

CODEN : BTEEEC

TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

第 61 号

BRAIN
Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

MAY 15, 1997



性判別（雄）した和牛の胚をホルスタインに移植し，予定どおり雄の仔を得た
（本文12ページ参照）

発行＝生物系特定産業技術研究推進機構

総 説

中村吉宏

進化分子工学の新展開…………… 1

国内情報

伊藤文雄・山田 強

牛・豚の臓器から食品素材および医薬品素材を…………… 5

水野俊博

果物の非破壊品質測定装置の開発

——透過型オンライン測定システム——…………… 8

須藤鎮世

ウシ受精卵の雌雄判別技術……………12

岡田孝夫

タンパク質を用いた DNA 塩基配列解析法……………15

地域の先端研究

山元恭介

冬咲き性スイートピーの育種……………18

文献情報

リュウキュウアユを救え……………23

分化した細胞由来のクローンヒツジ……………24

メチルサリチル酸による自己・他個体に対する抵抗性のシグナル伝達……………25

海外便り

西澤洋子

アラビドプシスのうどんこ病抵抗性の解析——カーネギー研究所での2年間……………27

特別情報

高野 充

衛星リモートセンシングの農業活用……………30

進化分子工学の新展開

工業技術院生命工学工業技術研究所

中村 吉宏

タンパク質など分子レベルでの生物進化のメカニズムを応用して、優れた生物機能や生体高分子の創出を可能にする、新しい基幹技術、進化分子工学の開発が進められている。それは、数10億年の進化の時間軸を実験室の空間軸へ変換するというコンセプトに基づく。進化実験系、すなわち巨大な変異分子集団を発生させ、目的分子（機能）を選択し、さらに変異・増殖を繰り返す実験システムの確立により、高機能酵素や新規ペプチドが、効率的に獲得できるようになる。

1. はじめに

地球上に生命が誕生して40億年近く経過する間に、生物は突然変異と淘汰（選択）を繰り返して進化し、多様な構造と機能を獲得するに至った。近年の分子進化学は、生物進化のメカニズムを分子レベルで解明してきた。その知見を基に、進化のプロセス（変異と選択の繰り返し）を人工的に加速し、優れた機能をもつ新規な高分子を創出する技術体系を進化分子工学（または分子進化学）と呼ぶ。

本技術体系は、従来のバイオテクノロジーが、自然界からの優れた生物機能の探索およびその改良・増幅の範囲に留まっていた限界を突破すべく、優れた生物機能の創出を可能にする基幹技術として期待されている。さらに本技術体系は、生体系以外に、有機化学合成の分野においても新しい手法を提供しつつある。

進化分子工学に関してはこれまでも多くの総説¹⁻⁵⁾があるが、本稿では進化分子工学の歴史を簡単に振り返り、その全体像を俯瞰するとともに、筆者らのグループの最近の研究結果も含め内外の研究動向を紹介していきたい。

2. 進化分子工学の提唱と概念

初めての試験管内進化実験は、1967年 Spiegelman らが RNA 分子を対象に、複製、選択を74回繰り返すことにより、増殖速度を15倍向上させた実験である⁶⁾。その後1984年に、ドイツの Eigen らは、RNA フェージの実験室内進化を解析することにより、初めて進化分子工学の概念を提唱した⁷⁾。我が国においては、伏見らがフェージの連続培養系を確立したのが進化分子工学の最初の報告である⁸⁾。

図1に進化分子工学の実験システム¹⁾の概念を示す¹⁾。突然変異プロセスにより発生させた変異分子集団の中から、目的分子を評価（選択）し増殖させ、部分的に進化した分子集団を生成する。この集団をさらに突然変異

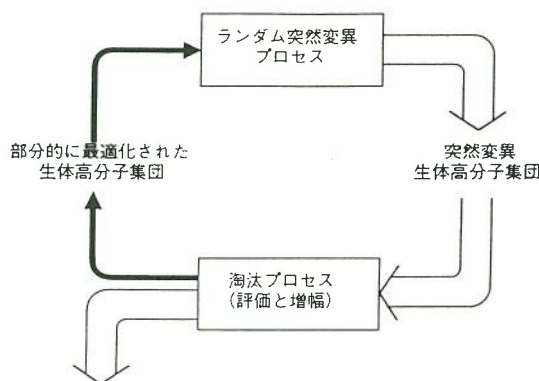


図1 進化分子工学の実験システム¹⁾

NAKAMURA Yoshihiro
現 岡山県工業技術センター

プロセスに送る。PCR を用いれば増殖と変異を同時に進行させることが可能である。このプロセスを繰り返し行うことにより、目的分子の集団が獲得できる。

3. 核酸レベルの進化分子工学の発展

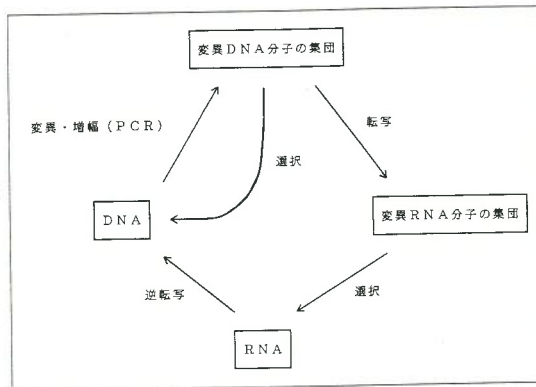


図2 核酸の進化実験システム
文献 3) の図を一部修正した

1990年に、核酸を対象にした進化分子工学のキーテクノロジーとなるアプタマー技術⁹⁾を Ellington と Szostack が、SELEX 法¹⁰⁾を Gold らが、それぞれほぼ同時に報告したのを機会に、進化分子工学は新しいスクリー

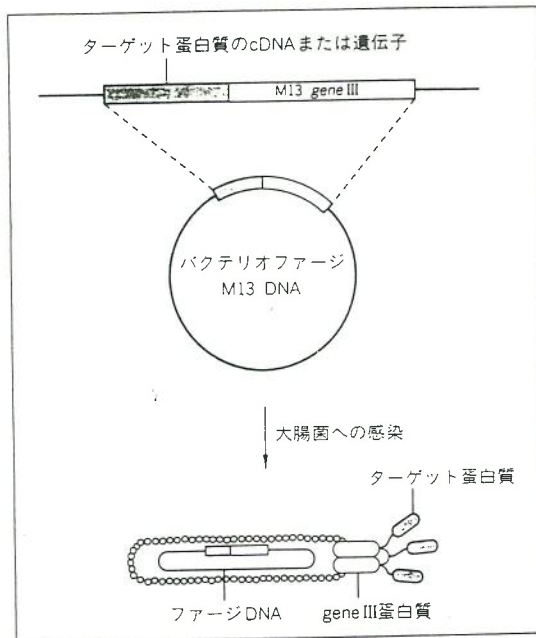


図3 ファージ呈示法³⁾

M13 などの繊維状ファージのコート蛋白質 (gene III 蛋白質) の遺伝子に進化実験系の対象となるペプチドあるいは蛋白質の遺伝子を融合して発現させることにより、ファージ粒子の表面にこれらを呈示させる。

ニング手法として一躍注目を集めた。その後米国のベンチャー企業を中心にこれらの技術の応用が図られ、筆者らが1993年末にグリードサイエンス社およびネクサジェン社を訪問した際は、医薬品開発への実用化直前の状況であった。核酸の進化実験システムを図2に示す。本システムの確立は、PCR の開発により DNA の大量増幅が簡便に行われるようになったことが、成功のカギである。

4. ペプチド・タンパク質レベルの進化分子工学

核酸レベルの進化実験システムでは図2に示す通り、変異遺伝子の情報をそのまま遺伝子の機能 (表現型) として選択することができるが、ペプチド・タンパク質レベルでは、目的分子 (表現型) を選択した際に、その対応遺伝子情報が同時に得られるようにしておく必要がある。主たる対応付け技術別にまとめてみる。

(1) ウイルス型対応付け技術

本技術は Smith によるファージ呈示法の開発が最初の報告である¹¹⁾。その後 Winter らの研究を経て、現在ではキットとして市販されており、ペプチドライブラリーの生成法として多用されている¹²⁾。ファージ呈示法のシステムを図3に示す³⁾。

(2) 細胞型対応付け技術

選択した目的分子を発現している細胞中にその遺伝子情報 (DNA) が存在する対応付けであり、Liao らの、好熱菌を利用した耐熱性酵素の取得実験が古典的に知られている¹³⁾。最近 Arnold らは、ニトロベンジルエステラーゼの遺伝子に PCR でランダム変異を導入し枯草菌で発現させ、有機溶媒中でも生育する菌体を選択し、その中の酵素遺伝子にまた変異を導入するサイクルを繰り返すことにより、有機溶媒耐性を50~60倍向上させることに成功した¹⁴⁾。

(3) 人為的対応付け技術

Lerner らは、生物のもつ遺伝暗号関係から逃れ、図4に示すように化学合成により完

全に人工的な遺伝子型と表現系の対応関係をデザインした¹⁵⁾。一方, Houghten らは, 遺伝子型分子を持たず, 表現型分子のみから構成される化学合成ペプチドライブラリーを作製し, その中から生理活性分子をスクリーニングする手法(コンビナトリアルケミストリー)を開発した¹⁶⁾。本手法は進化分子工学の一つの柱として発展しており, 我が国でも得意の自動化ロボット技術や合成技術を取り入れて実用化され, 年間数10万検体のスクリーニングが可能になっている。本手法については詳しい解説¹⁷⁾がある。

5. 進化実験系構築の取り組み

我が国は, 郷のエクソン-モジュール対応説¹⁸⁾を始めとして, タンパク質レベルの分子進化学では高いポテンシャルをもっており, また三浦らの初めてのエクソン置換実験¹⁹⁾や大島らのアミノ酸ブロック単位の変異による補酵素特異性の変換実験²⁰⁾も報告されている。そこで通産省は1995年に, これらの成果に立脚し, 進化分子工学をより汎用的な技術に確立すべく, 「加速型生物機能構築技術(タイムマシンバイオ)」プロジェクトを開始した。プロジェクトでは, 進化実験系の構築を目指して要素技術の開発が進められている。以下に進化分子工学の新しい展開を紹介したい。

