシシン非生産性が遺伝子レベルで証明されてきていることをつけ加えておきたい。

(抄訳 五味勝也一醸造研究所)

(GOMI Katsuya)

Physical and transcriptional map of an aflatoxin gene cluster in *Aspergillus parasiticus* and functional disruption of a gene involved early in the aflatoxin pathway

Trail, F., N. Mahanti, M. Rarick, R. Mehigh, S.-H. Liang, R. Zhou and J. E. Linz
Appl. Environ. Microbiol. 61: 2665-2673
(1995)

海外便り

アメリカにおけるバイオマス資源高度 利用技術に関する研究開発の動向調査

農林水産省 食品総合研究所

野口明德

平成7年1月29日～2月11日の14日間にわたって、佐々木堯氏（前農研センター、現食品総合研究所）をリーダーとして、山川理氏（九州農試）、阿部知行氏（前技術会議事務局、現函館営林支局）らと共に、バイオマス変換利用を進めているアメリカの代表的な研究所、ハワイ大学ハワイ自然エネルギー研究所（HNER：ホノルル）、西部地区研究センター（WRRC：サンフランシスコ、農務省）、国立再生エネルギー研究所（NREL：デンバー、エネルギー省）、東部地区研究センター（ERRC：フィラデルフィア、農務省）、国立農産物利用研究センター（UCAUR：ペオリア、農務省）を視察した。この動向調査の主目的は、同国における農林水産物の非食料的利用、すなわちエネルギーへの変換利用、高付加価値化への変換など工業的利用に関する研究開発の現状を把握し、我が国での類似研究開発に資するところにある。アメリカ農務省の一局である農業研究部（ARS）は、研究戦略として農産物の高付加価値化あるいは工業利用を明確に打ち出しており、ARSに所属するのは今回の調査に含まれていない南部地区研究センター（SRRC）を加えて東西南北地区の4機関となる。いずれもポストハーベスト分野の研究を主体にしており、6～10人のチーム制またはユニット制からなる各約100名の研究者を抱えている。したがって、4機関でポストハーベスト分野の研究者は計約400名となる。12,000件以上の情報を持つアクセスが自由なTEKTRAN（研究情報データベース）が構

築されており、科学技術移転調整官を設けて研究成果の普及・実用化に務めている。

農林水産物の工業利用の背景にはエネルギー問題がある。アメリカの貿易収支に最も大きな影響を与えるのは輸入原油であり、1995年での原油輸入赤字は660億ドルに達すると推定されている。消費石油の約半分は輸入原油に頼って、その割合は増え続けており、このままでは2020年には消費石油の74%が輸入に頼ることになり、赤字は1730億ドルに達すると推定されている。一方で交通関係のエネルギーは97%が石油に依存しており、したがって、エネルギー資源の確保は国家的問題となる。国内石油資源は限られており、既存の石油資源は世界的に見て品質が悪化しつつあって関連コストの上昇を招いている。さらに交通機関による排気ガスから推定で一酸化炭素の82%、窒素酸化物の57%、反応性有機ガス類の43%が産生され、大きな環境問題となっている。再生可能なバイオマスエネルギーはエネルギー確保、国家安全、環境等の問題に対して期待しうる解決策であり、農業、林業、工業、燃料生産関連企業、燃料輸送関連企業などで新たな就労機会を作り出すものと期待でき、さらには、海外でのバイオマスエネルギー利用に対して新たな輸出産業を作成することになる。このように国家安全、輸出入経済の健全化、環境問題の軽減、農業の活性化、新たな産業および就労機会の創出が期待できることから、基本戦略としては、④バイオマスエネルギー関連技術の開発、⑧バイオマスエネルギー用農林産物の選定・生産、⑨関係省庁横断の連携確立、⑩補助金等による利用促進が挙げられる。ここで追い風とし

NOGUCHI Akinori

て作用するのは、連邦・州政府の環境規制と消費者の環境問題への意識向上から農産物工業利用を受け入れる社会的な流れである。

実際、農産物を原料として開発された工業・日用品には、20州の計40以上の工場で生産されているアルコール、各種接着剤、生分解性ポリマー、洗剤、ペンキ、化粧品、医薬品、インキなどが挙げられる。たとえば、エタノールはガソリンに10%の割合で混合しgasoholの名称で利用されており、このエタノールブレンドの燃料市場が展開している州は、浸透度46%のネブラスカ、37%のイリノイを筆頭に他の多くの州にわたっており、全米平均の浸透度は7.6%である。これによって、1994年の農業収入増加分は7億5千万ドル、原油輸入減少分は4,200万バレルと見積もられている。バイオマスエネルギーはエタノールのみではなく、メタノール、それからの誘導体、植物油を主原料とするバイオディーゼル、 H_2 などを含んでおり、下表に示す実用化計画が策定されている。