(1) 新規変異発生技術

タンパク質の進化過程にはエクソンシャフリングが重要な役割を果たしていると云われる。そこでタンパク質の進化実験系において遺伝子断片のシャフリング手法の開発が当面の目標である。Stemmer らは, 相同組換えを利用した sexual PCR 法を開発し, クラゲの緑色蛍光タンパク質の遺伝子をブロック単位で再構成し, 45倍強く発光する変異遺伝子を獲得している²¹⁾。原山らは, カテコール2, 3-酸素添加酵素を持つと考えられる培養系から抽出したゲノム DNA から, 直接新規の酵素配列を取得するカセット PCR 法を開発した²²⁾。巖倉は, ジヒドロ葉酸還元酵素分子内での部分構造のシャフリングを試み, 世界で

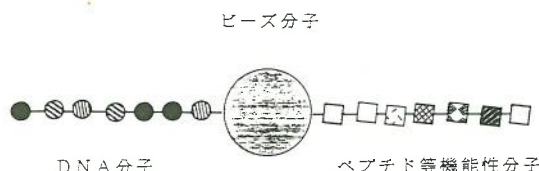


図4 人工的対応付け

一つのビーズ分子上に, ある配列をもつペプチド鎖を化学的に合成していくと同時に, 同じビーズ分子上に, そのペプチド配列と人工暗号表に基づく対応関係にあるDNA分子を合成していく。

初めて酵素活性を維持したままのトポロジー(2次構造単位の順番)変異体の作製に成功した²³⁾。

(2) 遺伝子型と表現型の対応付け技術

丹羽らは, フェージ呈示法より効率的な細菌呈示法の開発に取り組み, 細菌発現系によるランダムなモチーフ(アミノ酸10個の機能部位)のライブラリーを生成することに成功した²⁴⁾。

(3) 効率的選択技術

西らは, これまで報告の少ないアミド結合切断を触媒する抗体を効率的に選択するため, 遷移状態アナログとしてホスホン酸アミド化合物を合成し, これを選択用リガンドとする選択系を構築した²⁵⁾。多比良らは, ジヒドロ葉酸還元酵素の翻訳系をリボザイム活性により制御できる発現ベクターを設計し, 高活性リボザイムの生体内選択を可能とした²⁶⁾。三石らは, グリコシダーゼ選択用リガンドとして, 従来調製が極めて困難であった, 分子量1万以上の糖鎖断片の調製手法について検討し, 重合度14~36の範囲で完全に構造の定まったキシログルカン断片の調製に成功した²⁷⁾。

(4) 適応歩行法の効率化技術

我が国における進化分子工学の特徴の一つに, 適応歩行理論の導入がある。適応歩行とは進化実験を山登りに例え, 山の頂上, すなわち目的分子(機能)を徒歩で探索する方法のことである⁸⁾。小久保らは, ランダム変異と選択の繰返しによりプロリルエンドペプチダーゼ(PEP)の耐熱性を60倍高めることに成功していたが, 最近, 耐熱性 PEP 変異体に導入されていたアミノ酸置換を解析し, 適応歩行の過程を明確に視覚化した²⁸⁾。

6. おわりに

進化分子工学の全体像をみるあまり、具体性が乏しい紹介になってしまった。文献により補われれば幸いである。現在の進化分子工学の定着ぶりをみると、筆者らがプロジェクトの調査研究を始めた頃、学会でも「進化分子工学って何」と言われたりしたのが夢のようである。進化分子工学は新しい技術体系であるが、今後、新規物質を求める際に、ゲノム情報と並んで不可欠な技術となるものと確信している。紙面の関係から応用面に触れることができなかったが、詳細は別に紹介されているので参照されたい²⁹⁾。

文 献

- 1) 伏見 譲 (1993) 蛋白質 核酸 酵素, 38 : 1338~1344
- 2) Joyce, G.F. (1993) 日経サイエンス, 23 : 66~75
- 3) 小久保利雄・三沢 悟・西川 諭 (1994) 蛋白質 核酸 酵素, 39 : 2821~2825
- 4) 寺部真人 (1996) 蛋白質 核酸 酵素, 41 : 166~169
- 5) 巖倉正寛・三石 安・中村吉宏 (1996) バイオサイエンスとインダストリー, 54 : 706~711
- 6) Mills, D.R., *et al.* (1967) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 58 : 217~224
- 7) Eigen, M. and W. Gardiner (1984) *Pure & Appl. Chem.*, 56 : 967~978
- 8) Hushimi, Y. (1989) *Adv. Biophys.*, 25 : 1~43 (1989)
- 9) Ellington, A.D. and J.W. Szostak (1990) *Nature*, 346 : 818~822
- 10) Tuerk, C. and L. Gold (1990) *Science*, 249 : 505~510
- 11) Smith, G.P (1985) *Science*, 228 : 1315~1317
- 12) Mc Cafferty, J. *et al.* (1990) *Nature*, 348 : 552~554
- 13) Liao, H. *et al.* (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83 : 576~580
- 14) Moore, J.C. and F.H. Arnold (1996) *Nature Biotechnology*, 14 : 458~467
- 15) Brenner, S. and R.A. Lerner (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89 : 5381~5383
- 16) Houghten, R.A. *et al.* (1991) *Nature*, 354 : 84~86
- 17) 軒原清史・深瀬浩一 (1996) 化学と生物, 34 : 610~615, 670~675, 752~759, 823~833
- 18) Go, M. (1981) *Nature*, 291 : 90~92
- 19) Kumagai, I. *et al.* (1992) *Natl. Acad. Sci. USA*, 89 : 5887~5891
- 20) Yaoi, T. *et al.* (1996) *J. Biochem.*, 119 : 1014~1018
- 21) Stemmer, A. *et al.* (1996) *Nature Biotechnology*, 14 : 315~319
- 22) 奥田明子・大西浩平・原山重明 (1996) 平成8年度日本生物工学会大会講演要旨集, p. 223
- 23) Iwakura, M. (1996) *Protein Sci.*, 5, suppl., 1 : 68
- 24) 丹羽慎一郎ら (1996) 第14回バイオテクノロジーシンポジウム予稿集 (バイオテクノロジー開発技術研究組合), p. 292~296
- 25) 西義介ら (1996) 同上, p. 297~302
- 26) Hujita, S. *et al.* (1997) : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94 : 391~396
- 27) Mitsuishi, Y. (1996) Abstracts, New Frontiers in Screening for Microbial Biocatalysts, Symposium, Netherland, p. 48
- 28) 内山秀文・副島豊美・稲岡哲也・小久保利雄 (1996) 日本生物物理学会第34回大会講演予稿集, p. S208
- 29) 日経バイオ年鑑97 (1996), p. 38~45, p. 203~207

国内情報

牛・豚の臓器から食品素材および医薬品素材を

雪印乳業(株)技術研究所, *昭和電工(株)化学品研究所

伊藤文雄・*山田 強

家畜臓器の高度利用を目的として、豚胃の洗浄廃液からムチンおよび牛肺臓からアプロチニンの工業的分離・精製システムの開発を試みた。ムチンでは主に膜分離技術を、アプロチニンではHPLC技術を応用した。

ムチン精製品は食品素材および医薬品素材として、アプロチニン精製品は医薬品素材としての利用が見込まれている。

1. はじめに

牛・豚などの家畜臓器には種々の生理活性物質が存在しており、その中で医薬品素材として利用されているものは20種程度である¹⁾²⁾。治療薬として実用化されている物質の多くは豚臓器から抽出・分離されており、トリプシン(皮膚病患)、ペプシン(消化異常)、インシュリン(糖尿病)、カルシトニン(骨粗鬆症)、カリクレイン(脳動脈硬化症、高血圧症などの循環障害)、エラスターゼ(動脈硬化症、高血圧症)などが挙げられる。これらの生理活性ペプチドあるいはタンパク質は、近年の遺伝子工学的手法の進展に伴い、臓器原料からの抽出・分離による生産から組換え大腸菌による生産へと切り換えられつつある¹⁻⁵⁾。

一方、コンドロイチン硫酸(皮膚病患、神経痛、ストレプトマイシンによる難聴症)、ヒアルロン酸(関節炎、白内障)やコラーゲン(皮膚病患、神経痛)などのムコ多糖、すなわちプロテオグリカンなどの高分子の生理活性糖タンパク質複合体¹⁻⁵⁾については、依然として供給源を生体材料に頼っている。

筆者らは、これらの臓器由来の生理活性物質の中から、ムチンおよびアプロチニンを対

象とし、進捗著しい膜分離技術およびHPLC技術を応用して、低コストかつ効率的な工業的分離・精製システムの開発を検討した。

2. 豚胃ムチン

胃ムチンは粘膜内、粘液ゲル層および胃液に存在する巨大分子の糖タンパク質であり⁶⁾、酸、ペプシン、細菌感染、浸透圧変化などの攻撃因子から胃粘膜を保護する役割を担っていると考えられている⁷⁾。したがって、この胃粘膜保護作用により医薬品素材(胃腸薬)として利用されている^{2,8)}。

豚胃(ガツ)は小腸(ヒモ)や大腸(ダイチョウ)と同様に食用に供されている⁹⁾。屠殺場では、解体・検疫後の胃を軽く水洗し、



写真1 胃袋洗浄機内部に投入された洗浄前の豚胃

未消化内容物を除去した後、胃袋洗浄機（写真1）を用いて十分に攪拌・洗浄し、粘膜に付着する粘液物質が取り除かれる。

筆者らは、この時に排出される洗浄廃液（約200l／豚胃100個／1バッチ）からムチンを分離・精製した。

洗浄廃液をステンレスメッシュ（平織網目：1.0mm）ろ過し、余分な肉片や脂肪片を除去する。次に、ナイロンメッシュフィルター（厚木ナイロン社製、160デニール）を装着したW-CELLフィルターろ過装置（バイオット社製）を用い、廃液中に分散する脂肪および脂質の約半分を除去する。ろ液を分画分子量150kDa相当のUF膜（セラミック膜、ろ過面積：0.35m²）を用い、約10l強程度まで濃縮処理する。

濃縮液をエタノール（80%）沈殿処理（3回）し、残存する脂肪および脂質や核酸類を完全に除去する。回収した沈殿物（乾燥重量320g）をイオン交換水に再溶解（0.5%）し、ノボPTN6.0Sトリプシン（16,000ユニット）を加え、50°C、6時間程度反応させる。このプロテアーゼ処理によりムチンは低分子化することで水溶化し、夾雑タンパク質は分解される。上清を回収し、再UF濃縮処理することによりトリプシンおよび夾雑タンパク質分解物をパーミエイト側に排出させる。濃縮液中に少量残存するトリプシンを失活（80°C、20分間保持）させた後、エバポレイト濃縮し、真空乾燥させる。このようにして豚胃ムチン精製品（45g）を得ている（表1）。

表1 豚胃ムチンの分離・精製

ステップ	容量 l	固形物 量 g	固形物 濃度 %	脱脂 固形物量 g	回収率 %
洗浄廃液	208.7	2,071	0.99	593	100
ナイロンメッシュ フィルターろ過液	195.1	1,379	0.71	540	91
UF濃縮液	11.5	1,195	10.39	390	66
エタノール沈殿物	—	320	—	320	54
再溶解液	64	↓	0.50	—	—
プロテアーゼ処理・ 再UF濃縮・乾燥物	—	45	—	45	8

工業的規模の実生産では、屠殺場の規模、すなわち1日当たりの処理頭数が生産コストの律速因子となっている。筆者らの試算では、国内最大規模を誇る東京都中央卸売市場食肉市場（品川）における豚800～1,300頭、平均約1,000頭／日（牛365頭／日）の処理頭数を想定した場合に、輸入バルクムチンの価格に対抗できる生産コストとなる。

豚胃ムチンの食品素材としての機能性について、乳児用粉ミルクに添加した例では、アミノ酸の吸収促進^{10,11)}、ビタミンCの酸化防止、ビフィズス菌増殖促進^{12,13)}に効果があることが知られている。ムチンの部分分解により糖含量の多い分解物を調製し、機能性オリゴ糖としての利用も試みられている¹²⁾。筆者らもムチン、とりわけその糖鎖部分について、機能性食品素材としての利用開発を進めたいと考えている。

3. 牛肺アプロチニン

アプロチニンは、牛の肺臓、脾臓、耳下腺などに存在する58個のアミノ酸残基からなる塩基性ポリペプチドであり、トリプシン、キモトリプシン、プラスミンおよびカリクレインなどを強く阻害する。この性質を利用して、トリプシン、カリジノゲナーゼ、プラスミンなどの逸脱を伴う慢性再発性膵炎、術後の膵炎、急性循環不全などの治療に点滴静液剤として利用されている⁵⁾。

牛の肺臓は通常、食用に供しない脾臓、脾臓、腎臓などの臓器、骨、余分な脂肪とともに煮沸処理され、油分を回収した後、飼料あるいは肥料に加工されている²⁾。

アプロチニンの調製では牛肺臓そのものを原料とした。解体・検疫後の肺臓約1.2kgに、4倍量の0.75M NaCl、メタノール40%水溶液を加え、ホモジナイズ（5分間）する。4時間穏やかに攪拌した後、遠心分離（5,000 rpm、10分間）し、粗抽出液（約5.7 l）を調製する。粗抽出液からエバポレイト濃縮によりメタノールを、次いで透析により塩類を除去し、脱塩濃縮液（約2.6 l）を

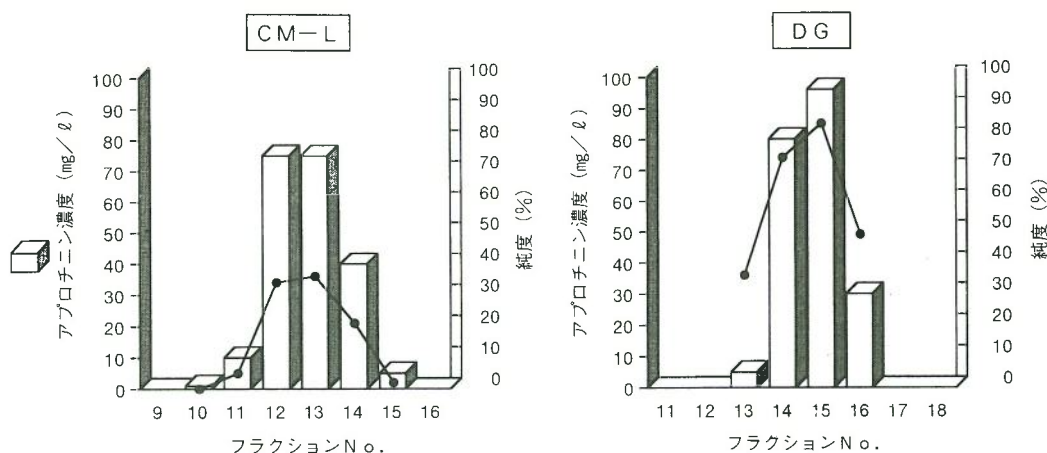


図1 CM-LおよびDGカラムクロマトグラフィーによるアプロチニンの精製

得る。

精製工程では、イオン交換樹脂CM-L（粒径：20-40 μ m，サイズ：50mm i.d.×500mm，理論段数：3,600段）および逆相用ゲルDG（粒径：10-15 μ m，サイズ：50mm i.d.×300mm，理論段数：7,300段）を充填した2段のカラムを適用した。脱塩濃縮液をCM-Lカラム処理（溶離液：0-1,500ml；20mM NaH₂PO₄ pH7.0，1,500-3,000ml；20mM NaH₂PO₄+0.5M NaCl，流速：50ml/min.）し，分取した500mlをDGカラム処理（溶離液：0-750ml；純水，750-3,000ml；20mM H₃PO₄，流速：同上）した（図1）。本HPLC法では，粗抽出液に対して回収率19%，純度80%のアプロチニン精製品が得られている（表2）。

工業的規模の実生産では，200mm i.d.×1,000mmサイズのカラムを前提として考えているが，第1段のCM-Lカラム処理による回収率が少ない（27%）状況にあり，今後，イオン交換樹脂そのものの改良が必要となっている。

なお，抽出・精製に先だって，HPLCを用いたアプロチニンの活性測定法を開発している。本システムによれば，クロマトグラム上でタンパク質ピークと活性ピークのモニタリングが同時に行える。したがって，アプロチニンに限らず，他の酵素阻害剤のスクリーニングなど広範囲な応用が可能であると考えている。

表2 牛肺アプロチニンの分離・精製

ステップ	容量 ml	アプロチニン量 mg	アプロチニン濃度 mg/l	純度 %	回収率 %
粗抽出液	5,720	137.3	24	0.5	100
脱塩濃縮液	2,600	130.0	50	1.0	95
CM-L分取液*1	500	37.5	75	35	27
DG分取液*2	300	26.3	88	80	19

*1：図1中のフラクション12とフラクション13を合一

*2：図1中のフラクション14とフラクション15を合一

4. おわりに

本稿では，「牛・豚の臓器から食品素材および医薬品素材を」と題して，豚胃ムチンおよび牛肺アプロチニンの工業的分離・精製技術を紹介した。家畜臓器に存在する多種多様な生理活性物質の有効利用は，食肉加工や医薬品に携わる企業にとって，非常に実用的で魅力的テーマであると言えよう。現在においても未知なる生理活性物質のスクリーニングや新たに開発された分離・精製技術の適用など精力的な研究開発が行われていると推測される。しかし，生理活性物質の有効利用，特に分離・精製に関する情報については，特許情報は別としてもノウハウに属する内容が多いため公開され難い状況にある。したがって，筆者らの事例も概要紹介となってしまった点はお許し願いたい。

なお，本テーマは，農林水産省食品流通局

の指導の下に設立された「食品産業エコ・プロセス技術研究組合」において、「食品産業における廃棄物からの有価物分離・利用技術」の一部として平成4～7年（4年間）にわたって実施した経緯にある。詳細については報告書¹³⁾を参照願いたい。

文 献

- 1) 奥山隆編 (1987) 動物成分利用集成 (陸産動物編), R&Dプランニング
- 2) 矢野幸男・沖谷明紘・宮田輝夫・奥山隆 (1988) 研究会「畜産副生物の有効利用技術について」, 生研報告 No. 7, 生研機構
- 3) 岡見吉郎・奈良高 編 (1982) 医薬と微生物生産<上>, p.67, 学会出版センター
- 4) 向井登 (1989) 難病にチャレンジするバイオ新薬, 日興リサーチセンター
- 5) 矢島治明 編 (1990) 医薬品の開発, 3巻 生体成分, pp. 365, 廣川書店
- 6) 堀田恭子 (1988) 医学のあゆみ, 144: 779
- 7) 森治樹・名富仁美・斉藤寿仁 (1994) 臨床消化器内科, 9: 918
- 8) 松尾裕, 竹口紀晃 編 (1989) 臨床生理学シリーズ 胃, pp. 212, 南江堂
- 9) 財団法人日本食肉消費総合センター (1996) 部位別実用ミートマニュアル, pp. 75, 共同宣伝
- 10) Miyahara, H. and Y. Tanahashi (1964) *Kyushu J. Med. Sci.*, 15: 159
- 11) 長沢太郎・清沢功・前田正躬・饒村護 (1967) 栄養と食糧, 20: 328
- 12) 岩崎泰介 (1990) 雪印乳業研究所報告, 89: 101
- 13) 食品産業エコ・プロセス技術研究組合編 (1996) 食品産業における廃棄物からの有価物分離・利用技術, p.167

国内情報

果物の非破壊品質測定装置の開発 —透過型オンライン測定システム—

(株)果実非破壊品質研究所

水野 俊博

近赤外線を利用した分光分析技術は、非破壊分析において有効な測定技術として、農業を始め、食品、医学、薬学、繊維、石油化学、ポリマー、化学工業等多くの利用分野に近年発展を遂げている。これらの技術開発には、市販の近赤外分光分析装置が利用されることが多い。本稿では、果実の内部品質要素の計測を可能とした、透過型オンライン非破壊品質測定装置を開発したので紹介する。

1. はじめに

近赤外線を利用した測定技術の歴史は古く1800年代に遡る。歴史的な経緯は文献^{1,2)}に記載されているので省くが、実質的には1970年代より加速度的な発展を遂げることになる。

これにはいくつかの理由がある。1つは、米国において、農産物の非破壊分析法として、採用された近赤外分光法が、成功を収めたこと。2つめは、複雑な統計処理および分析装置の制御を行うために、小型なコンピュータを利用することが、可能となったことである。これら農業分野での成功をきっかけに、他の分野でも近赤外分光分析技術が利用されることとなった。

MIZUNO Toshihiro

日本においては1980年代現在の形での近赤外分光分析技術が導入され、まず農業分野で応用されることとなり、その後食品・医学・薬学・繊維・化学などの分野へ広がりを見せている。

青果物のオンライン非破壊測定の実績は、モモ選別ラインに導入されたのが始まりである。測定方式としては青果物に近赤外光を照射し、果実表面から反射してくる光の中から、果実の糖成分に特有に反応した近赤外光を分光分析し、所定の成分を統計的手法によって定量化する装置であった。この方式では、精度の高い分析結果を導き出すことが困難であり、糖以外の成分を分析できないこと、分析する情報が青果物の表面の一部に限られる等の制約があった。