バイオマスエネルギーの原料としては、大量に生産されている既存の農作物以外に、様々なエネルギー作物、都市廃棄物などが想定されている。ここでは既存の農作物で代表的なトウモロコシと大豆について、その消費動向に注目してみたい。トウモロコシはAgricultural Outlook/Dec. 1994によれば1994-1995年の生産量として、国内用は71.85

億bu（全生産量の71.78%）であり、その内訳はIndustrial Uses of Agricultural Materials (Situation and Outlook Report) Dec. 1994によれば、工業用が7.48億buでその内、燃料アルコール用5.35億bu、澱粉工業用2.13億bu、食品用0.38億bu、グルコース&デキストロース用2.25億bu、高フルクトースコーンシロップ用4.55億buであり、輸出用は16.25億bu（全生産量の16.23%）となっている。一方、大豆は国内用14.72億bu（58.34%）、輸出用7.70億bu（30.52%）である。トウモロコシ、大豆を主原料とするバイオマスエネルギーは先述のようにエタノールとディーゼル油（バイオディーゼルと呼ばれる）であり、それらの特徴、製法等の概略を次頁以下にまとめてみた。

エネルギー以外の分野で実用化された植物油製品として、第一に取り上げてみたいのは先述の大豆インクである。研究の発端は、NCAURにおいて1987年に開始され、色素（黒色）を分散する液媒部分に改質大豆油を使用している。従来インクに比べて生産コストは約15%上昇するが、印刷品質と印刷速度の向上、インク消費量の低減が可能であるため、全体としてコスト上昇を穴埋めできることが判明している。研究改良の結果、黒色以外に他の色素（青、赤、黄）も使用可能で、従来品と価格的にも対抗できる状態に至っている。インク特性として、生分解性は最新の

年次	バイオ燃料	市場への展開
1994~2000	酸化剤 オクタン誘導体 燃料増量剤 バイオディーゼル* 発電	一般乗用車、小型車 乗り合いバス 1990CAAA：粒子状物質25%低減要求対応
2000~2010	エタノール メタノール バイオディーゼル* 発電	各種乗用車 電気および複合自動車（各種燃料対応） 交通全般でのバイオ燃料拡大利用
2010~2030	エタノール メタノール バイオディーゼル* 発電 H_2 **	各種乗用車 電気および複合自動車（各種燃料対応） 大型、中型、小型自動車全般への利用 燃料電池自動車

* バイオディーゼル：原料は陸上生産物を意味し、海洋資源を対象としていない。

** H_2 ：エタノール、メタノールを原料として生産する。

その狙いは生産者収入を改善し、国際取引の拡大と政府農業関連予算の低減につながる、「生産」と「加工利用」の研究バランスを確立する点にある。

WRRCの研究方針の重点は、食品の安全性と品質、植物育種とその利用、農業と環境にある。6ユニットから構成され、バイオマス資源工業利用に直結する課題は次の二課題である。

1. 「穀類利用研究：Cereal Product Utilization Research」ユニット
穀類澱粉を利用したプラスチック素材の開発……膨化澱粉緩衝材の開発
2. 「バイオテクノロジー研究：Process Biotechnology Research」ユニット
微生物生産型多糖類の食品および工業利用

ERRCの研究方針の重点はWRRCと同じであり、7ユニットから構成され、以下の関連二課題がある。

1. 「科学技術研究：Engineering Science Research」ユニット
バイオ燃料および副産物の研究……主にトウモロコシ澱粉からのエタノール生産
2. 「植物科学および工学研究：Plant Science & Technology Research」ユニット
生分解性フィルムの開発研究……主にペクチンのネットワークに α 化澱粉を混入させた可溶性、親水性フィルムの開発

NCAURの研究方針の重点は、農産物およびその副産物を利用した環境に適合する高付加価値生産物の開発、天然合成系と関連遺伝子を用いた有用成分の開発、USA農産物の競争力向上、食品の安全性にある。研究分野の主眼は、食品素材開発、安全性・健全性、遺伝子工学、安全性・健全性に関する試験方法の確立、動物科学（ベルツビル）などで、11ユニットから構成され、以下の関連4課題がある。