本研究では、このため反射光方式と異なる透過光方式での近赤外分光分析を採用した。

この方式は果実内部で拡散散乱した光のみを計測するため、反射光方式に対し極めて高い分光精度が得られると判断したことによる。

これにより、青果物中の糖以外の微量成分全般の定量分析、および果実内部に発生する、褐変を代表とする生理障害等の定性分析の計測が可能と考えられた。

2. 透過型オンライン測定装置の課題

我々が、研究を開始した時期は、モモの糖度を計測する、反射光方式と呼ばれる光センサが、日本で初めて農業の現場に導入された時期と一致する。

この装置が導入された年は、多くの果樹産地の方々が、山梨県の導入農協に出向き、光でモモの糖度を計測する姿を事実として確認し、新しい時代の幕開けを肌と感じた。

しかし、同時に反射式では達成できない、いくつかの事実も確認することとなった。その中で最も大きな問題点は、厚い果皮を持つ柑橘類などが測定できない点であった。薄皮の落葉果樹類と違い、柑橘類は果皮が厚いため、表面を分析する反射光方式では、実質的に果皮の計測をすることになり、食べる部分

の計測はまったくできないことが判明した。したがって、開発の方向性は、果実の中身を透過した光を分析する、透過型の分光分析装置およびその周辺機器を開発することとなった。

しかし、透過型分光分析装置にはいくつかの解決すべき問題点が存在していた。

そのキーとなる事実は、果実の内部を透過した光が、入射光量に対し 10^{-4} ~ 10^{-7} 程までに減衰してしまう吸収現象であった。この事実に対し、解決すべき課題として、1) 超高感度光センサの開発、2) 透過照明系の開発、3) 低ノイズセンサ回路の開発、4) 装置安定化機構の開発などがあった。さらに、本研究が最終目標とする装置は、果実がコンベア上を搬送されている状態で計測する、オンライン型装置の開発であるため、透過光学系に適合した搬送コンベア装置の開発などの周辺機器での開発課題もあった。

これらの課題を高いレベルで、クリアしなければ、本当に知りたい果実内部の情報を計測することはできない。

3. 装置の性能・特徴

開発された装置の性能を示す。カタログ仕様欄に記載される、数値的な表現ではなく、数値が一体何を表しているのか、そしてその数値が実際の場面でどのように役に立つのかという観点で、基本となる重要な性能のみを解説する。

1) 透過光計測の達成

果皮の厚さに関係なく、果実の周囲から平均的に光を入射し、内部で拡散透過した情報光のみを、光センサ部に導く光学系を開発し、 10^{-4} ~ 10^{-7} に減衰した光でも受光可能な高感度センサを開発した。これにより、食べる部分の情報を分析することが可能となる(図1)。

2) 安定的な計測条件の達成

本装置を使用する主要な場面は、主にJAが運営する果実選果場である。通常は室内空調をしないため、夏は暑く、冬は寒いという

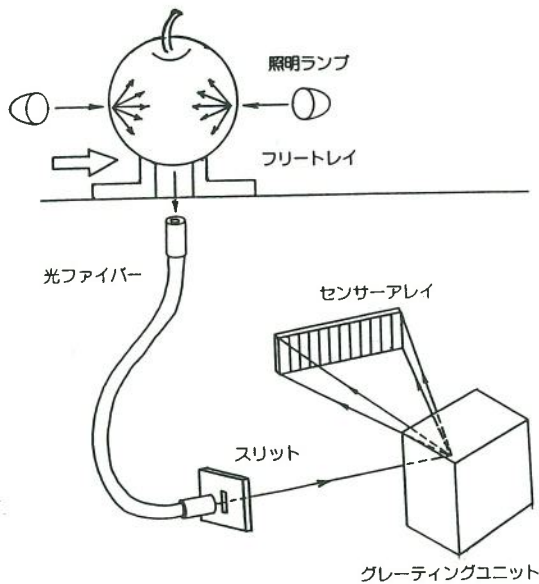


図1 透過光学系

当たり前のことが起こる。測定装置にとってこの寒暖の環境は、安定的に装置を動作させるという点でマイナス要因となる。本装置では周囲の環境が変動してもセンサ系が一定の性能を維持できる機構として、1) 装置筐体部分を精密温度制御する機構、2) 自動校正機構、3) 外乱光の遮光機構などを装備し、長期的にも安定的な計測ができることに成功している。

3) オンライン計測の達成

JAが運営する選果場では、対象とする果実品目にもよるが、オンライン計測と呼ばれる、コンベアに果実を載せたままの状態で測

ることが必要となる。本装置は対象とする果物に応じて1秒間に1～5個の果実を計測することを達成している。大型果実で1～3個/秒、柑橘類で5個/秒となる。

4) 多成分同時計測の達成

計測対象となる果実の内部要素は、味で糖度・酸度・渋など、障害要素でミツ入り・褐変・水浸・ス上がりなど多くの要素がある。

本装置では計測部に果実を1回通過させることで、複数の内部要素を同時に計測することができる。これは果実の内部情報を、スペクトル状態で計測することで達成できる。得られたスペクトルから2次微分など数学的処理をした後、統計的手法により多成分同時計測を達成した。

5) 微量成分の計測達成

果実の中の味成分は、果実全体に比較し糖が約十分の一、酸が約百分の一程度含有される。本装置以前まで酸が計測できなかった理由は、酸の含有量が糖に比べ十分の一と微量であるためである。本装置では果実に含まれる微量成分を計測するため、分光光学系の波長分解能を高めるとともに、低ノイズの電子系を開発し、酸の含有量程度でも計測可能な精度を達成した。

6) 果実の内部病障害の計測達成

果実の内部品質で味と同様に重要な項目として内部の病障害が上げられる。味の計測が

表1 計測可能項目

項目		モモ	ナシ	リンゴ	カキ	柑橘類	
						温州	晩柑類
味要素	糖度	○	○	○	○	○	○
	酸度		○	○		○	○
	渋	○			○		
成熟要素	熟度		○	○			
	蜜入り			○			
障害要素	内部褐変	○	○	○			
	ス上がり						○
	水浸果		○				

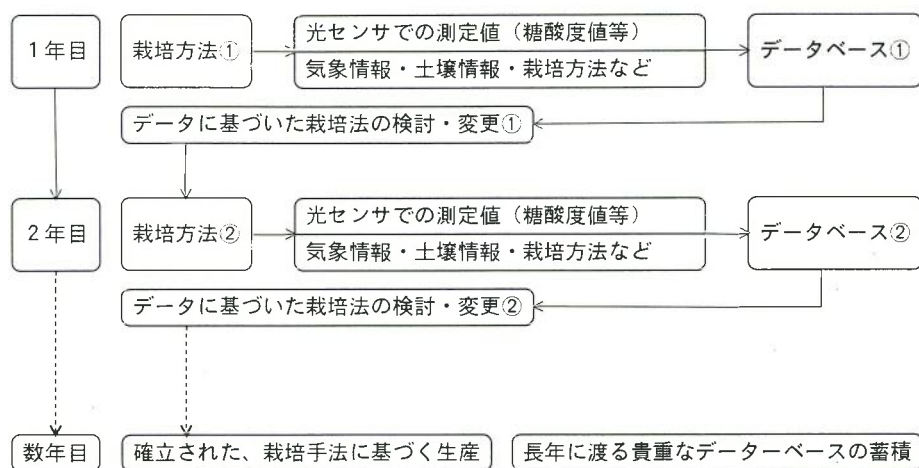


図2 計測値データベースの利用

定量を重視するのに対し、障害の計測は、定性が重要となる。すなわち、得られたスペクトル情報から、果実がどのような病障害になっているかを、推定するアルゴリズム開発することである。表1に現在計測を確認している項目を示す。

7) 計測結果の利用

計測結果は、全ての果実に対し数値として残すことができる。この操作を長年にわたる行うことで、果実の貴重なデータベースが構築できる。さらにこのデータベースに気象情報、土壌情報、栽培方法などのデータを加え、加工することによって、有力な栽培情報になる。これにより園地ごとの特徴、生産者ごとの特徴など、いろいろな観点から分析ができるとともに、分析結果を明日の農業のために役立てることができる。

従来栽培結果は、生産者個人の感覚的な部分に寄与するだけであるが、図2に示すとおりデータベースを利用することによって、より良い栽培方法を永続的に作り上げていく、

向上のための循環システムを構築することができる。

4. おわりに

装置開発後、各種の展示会で消費者の方にお会いした時、最も多く聞かれる言葉は「どれがおいしいの」という、消費者の言葉である。開発された装置は、糖度・酸度のバランスで、この言葉の一部を満足させることができると共に、果実内部の病障害を事前に除去した形で消費者に提供できるため、生産者・消費者それぞれにとって、安心のできるシステムになった考えられる。

文 献

- 1) 尾崎幸洋・河田 聡 (1996) 近赤外分光法, pp.224, 学会出版センター
- 2) 河野澄夫・岩元睦夫・魚住純 (1994) 近赤外分光法入門, pp.168, 幸書房

ウシ受精卵の雌雄判別技術

伊藤ハム中央研究所

須藤 鎮世

受精卵の性を判別するよりは、初めから雄あるいは雌の胚を作ればよい。このためにはX精子とY精子とを分離する必要がある。しかし、今のところ技術的困難があり、実用化には至っていない。PCRを利用したウシ胚の性別別法は100%近い成功率であり、実用化された。さらなる普及のためには、性別別された胚の優れた凍結保存法と胚の移植効率の向上が望まれる。

1. 序にかえて：H-Y抗原説, bkm説, Zfy説, Sry説の変遷の中から

方法が一定であれば一定の結果が得られることから、科学は没個人的にみえる。しかし、その発端は個人的であることが多い。性別判別研究開始の契機について一部私事にわたることを許されたい。野村総合研究所に勤務中、米国シテイオブホープ研究所の大野乾博士の許に留学の機会を得た(1980~1981)。当時、性別決定因子の候補は同博士らが提唱したH-Y抗原であった¹⁾。H-Y抗原をクローニングしようとして我々が得たのは(GATA)×nを主体とする繰返し配列bkmであった²⁾。bkmがH-Y抗原をコードする可能性も指摘されたが、後にマウス等の性別決定遺伝子の近傍に位置する配列にすぎないことが判明した。帰国後、医薬品の前臨床試験を主体とした受託研究に追われ、性別決定機構の研究は中断されたままであった。この間、Science誌に乳牛で雌が産まれれば1500ドル、雄なら50ドルという記事を見た。ウシの雌雄産分けは基礎と応用との組合わさった恰好の企業向け目標と思われた。ではその達成手段はどうするか。1985年のCell誌で、雄のDNAを大過剰の雌のDNAに吸着させれば、雄のDNAが濃縮されるという欠損濃縮法の論