1. 「生体高分子研究：Biopolymer

Research」ユニット

澱粉含有生分解性プラスチックの分解機構の研究

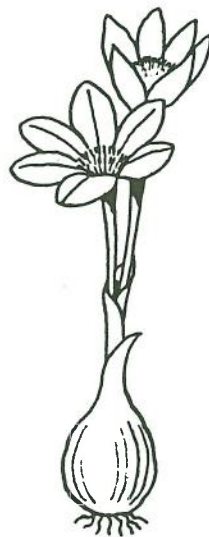
2. 「発酵生化学研究：Fermentation Biochemistry Research」ユニット
発酵技術によるエタノール生産性向上に関する研究……エタノールは燃料利用
3. 「食品物理化学研究：Food Physical Chemistry Research」ユニット
澱粉加工による有用素材の開発…殺虫剤、製紙関係、膨化ウレタン様素材など
4. 「新作物研究：New Crops Research」ユニット
Meadowfoam, Lesquerella, Vernonia, Jojoba等の活用に関する研究……高性能潤滑剤、化粧品素材、特殊ダイエット食材など

限られた日時の関係で訪問できなかったSRRCの詳細は不明であるが、農務省発行の50年記念資料（Always Something New—A Cavalcade of Scientific Discovery）によれば、研究方針の重点は、綿類の高度利用・加工研究および海軍軍需品（針葉樹、松から採れるテレピン油、ピッチ、ロジン）の研究である。今後の研究展開の一つに、過剰生産気味の動物油脂、バター脂、大豆油、脱脂乾燥ミルク、米等から新規の素材を開発する研究、食品中の各種芳香成分に関する研究、工場排水中に含まれる有害成分除去機能を持つ過剰農産物由来の高付加価値製品の開発研究などとなっている。一方、エネルギー省に所属するNRELの基本方針は、再生可能エネルギー技術の開発、エネルギー効率改善技術の開発、関連科学技術の開発と民間利用促進を通じて、エネルギーの安全供給、化石燃料利用の効率化、US企業競争力の強化、雇用機会の増加、環境保護にある。研究分野で見ると基礎科学、工業技術、省エネ建築、代替燃料、風力発電、光電池の7研究部門に分類され、バイオマス資源のエネルギー・工業利用の分野では工業技術部門が中心となる。研

究プロジェクトの内容から該当するものに、熱化学方式によるバイオ燃料計画、バイオマスパワー計画およびバイオマス資源が挙げられる。

紙面の都合で一部に偏重し尻切れトンボの感があるが、ポストハーベスト研究分野の一人として学ぶべきは、徹底したニーズの確認とそれに連結し得るように十分に吟味された

研究計画、経済性の問題を認識しながらも確固とした長期的で高い視点であり、感心するのは、省庁各機関の横断的研究開発テーマの存在とそれぞれの分野が競合ではなく、互いに活性化し得る状態にあることである。様々な研究成果に学ぶところが多く、研究開発策定に当たっては計画吟味、その成功には研究領域の複合・調整の重要性を痛感した。



イヌサフラン

国際学会レポート

水稲の直播栽培—第2回アジア作物 学会議シンポジウムレポート

農林水産省 中国農業試験場

山内 稔

1. はじめに

1995年8月21日から23日まで福井県立大学において第2回アジア作物学会議が開催された。参加者数は約600人であり、研究発表は八つのシンポジウムとポスターセッション(発表数261)にて行われた。

生研機構との共催により実施されたシンポジウム「水稲の直播栽培」は、米がアジアでは最も主要な農産物であることのみならず、その栽培法が省力的であり、多くの参加者の興味を引いた。アジアでは、マレーシア、フィリピン、タイおよびベトナムで広く直播が実施されている。一方、韓国と日本では移植から直播への転換の必要性が強く指摘されており、政府の主導のもとに盛んに研究が実施されている。栽培法は多種多様である。播種法では、ばらまきと条播がある。代掻きした水田への直播には、湛水ばらまき直播(湛水状態で土壌表面に催芽種子を播く)、潤土直播(落水後催芽種子を土壌表面に播く)、および湛水土壌中直播(酸素供給材カルパーで被覆した催芽種子を土壌中1~2cmの深さに播く)がある。乾田直播も実施されており、この場合は土壌中1~3cmの深さに未発芽の種子を播く。主要な問題は湛水・潤土直播では苗立ちの不安定さと倒伏、乾田直播では雑草害である。次に示す8研究課題が発表された後、総合討論において今後直播栽培を導入するに当たって何が必要かが話し合われた。