文³⁾をみた。このマウスでの事例は直接ウシにも応用できるはずだ。また、日本たばこ産業の西博士がハーバード大学で行っていたPERT法⁴⁾を紹介してくれた。彼はこれをごん細胞で増幅した特定の配列をクローニングするのに利用した。Y染色体上のDNAをがんで増幅したDNAと同じと考えれば、Y上のDNAの単離に有効だろう。Y染色体上のDNAがとればPCRで性別判別ができる。こうして方法もきまった。折しもバブルは膨れ、儲からない会社は不要と、1988年、野村生物科学研究所(野村総研の生物科学研究部が独立した会社)は解散された。ちょうど、伊藤ハム設立60周年記念事業として新研究所の建設があり、ここに奉職、宿願の雌雄産分け研究への挑戦の機会を得たわけである。以上、契機の概略であるが、実際に目標に到達できたのは参加者全員の成果である。

さて、性別決定因子であるが、H-Y抗原説はPageらにより1987年⁵⁾までには否定された(なお、H-Y抗原の本体は1995年にSmcyとして同定された⁶⁾)。1987年、PageらによりZfy説⁷⁾が提唱され、大部分の研究者がこれで決まりと思った。しかし、これも破れ、哺乳類の性別決定因子がGood fellowらによりSryと決定されたのは1990年であった⁸⁾。Sryの作用機構は今も不明である。

Sutou Shizuyo

表 1 胚の性判別法

2. 胚の性判別のための具体的方法 (表 1)

1) X 精子と Y 精子との分離

X 精子と Y 精子とが分離できれば、雌雄の胚生産は自在となる。原理的に優れた方法だけに、従来様々な試行がなされてきたが、フローサイトメータ法以外はほとんど希望が持てない。これとても、精子が大量にとれない、精子の活性が落ちる、分離が不完全である等の問題があり、さらなる改良が望まれている。詳細は文献⁹⁾を参照されたい。

2) 胚を切らずに性判別する方法

① H-Y 抗体

従来、H-Y 抗原に対する抗体 (H-Y 抗体) を利用する方法が主体であった。しかし、H-Y 抗体を作製するのが容易でないこと、抗体価が低いこと、性判別率が80%前後と必ずしも満足できる数値でないことなどの理由で、実用化はされていない。

② MEA-1および MEA-2

われわれはポリクローナルな H-Y 抗体で釣り出されたウシの雄特異的発現抗原 MEA-1(Male-enhanced antigen-1)をクローニングした¹⁰⁾。RT-PCR では雄胚は全て MEA-1を発現していた。雌胚の多くは発現していないが、一部の雌胚では発現がみられた。したがって、雌胚と判定された胚は雌であるが、雄胚と判定された胚には雌胚が混在していることになる。これでは実用的でない。大腸菌で MEA-1タンパクを作り、これに対する抗体を作製した。MEA-1タンパクは胚の細胞表面には出現しないため、この抗体を利用した胚の性判別はできなかった。MEA-1タンパクは精子細胞に存在するが、精子には存在しない。精子形成に関与している1成分らしいが、詳細は不明である。

一方、モノクローナルな H-Y 抗体で釣り出された抗原 MEA-2がある。われわれはマウスの Mea-2遺伝子をクローニングした¹¹⁾。性判別に利用できるか否かは今後の検討課題である。

I 受精前の性判別法

例 1 : 重力を利用した X 精子および Y 精子の分離

例 2 : フローサイトメータを利用した X 精子および Y 精子の分離

II 受精後の性判別法

1. 胚をそのまま用いる方法

例 1 : 細胞表面抗原を検出 (例 : HY 抗体の利用)

例 2 : 性特異的発現遺伝子を利用する方法 (例 : MEA-1 遺伝子)

2. 胚の一部を採取して調べる方法

例 1 : 核型分析

例 2 : PCR を利用した Y 染色体特異的配列の検出

3) 胚の一部を採取して性判別をする方法 : 染色体分析

従来、胚盤胞を2分割し、一方を胚移植用に、他方を核型分析に使用してきた。ウシの染色体は60本あるが、X と Y 染色体とは X 字型をしており、よい標本であれば識別は容易である。しかし、Y 染色体は最も小さい染色体群に属し、よい標本を作製するのは必ずしも容易でなく、技術者にもよるが、性判別率は低い。われわれの成績は36%であった (表 2)。手技の煩雑さ、効率の低さ、胚への損傷が大きいこと等の理由で、普及していない。

4) 胚の一部を採取して性判別をする方法 : PCR 法

鋳型として Y 染色体上の DNA であれば何でもよいという訳ではない。X 染色体や常染色体と共通の配列は無論使用できない。また、単一コピーの DNA は実用に耐えない。われわれはウシの性決定遺伝子 SRY をクローニングし¹²⁾、これを鋳型として性判別を試みたが、50~100pg の DNA を必要とした。最低でも約10細胞分の DNA を必要とすることになる。この点、例えば、Y 染色体上の10回の繰り返し配列であれば、1細胞で10細胞分の鋳型 DNA を提供することになる。

欠損濃縮法³⁾と PERT 法⁴⁾とを利用してわれわれはウシ Y 染色体上の繰り返し配列を得た¹³⁾。繰り返しの回数は約100回と見積もられた¹⁴⁾。この配列は Y 染色体の短腕の動原体よりにある¹⁴⁾。Y 特異的配列を得る過程で、雌雄共通の繰り返し配列も得られた。そ

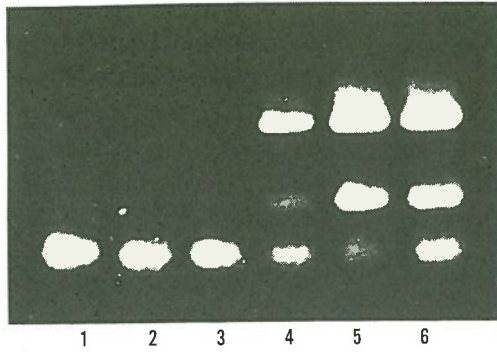


図1 PCRによる雄ウシ精製 DNA を用いた検出感度

レーン1～6にはそれぞれ蒸留水, 0.02, 0.2, 2.0, 20, 200pgのDNAを加えた。反応条件は95℃, 30秒, 50℃, 40秒, 70℃, 10秒で45サイクル。PCR装置は岩城硝子社製サーマルシーケンサー。一番上が雄特異的バンド, その下が雌雄共通バンド, 一番下は非特異的バンドを示す。

ここで, 単に Y 特異的配列があれば雄, 無ければ雌というのではなく, 雌は雌であることを示すため, 雌雄共通の PCR 産物も得られるよう配慮した。すなわち, 雄であれば雄特異的配列と雌雄共通配列を示し, 雌であれば雌雄共通の配列を示す。こうしてサンプル採取失敗が雌と判定されないよう配慮した。実例を図1に示す。この例では検出感度は2pgであり, 1細胞で検出できることになる。この間, いくつかの確認試験を行った(表2)¹⁵⁾。PCR法による性判別は100%に近い成功率があるといえる。われわれはこの性判別法を「XYセクター」として商品化した。各都道府県の畜産試験場を中心に利用されているが, 90~100%の性判別率である¹⁶⁾。

なお, われわれの性判別法は日本のほか, ニュージーランド, オーストラリア, アメリカで特許を得, またイギリス, フランス, ドイツの特許も近々おきる予定である。

3. 将来の雌雄産み分け法の可能性

Wood lemming という野生の齧歯類では正常 X 染色体のほか, 欠失 X 染色体(X*)があり, X*があると正常な Y 染色体の指令がきても反応しないため, XX(雌), XY(雄), XX*(雌), X*Y(雌)となり, 75%は雌となる。また, 性決定因子 Sry を持たない齧歯類がいる。性決定機構の解明とその応用をまっして, 将来, 雄あるいは雌だけしか産まない親動物が作出できるかもしれない。が, 今のところ夢物語である。

性決定因子 Sry を導入されたマウスは40, XX 精巣を形成するが, X 染色体が2本あるので, 精子ができない。Sry を破壊された40, XY マウスは雌となり, 仔を産む。しかし, SRY を破壊された60, XY のウシは雌となると予想されるが, マウスのように仔を産むという保証はない。産まない可能性の方が高いだろう。性決定機構のさらなる研究が待たれる。

最近, ヒツジで体細胞の核移植によるクローニングに成功した¹⁷⁾。ウシでも成功すれば, 性判別の必要はなくなる。クローニングの効率をどこまで上げるかが鍵となる。

謝辞 本稿を執筆中, 内海恭三京大教授の訃報に接した(3月10日)。拙稿ながらこれを日頃お世話になった同教授に捧げる。

文 献

- 1) Wachtel, S.S. *et al.* (1975) *Nature*,

表2 Y染色体特異的繰返し配列を利用した性判別法の精度¹⁵⁾

胚の状態	胚数	性判別成功例			確認の方法
		雄	雌	全体 (%)	
全胚	30	18	12	30 (100%)	雄雌の陽性対照 DNA と性が一致
等分割胚	19	10	9	19 (100%) ^{a)}	PCRの結果と核型分析の結果が一致
バイオブシー胚	32	16	15	31 (96.9%) ^{b)}	摘出サンプルもとの胚の性が一致
バイオブシー胚	7	5	2	7 (100%) ^{c)}	摘出サンプルと誕生した仔牛の性が一致

a, PCR では53例すべて性判別が可能であったが, 核型分析での成功例は19であった。
 b, 摘出サンプルは雌, もとの胚は雄と判定された。失敗の理由は不明である。
 c, 15個の胚を性判別し, 1個ずつ胚移植を行った。流産が1例あり, 7頭の仔を得た。