2. 直播の普及と技術開発の状況に関する報告

「韓国における直播研究の現状と今後の方向」(National Yeongnam Agricultural

Experimental Station, Yun-Jin Oh氏)

乾田耕起直播の実施に当っては数条おきに溝を切り、そこへ水を導入し、播いた種子が嫌気状態に陥らないようにした結果、苗立ちが安定した。潤土直播においては代掻き後土壌がある程度固まった後に幅数センチの溝を切り、溝の中の土壌の表面に催芽種子を播き、植物体の基部を低く保つことにより倒伏を防ぐ方法が考案された。湛水ばらまき直播は雑草管理に優れているが、倒伏が多く、それに抵抗性を持った品種を開発する必要がある。

「岡山県における直播栽培の現状と問題」 (岡山県立農業試験場 富久保男氏)

直播は日本の水稲栽培面積の1%以下をしめるにすぎないが、そのうち約半分は岡山県において乾田耕起直播で実施されている。移植が人力で行われていた1960年代には直播は省力の面で多くのメリットがあったが、機械移植の普及にともなってその優位性が失われてきた。また兼業農家は土日のみ農作業を行うため、天候によって影響を受ける直播の魅力は低くなってきた。しかし水稲栽培の規模拡大において省力化のためには直播の導入は不可欠であるという立場から、天候の影響をあまり受けない乾田不耕起直播の導入を図っている。

「マレーシアにおける水稲の直播栽培」 (Malaysian Agriculture Research and Development Institute, Ah W. Cheong氏)

マレーシアでは1970年代に直播栽培が導入され、現在では移植栽培は殆ど見られない。直播は潤土直播および乾田耕起直播で行われている。後者では水の必要量が少ないという

YAMAUCHI Minoru

メリットがある。湛水ばらまき直播では安定した苗立ちが得られない。直播導入後15年以上たった今、雑草稲 (Weedy rice) の出現、倒伏および収量の低下という問題が顕在化しつつある。特に収量の低下は農家が稲作で収益を確保する上で大きな問題となっている。

3. 直播栽培における稲の生育と収量に関する報告

「乾田直播水稻の生理生態学的特性の分析」(韓国 Chungbuk National University, Yong-Ki Kim 氏)

直播と機械移植水稻の生育ステージを追って、光合成速度や葉面積を測定し、成長解析を行った。直播による収量は機械移植に比べて大きい傾向が見られ、これは穂数の増大に起因していた。

「短期および中期登熟水稻品種の直播と移植栽培における収量の違い」(フィリピン, International Rice Research Institute (IRRI), R.C. Chaudhari 氏)

60品種を直播と移植栽培し、雨期と乾期における収量を比較した。雨期においては収量に差はなかったが、乾期においては移植が直播に勝った。

4. 発芽過程の研究報告

「湛水土壤中における種子の発芽と土壌の相互作用」(信州大学 萩原素之氏)

湛水土壤中直播技術におけるカルパー被覆効果のメカニズムを解明した。発芽中の種子は代謝産物を放出し種子の周りが還元されるが、カルパー被覆により酸化状態に保たれ苗立ちが安定化する。

5. 新技術の報告

次の2報であるが、いずれも IRRI と国際農林水産業研究センター (JIRCAS) の共同研究に基づく報告である。

「熱帯における水稻の嫌気土壤中直播技術の開発」(中国農業試験場 山内稔)

熱帯の直播栽培は日本では潤土直播と呼ばれているものであり、水田を代播きした2～3日後に催芽種子を土壌表面にばらまく。

そのため種子は鳥やネズミの害にさらされるのみでなく、強い日差しのため乾燥したり逆に強雨にたたかれ流されたりし、苗立ちは不安定である。そこで苗立ちを安定化させるために種子を嫌気的な土壌中に播く技術を開発した。一般に嫌気的な土壌中に播種すると苗立ちは不安定になるのでカルパー被覆をするが、費用と手間がかさむため、この点を遺伝資源の利用と栽培技術の改良により克服している。約2300品種の稲品種を検索し、その中から嫌気土壌中からの苗立ちの強い品種を見だし、それを代播き直後の土壌が柔らかいときにばらまいたり、すじ播き機を使用して種子を土壌中に播種している。本法の長所は低コスト技術であること、短所は品種開発が必要なことである。本播種法によりフィリピン (図1)、ベトナムおよびミャンマーで安



図1 嫌気土壌中直播における苗立ちの稲品種間差

対照品種 (右) は34%、嫌気土壌中からの苗立ちの優れた品種 (左) は54%の苗立ちを示した。苗立ちのよい品種は一般に雑草競争性が強く、除草剤の使用量を減らし得る。1993年乾期、フィリピン国立稲研究所の試験圃場で、IRRIとJIRCASの共同研究の一部。

定した苗立ちが得られ、移植で得られると同じ高収量となっている。この播種法は英語で Anaerobic seeding (嫌気土壌中播種) と命名されている。

「異なった水管理と耕起条件下において嫌気土壌中直播栽培された水稻の生育と収量」(IRRI, P.P. Publico 氏)

嫌気土壌中からの苗立ちの優れた品種は雑草競争性が強いこと、また倒伏抵抗性が高いことを水管理、耕起条件および雑草管理を様々に変えた大規模の圃場試験で実証した。

高い倒伏抵抗性は雑草の発生が抑えられたことに起因したと考察している。

IRRI と JIRCAS の共同研究の成果は、カルパーや除草剤を使用せずに安定した苗立ちが得られ雑草管理もでき、また高収量も達成できることを示しており、省資材・環境保全型の水稲直播栽培技術の開発が可能であることを実証している。

6. 総合討論

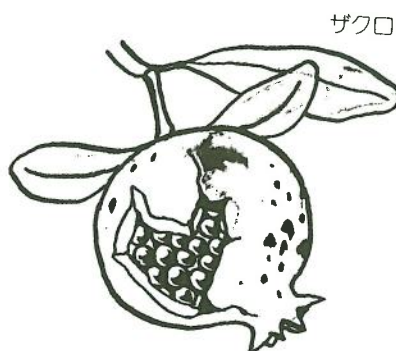
イタリアの研究者から水稲の栽培法が移植から直播に転換するには多くの要因が絡んでいること、またこれらの要因はそれぞれの国によって違っていることが指摘された後、イタリアの例が参考として述べられた。イタリアでは人手不足が起因となり移植から直播へ栽培法が転換し、これに伴い収量が低下した。しかしこの低下は、その後の栽培技術の向上と直播に適した品種の開発により克服された。また同時に栽培規模が拡大され、移植栽培時には農家あたりの平均圃場面積が6haであったが直播に転換した後は36haとなった。

このイタリアの例に対してマレーシアの研

究者は、アジア人は土地問題に対して過敏であるので栽培規模拡大には困難が伴うであろうと述べ、そして今緊急に必要なのは直播に適した品種の開発であろうと提案した。

日本人研究者より、インディカ稲は発芽中に抗菌物質を生成していること、またジャポニカ稲はそれを生成しないという最新の知見が述べられ、直播に適した品種を開発するに当たっては、このような特性を導入したらどうかという提案があった。

水稲の直播栽培技術の開発には多くの専門分野（社会経済、農業機械、遺伝育種、作物、土壌、種子生理学等）が関係している。またその技術には地域差があり、熱帯と温帯では明らかに異なっているであろうし、同じ国内であっても違いがあると思われる。経済発展の著しいアジア各国においては、直播の導入により省力化を図ることは不可欠であり、今後学際的研究や試験研究機関間の共同研究を通じて技術開発のさらなる効率化を目指す必要がある。



編集後記

日本のお家芸である真珠産業が、海外の安い真珠に脅かされていると聞いています。真珠改良の現状を知るため、平成4年11月真珠生産日本一の愛媛県の中予水産試験場を訪問しました。バイテックによる三倍体真珠育成の話の伺い、早速本誌に記事をお願いしたのですが、まだ研究段階で、もう少し待ってほし

いとのことでした。以来机の上にメモを置いて朗報を待っていました。今回念願叶って内村さんから立派な研究成果について執筆していただきました。バイテック真珠が養殖産業の助っ人になるとともに、ご婦人方を一層美しく引き立ててくれるものと期待しています。
(大畑記)

お詫びと訂正

前号(51号)の1頁の表題 枠内の著者名
小川真(誤)は小川眞(正)でした。お詫びして訂正します。

ブレインテクノニュース(第52号)

平成7年11月15日発行

発行者 浜口義曠

発行所 生物系特定産業技術研究推進機構

〒105 東京都港区虎ノ門3丁目18番19号 虎ノ門マリンビル10F
TEL. 03-3459-6565 FAX. 03-3459-6566

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. 03-3667-8931 FAX. 03-3667-8933