- 257 : 235-236
- 2) Epplen, J.T. *et al.* (1982) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79 : 3798-3802
- 3) Larmer, E.E. and E. Palmer (1985) *Cell*, 37 : 171-177
- 4) Kohne, D.E. *et al.* (1977) *Biochemistry*, 16 : 5329-5341
- 5) Simpson, E. *et al.* (1987) *Nature*, 326 : 876-878
- 6) Scott, D.M. *et al.* (1995) *Nature*, 376 : 695-697
- 7) Page, D.C. *et al.* (1987) *Cell*, 51 : 1091-1104
- 8) Sinclair, A.H. *et al.* (1990) *Nature*, 346 : 240-244 (1990)
- 9) 佐々木捷彦 (1997) 組織培養工学, 23 : 80-83
- 10) Kondo, M. *et al.* (1994) *J. Repro. Dev.*, 40 : 271-277
- 11) Kondo, M. and S. Sutou (1997) *DNA Sequence*, 7 : 71-82
- 12) Kato, U. *et al.* (1995) *J. Anim. Sic. Technol (Jpn)*, 66 : 994-1001
- 13) Kudo, T. *et al.* (1994) *J. Repro. Dev.*, 39 : 55-63
- 14) Cui, X. *et al.* (1996) *J. Repro. Dev.*, 42 : 125-131
- 15) Itagaki, Y. *et al.* (1993) *J. Repro. Dev.*, 39 : 65-72
- 16) 内海恭三 (1996) ET ニュースレター, 18 : 13-24
- 17) Wilmut, I. *et al.* (1997) *Nature*, 385 : 810-813

国内情報

タンパク質を用いた DNA 塩基配列解析法

工業技術院 アトムテクノロジー研究体
岡田 孝夫

原子間力顕微鏡は、試料の導電性に関係なく、大気中でナノメートルレベルの分解能で試料表面の観察ができるので、半導体から生体試料まで幅広く利用されるようになってきた。表面観察以外の新しい原子間力顕微鏡の応用として、特定の塩基配列に選択的に結合するタンパク質を DNA に結合させ、その DNA-タンパク質複合体を原子間力顕微鏡 (AFM) で観察すると、結合位置が可視化でき、その配列が DNA 上のどこにあるのかを解析する方法について述べている。

1. はじめに

細胞の分化、成熟、活性化は特異的な遺伝子の発現によって規定されている。転写レベルでの遺伝子発現の調節は、特に重要な役割を担っている。転写調節因子の多くは DNA に結合するタンパク質で、近年、さまざまな遺伝子においてこうした DNA タンパク質が

同定・精製され、遺伝子クローニングも報告されている。多くの場合、タンパク質と DNA の相互作用の解析にはゲル移動度シフト法¹⁾が用いられ、DNA 結合タンパク質がどのような塩基配列に結合するのかがフットプリント法²⁾を用いて調べられている (いずれも電気泳動法を利用したもので DNA や DNA-タンパク質複合体をゲル中に置き、電場を印加し、移動度の違いを調べる方法)。近年、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた DNA-タンパク質複合体の研究が行われてい

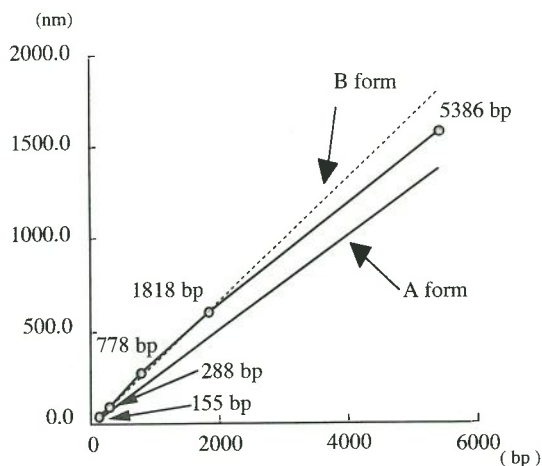


図1 長さの異なるDNAの理論長とAFM像からの実測値との関係

る³⁾。我々は、AFMを用いると、DNAの長さが定量的に求められることを見出し、その技術を用いて、遺伝子転写因子Sp1を用いたDNA-タンパク質複合体の結合位置を定量的に決定する方法を開発した⁴⁾。

2. AFMの原理

試料表面に探針（AFMの場合は探針付片持ち梁が用いられ、カンチレバーと言う）を近づけて行くと、10nm程度の遠距離では仮想的な双極子・双極子相互作用として捉えられるVan der Waals力（引力）が働き、原子の結合距離程度の近距離ではPauliの排他律に基づく斥力が働く。両者はともにナニュートン（nN）の力である。引力域も含めてAFM測定では、距離依存性の強いnNオーダーの微弱な力を検出しなければならない。この微弱な力によってカンチレバーがわずかにたわむ。このたわみが一定になるように、サーボ回路（コントローラ）で試料の高さ（Z軸）を制御しておく。この状態で試料をXY方向に走査すると、試料は表面の凹凸に応じて上下しながらXY面内を動く。このとき、XY走査に応じてZ軸制御電圧を取り込むことによって、ナノメートルレベルのAFM像（三次元像）が得られる。

3. AFMによるDNAの長さの測定⁵⁾

AFM像の分解能は探針の曲率半径によって左右されるが、長さの測定には探針の影響があまり効かない。そこで、我々は、異なる長さのDNA（5386、1818、778、278、155 bp）を遺伝子組換えやPCR増幅などで作製し、AFMによる長さの計測を行なった。DNAはその骨格にリン酸を含んでいるので、負に帯電している。一方、AFM基板である雲母劈開面も負に帯電しているので、このままでは、基板上にDNAを固定することはできない。そこで、我々は、アミノプロピルトリエトキシシラン（APTES）、Mg(II)などの二価カチオン、スベルミジンなどのポリアミン、などを用いて基板表面に正電荷を与える表面処理を行ない、基板上にDNAを固定している。図1に、長さの異なるDNAの理論値（A型とB型）とAPTES処理した雲母基板のDNAのAFM像からの実測値（AFM計測ソフト（NIH Image）を用いて計測）との比較を示す。

5386塩基対のDNAは平均長1585nmのAFM像を得ることができた。このDNAの理論長はB型と仮定すると1820nmであり、A型と仮定すると1379nmであるので、ほぼ中間の長さで観察されたことになる。これは湿潤状態で固定されたDNAが、乾燥によりB型からA型に構造変化を起こしたものの、雲母劈開面に吸着しているためはずみが生じ、完全にA型に移行しなかったためと思われる。また、1818、778、288、155の塩基対は、B型と仮定した場合の理論長にほぼ等しい値が得られた。

4. AFMによるDNA-タンパク質結合部位の特定

DNAはSV40のプロモーターレギュレーション領域をプラスミドpSP72をテンプレートとしてPCRにより895、1017、2652塩基対（bp）の三種類合成し、タンパク質と

して Sp1 を選び、基板処理および固定にはポリアミン（スベルミジン）を用いた。基板には雲母を、AFM 測定は Digital Instruments 社の Nanoscope III を用いタッピングモードで行った。

全長 1079bp の DNA の一方の端（P1）から、688bp～747bp の位置に Sp1 が結合している複合体の AFM 像を図 2 に示す。

図中、DNA 上に塊として見えるのが Sp1 である。図 3 は、図 2 の多くの試料について P1 端から Sp1 の中心結合位置までの距離を、AFM 計測ソフト（NIH Image）を用いて計測し、その分布を示したものである。

このグラフから、P1 端から結合部位の中心までの平均長は 720bp であることがわかった。一方、試料の設計値から予想される中心結合位置は、P1 端から 717bp である。したがって、非常に良い一致を示した。Sp1 は、GC ボックス（GGGCGG）と言う特定の塩基配列（遺伝子暗号）にだけ選択的に結合するので、これらの図から、塊のところとその配列があり、その位置は P1 端から 720bp であることがわかる。このように、特定の塩基配列の有無およびその位置の決定にこの方法は有効である。一方、図 2 の試料では、DNA の両端を区別することがないため、結合位置の決定に任意性が残る。その任意性を解決するためには、

- ・ DNA の片方の端から、タンパク質の結合位置が等しい長さの異なる二種類の DNA の比較
 - ・ DNA の片方の端に目印となるアビジン等のタンパク質を結合した DNA の使用
- を用いばよい。

図 4 に後者の場合を示す。すなわち、P1 端から 270～329bp の所に Sp1 タンパク質を、P2 端にアビジンを標識した長さ 1017bp の DNA 試料の AFM 測定結果を示す。図中のスケールバーは 50nm の長さを表している。鎖端の小さく見えるものがアビジンで、DNA の途中に見える大きな塊が Sp1 である。計測結果から、Sp1 が正しい位置に結合していることが確認された。この画像から、P1

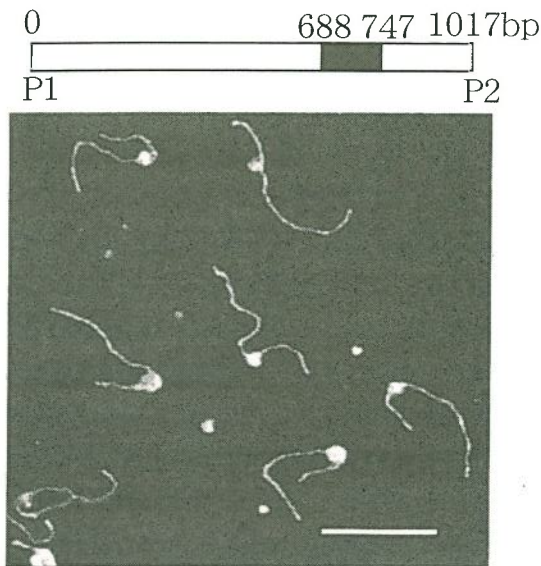


図 2 1017bp の DNA と Sp1 との複合体の AFM 像

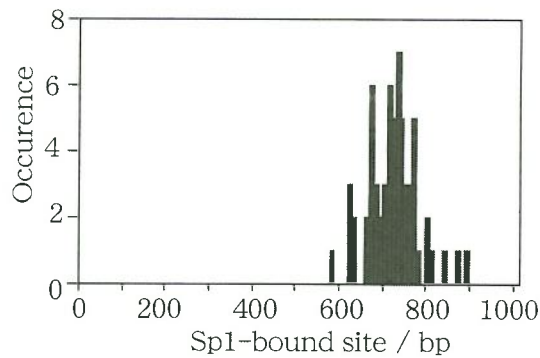


図 3 Sp1 の結合位置

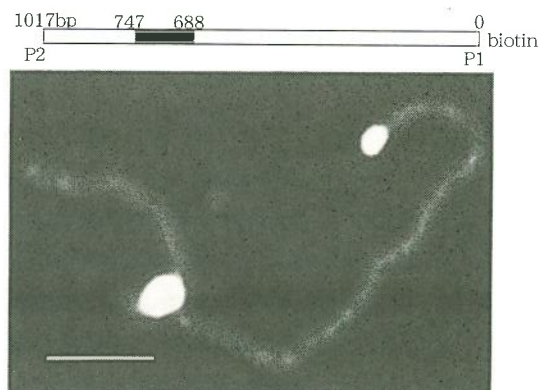


図 4 片側をアビジンでラベルした DNA-Sp1 複合体の AFM 像

端および P 2 端が区別でき、Sp1 タンパク質の結合位置が一義的に決定できることがわかる。

以上より、DNA に特異的に（ある塩基配列部分に）結合するタンパク質を用い、AFM によってその結合位置を計測すれば、その部分の塩基配列が解析できることが判明

した。

5. おわりに

今後、走査範囲を逐次移動させながら AFM 像をとり、自動的に DNA の長さを計測するシステムを構築することにより、さらに現在の 1/10~1/100 程度の極微量試料で、結合力の弱いタンパク質の結合部位を決定できるようになる。したがって、これまで見つけられなかった因子 (タンパク質) を見つけることができる。また、様々な由来の DNA に対し結合の有無を簡単に決めることもできるようになる。さらに、本方法は、今後 AFM の分解能があがると、タンパク質の結合数の決定や結合部位の構造の決定にも用いることができ、生体等の転写や進化メカニズムの解明に多くの情報を提供することが期待される。

謝辞

本稿は、高橋威夫、堀邦夫、谷川雅人、町

田雅之の各氏との共同研究によって得られた成果に基づいている。また、本研究は、アトムテクノロジー研究体 (JRCAT) において、技術研究組合オングストロームテクノロジー研究機構 (ATP) が新エネルギー産業技術総合開発機構 (NEDO) から委託を受けて、実施したものである。

文 献

- 1) Garner, M.M. and A. Revzin (1989) *BioTechniques*, 7 : 346-355
- 2) Galas, D. and A. Schmitz (1978) *Nucleic Acids Res.* 5 : 3157-3170
- 3) Rees, W.A., R. W. Kellar, J.P. Vesenka, G. Yang and C. Bustamante (1993) *Science*, 260 : 1646-1649
- 4) Tanigawa, M., M. Machida and T. Okada, submitted to *Nucleic Acids Res.*
- 5) 岡田孝夫・堀邦夫・林美明 (1996) 応用物理, 65 : 48-53

地域の先端研究

冬咲き性スイートピーの育種

神奈川県農業総合研究所

山元 恭介

冬咲き性スイートピーの品種育成を目的として交雑育種に取り組んだ。品種、系統間交配による F_1 の花色は両親の中間または両親の花色を重ねた感じのものとなった。後代では多様な分離が見られた。開花型は冬咲き性に対し春咲き性が、草型はわい性に対して高性がほぼ優性であった。冬咲き性、高性、白色花の「イースターパレード」と冬咲き性、わい性、赤色花の「ビュー」間で交配を行い、選抜を続けて、花色が既存の冬咲き性品種には見られない淡黄色の品種「アルテミス」を育成した。

1. はじめに

スイートピーはマメ科 *Lathyrus* 属に属する

1 年草で、17 世紀後半にシシリー島で発見された。原種は発蕾、開花に低温、長日条件を必要とする、現在の分類によれば夏咲き性と呼ばれるタイプである。その後欧米で育種が行われ、温度、日長条件に関わりなく開花する冬咲き性、次いで夏、冬咲き性の中間的な

YAMAMOTO Kyosuke

性質を示す春咲き性のものが育成された。

神奈川県は古くからの切り花スイートピーの産地で、大正期に温室栽培が始まった。栽培品種は長年、主にアメリカからの輸入種子の中から選ばれていた。輸入種子は冬、春咲き性の個体を厳密に区別して採種を行っていなかったため、この両タイプが1つの品種の中に混入していた。そのため生産者は予備栽培を行い、苗の形態で実際の切り花生産に用いる冬咲き性個体の割合を検定して種子を購入していた。

1984年には、輸入された主要品種の種子の多くが冬、春咲き性の中間的な性質を示すものとなり、冬咲き性個体の種子の確保が困難となった。これを契機に県下では冬咲き性個体から自家採種が行われるようになり、後の生産者による品種育成への試みの下地となった。ほぼ同時期より新興産地が次々に形成され、産地間競争への対策として、県下でオリジナル品種育成への取り組みが広がっていった。これまでに生産者により育成され主要品種になっているものもいくつかある。このような背景のもとに神奈川県園芸試験場（現神奈川県農業総合研究所）ではスイートピーの育種に着手した。

2. 交配に用いた品種・系統

これまで当所では、品種育成と形質遺伝の法則性の解明を目的として、主に交雑による育種を行ってきた。スイートピーでは、栽培過程で有望な突然変異個体が割合頻繁に出現するため、これらを選抜し育成するのも有効な育種方法であるが、これについては多くの

個体を栽培する生産者が行うのが適当と判断した。

スイートピーの開花型には前述の冬、春、夏咲き性の3タイプがあるが、当所では種子冷蔵や電照処理を行わなくても通常の作型で栽培できる冬咲き性品種の育成を育種目標とした。このため交配母本は冬咲き性品種を主体としてきたが、優良な形質を持ち春咲き性品種と冬咲き性品種との交配も試みた。この他花色が豊富で花形などに特徴を持つ鉢物用のわい性系統も母本として利用してきた。

切り花としての育種目標は、花色に新規性を有し花形がよいこと、花が大きいこと、1花茎の小花数が4、5輪以上であること、小花が花茎にバランスよく着くこと、などである。交配母本とした品種、系統の一部を表1に示した。

3. F₁の形質

各交配組み合わせにより得られたF₁の花色、開花型、草型（高性、わい性）を表2に示した。F₁の花色は、ほとんどの組み合わせで両親の中間色、若しくは両親の花色が重なった感じの色に揃った。白色花を片親としたものでは、白色花×赤色花→ピンク色花、白色花×紫色花→淡紫色花となるなどパステル調の利用可能な花色のものが多く見られた。

開花型は、冬咲き性個体×冬咲き性個体のF₁は1組み合わせを除き冬咲き性個体に、冬咲き性個体×春咲き性個体のF₁は春咲き性個体となった。ただしF₁の春咲き性個体は着蕾節位がやや低くなる傾向が見られ、いくぶん冬、春咲き性の中間的な性質も示した。

表1 交配に用いた品種、系統の形質

開花型	草型	品 種, 系 統 (花色)
冬咲き	高性	アメリカンビューティ (赤), イースターパレード (白), シャーリーテンプル (ピンク), スーパーミッドブルー (紫青), ダイアナ (ピンク, 春咲きもあり), 茅ヶ崎11号 (濃ピンク), マリリン (赤), マンモスラベンダー (淡紫), ミセスタクラスマッカーサー (サーモンピンク), リリー (白)
冬咲き	わい性	ビュー (混色)
春咲き	高性	カルメン (赤), フラッグブルーシュープリーム (青), ロイヤルクリムソン (赤), ロイヤルサーモン (サーモンピンク), ローヤルローズ (濃ピンク)

表2 スイートピーのF₁の形質

交配組み合わせ		着蕾節位 ¹⁾	開花型	旗弁の花色 (JHS カラーチャート)
イースターパレード	×カルメン	45.1 (節)	春咲き	9505 (鮮紫ピンク)
〃	×ダイアナ (春咲き)	46.7	〃	0402 (淡ピンク)
〃	×フラッグブルーシューブリーム	47.9	〃	9214 (赤紫)
〃	×ロイヤルクリムソン	58.0*	〃	9505 (鮮紫ピンク)
〃	×ロイヤルサーモン	49.9	〃	9203 (紫ピンク)
〃	×ロイヤルローズ	63.0*	〃	9503 (紫ピンク)
〃	×アメリカンビューティ	—	冬咲き	9505 (鮮紫ピンク)
〃	×シャリーテンプル	32.0*	〃	0105 (鮮ピンク)
〃	×スーパーミッドブルー	31.0*	〃	8904 (鮮紫ピンク)
〃	×ダイアナ (冬咲き)	24.3	〃 (25/26)	9702 (淡紫ピンク)
〃	×茅ヶ崎11号	51.0	春咲き (1/26)	— 1 (白) 3/19
〃	×ビュー (赤)	36.2	冬咲き	9503 (紫ピンク) 16/19
〃	×ビュー (スカーレット)	25.5	〃	9705 (鮮紫ピンク)
〃	× 〃 (濃ピンク)	27.1	〃	9502 (淡紫ピンク)
〃	× 〃 (淡ピンク)	25.5	〃	9703 (紫ピンク)
〃	× 〃 (濃紫)	22.2	〃	0402 (淡ピンク)
〃	× 〃 (淡紫)	21.1	〃	8905 (明赤味紫)
〃	× マリリン	22.5	〃	8603 (明赤味紫)
〃	×マンモスラベンダー	26.8	〃	9202 (淡紫ピンク)
〃	×リリー	32.3*	〃	8604 (明紫)
〃	×リリー	37.9	〃	— 1 (白)
茅ヶ崎11号	×ロイヤルサーモン	47.7	春咲き	9707 (鮮紫赤)
〃	×イースターパレード	36.2	冬咲き	9503 (紫ピンク)
〃	×ダイアナ	24.5	〃	9506 (明赤紫)
〃	×ビュー (スカーレット)	27.1	〃	9707 (鮮紫赤)
〃	× 〃 (淡ピンク)	24.0	〃	9506 (明赤紫)
〃	× 〃 (濃紫)	25.5	〃	8905 (鮮赤味紫)
〃	× マリリン	24.8	〃	9707 (鮮紫赤)
〃	×リリー	33.1	〃	9202 (淡紫ピンク) 17/21
ダイアナ (冬咲き)	×マリリン	28.0*	〃	9707 (鮮紫赤) 4/12
〃	×M.D. マッカーサー	28.8*	〃	9706 (明紫赤)
M.D. マッカーサー	×ダイアナ (冬咲き)	28.8*	〃	0104 (鮮ピンク)
アメリカンビューティ	×イースターパレード	30.0*	〃	9704 (鮮紫ピンク)
ロイヤルクリムソン	×ダイアナ (冬咲き)	31.3*	〃	9505 (鮮紫ピンク)
		55.0*	春咲き	0107 (鮮紅)

1) *は主枝, 他の側枝の着蕾節位

草型は高性個体×高性個体のF₁は高性個体に, 高性個体×わい性個体のF₁は1組み合わせを除き高性個体となったが, ここでも後者の高性個体は着蕾が低節位で見られるなど, やや中間的な性質を示した。

4. F₂以降の形質

F₂の花色, 開花型, 草型を表3に示した。F₂の花色には各組み合わせとも分離が見ら

れ, 交配親やF₁と類似のものの割合が大きかったが, 全く色調の異なるものや, 斑入りものなども出現した。F₃以降も分離が見られ, これまで完全に花色に固定の見られた系統は紫色花, 淡黄色花などの一部の系統である。雑種でのみ発現すると思われるものもあった。しかし同系色を数代選抜していくことで実用的な利用が可能な程度の分離幅のものは多く得られている。白色花については分離の過程で出現したものの後代はこれまです

表 3 スイートピーのF₂の形質

交配組み合わせ	旗弁の花色 (JHS カラーチャート)	備 考 ¹⁾
イースターパレード×カルメン	0104 (鮮ピンク) 1 個体, 0107 (鮮紅) 4, 2701 (黄白) 2, 2702 (淡緑黄) 1, 9204 (鮮紫ピンク) 1, 9705 (鮮紫ピンク) 3	冬咲き 2 (個体) 春咲き 14
〃 ×ダイアナ (春咲き)	0102 (淡ピンク) 4, 0104 (鮮ピンク) 1, 0106 (明紅) 1, 0402 (淡ピンク) の地に9705 (鮮紫ピンク) の条斑1, 2701 (黄白) 2, 8612 (紫) 1, 8904 (鮮紫ピンク) 1, 9503 (紫ピンク) 1, 9702 (淡紫ピンク) 1, 9704 (濃紫赤) 1	冬咲き 4 春咲き 16
〃 ×ロイヤルサーモン	2701 (黄白) 4, 2702 (淡緑黄) 1, 9503 (紫ピンク) 5, 9705 (鮮紫ピンク) 1	冬咲き 3 春咲き 11
〃 ×ビュー (赤)	0107 (鮮紅) 1, 0406 (明赤) 1, 0708 (濃赤茶) 2, 2702 (淡緑黄) 2, 2901 (黄白) 6, 9505 (鮮紫ピンク) 1, 9705 (鮮紫ピンク) 5	高性 14 わい性 4
〃 × 〃 (濃紫)	0405 (濃ピンク) 1, 2701 (黄白) 5, 8305 (明青味紫) 1, 8603 (明赤味紫) 2, 8604 (明紫) 1, 9208 (鮮赤紫) 2, 9210 (暗赤紫) 1, 9503 (鮮ピンク) 2, 9704 (鮮紫ピンク) 2	高性 14 わい性 3
〃 × 〃 (淡紫)	8903 (紫ピンク) 3, 8907 (濃赤味紫) 1, 9501 (淡紫ピンク) 3, 9504 (鮮紫ピンク) 1, 9507 (鮮赤紫) 2	高性 9 わい性 2
茅ヶ崎11号 ×イースターパレード	2701 (黄白) 7, 9201 (ピンク白) 1, 9202 (淡紫ピンク) 3, 9506 (明赤紫) 1, 9707 (鮮紫赤) 1	
〃 ×ビュー (濃紫)	8605 (鮮紫) 1, 8905 (明赤味紫) 1, 8909 (暗赤味紫) 3, 9504 (鮮紫ピンク) 1, 9707 (鮮紫赤) 4, 9710 (濃紫赤) 9	高性 14 わい性 5
M.D. マッカーサー×ダイアナ (冬咲き)	9505 (鮮紫ピンク) 1, 9703 (紫ピンク) 1, 9705 (鮮紫ピンク) 3	

1) 開花型について記載のないものはすべて冬咲き性
草型について記載のないものはすべて高性

べて白色花となっている。

開花型は、冬咲き性個体×春咲き性個体の交配によるF₂は春咲き性個体と冬咲き性個体に分離し、分離比は春咲き性個体が大きかった。これらのF₃のうち冬咲き性のF₂から採種を行ったものは冬咲き性個体に揃い、春咲き性のF₂から採種を行ったものは春咲き性個体に揃うか、冬咲き性、春咲き性個体に分離した。これらより、開花型に関しては、過去に夏咲き性が冬、春咲き性に対して優性で、冬、春咲き性間には優劣関係はないとする報告もあるが、春咲き性は冬咲き性に対してほぼ優性であると考えられた。

草型は、F₂以降の分離から見て高性がわい性に対してほぼ優性であるという結果を得た。ただし開花型と同様やや中間的な性質の個体も見られたため複数の遺伝子の関与が推察された。

5. 育成品種の育成経過と特性

当所で育成し、現在品種登録を出願中の‘アルテミス’の育成経過を図1に示した。‘イースターパレード’ (冬咲き性、高性、白色花) × ‘ビュー’ (冬咲き性、わい性、混色系統中の赤色花) の組み合わせによるF₁はすべてピンク色花、冬咲き性、高性となった。開花型に関しては後代の個体はすべて冬咲き性となった。F₁個体より採種して得られたF₂の花色はJHS カラーチャートによる分類で7色に分離し、この中に淡黄色花で高性の個体が1個体、わい性の個体が1個体含まれていた。このうち高性個体より採種したF₃の花色は、F₂と同様の淡黄色花に揃い草型は高性とわい性に分離した。花色にはこれ以後分離は見られず、高性個体の選抜を続けたところF₅で草型は高性に揃い、各形質の固定した系統が得られ育成を完了した。

この系統の特性として、花色は既存の冬咲

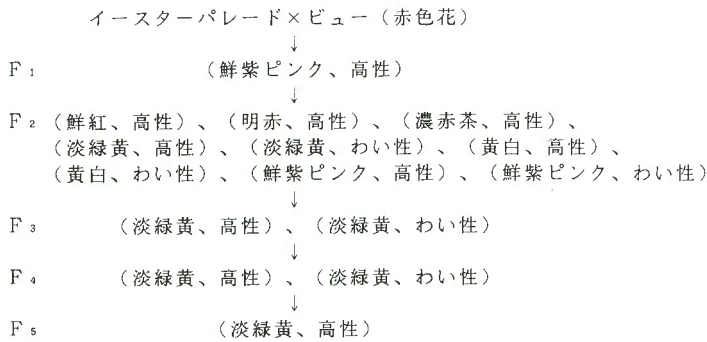


図1 スイートピー‘アルテミス’の育成経過

*（ ）内は旗弁色，草型。

** F₂以降は淡緑黄，高性個体から採種を行う。

き性品種には見られない淡い黄色である。冬期に比べて日射量の多くなる春先に黄色味が強くなる。花形は花卉がきれいに展開するオープン花で，花卉にはややウエーブがかかる。小花数は4輪のものが多く，草勢は春期まで比較的旺盛である。やわらかな色合いは他の色の花と合わせやすく，やさしい感じの花束やテーブルデコレーションとなり，利用場面は広いと思われる。

6. 今後の方向

現在育成中の優良系統についてはさらに選抜を続けて固定を目指す。

新たな交配母本として，最も種類が多く，冬咲き性にはない花の形質や，強健性，耐暑性を有する夏咲き性品種，系統を収集している。これらの中の優良な形質を維持して，開花型が冬咲き性の系統を作出するために，冬咲き性品種との交配を行っている。またこれまで，スイートピーと他の *Lathyrus* 属の種間交雑により新たな雑種植物が作られ利用されている例はない。現在この属のものを収集して形質調査を行うとともに，交雑親和性の検討に着手している。これらの中から優良な形質をスイートピーに取り込むために，今後は胚培養なども試みる必要があると思われる。

前述のように，品種間交配による F₁ では，パステル調の利用可能な花色のものが多く見られた。F₁ 種子を効率的に採種する技術を



図2 育成品種‘アルテミス’

開発することにより多様な F₁ 品種を利用することができる。この他，選抜の過程ではしばしば花色などに既存品種に見られない有望な特性を持つ，固定が困難な雑種個体が出現する。これら雑種有望個体を栄養繁殖により利用するシステムの開発も試みるべきと思われる。

スイートピーでは，これからも交雑育種は有力な育種手法であると考えている。今後は遺伝子レベルの解析に取り組み，またバイオテクノロジーなどの新しい技術も取り入れながら効率的な品種育成を目指したい。

文 献

- 1) 林勇・大川清・山元恭介 (1986) 神奈川県園芸試験場研究報告, 33: 36-44
- 2) Ross, J.J. and I.C. Murfet (1985) *Annals of Botany*, 55: 715-726
- 3) 山元恭介 (1993) 神奈川県園芸試験場研究報告, 43: 83-90
- 4) 山元恭介 (1994) 神奈川県園芸試験場研究報告, 44: 15-19

文献情報

リュウキュウアユを救え

商業捕鯨が全面禁止になってひさしい。このおかげで、資源的枯渇が叫ばれていたクジラ類は着実にその資源量を増やしている。これは人類が自然界に対して配慮をなし、それが功を奏した一例である。一方で人為的なものによる生息環境の悪化などで絶滅に追いやられた生物種は、ニホンオオカミなど有史以来多数にのぼる。また、今まさに絶滅の危機に瀕している生物種も少なくない。リュウキュウアユも近年の河川環境の悪化により資源の枯渇が危惧されている生物種の一つである。

アユの分布は、単一種としては意外と広く、日本もふくめたユーラシア大陸東岸の各地にわたっている(西田1990)。その分布域内で、アユは変異のあることが知られているが、特に、奄美大島、沖縄本島を中心とした琉球列島に生息するアユは、他の変異に比べて、著しい特異性を有することがわかってきた。その特異性は、形態的には、胸鰭の鰭条数の値にみてとられ、奄美以北に生息するアユでは通常14であるのに対して、リュウキュウアユでは12前後で、平均して2本少ない傾向にある。また、ウロコも奄美以北に生息するアユに比べて若干大きく、側線に沿って並ぶウロコの数等が少ない傾向にあることが明らかになっている(Nishida 1986)。また、その特異性は、アイソザイムにも存在し、遺伝子座における遺伝的差異については、Gpi-2, Idh-1, Ldh-2, Sod, Pgm 遺伝子座において奄美以北に生息するアユとリュウキュウアユの間で遺伝子の置換がおこっていることが解明された。このようなデータをもとに琉球列島を中心に生息するアユは、亜種リュウキュウアユ *Plecoglossus altivelis ryukyuensis* として記載され(Nishida 1985)、奄美以北のアユ *P. a. altivelis* と区別された。また、*P. a. altivelis* と *P. a. ryukyuensis* の遺伝子座の対立遺伝子頻度データにもとづき算出された遺伝子距離の値から、生物地理学的知見

も得られている(関ら1988)。琉球列島は、更新世初期に日本列島と、更新世中期に中国と地理的つながりを絶って以来、つながりをもつことはなかったと考えられている。*P. a. ryukyuensis* はこの時期に地理的隔離を受け、独自の分化をとげたと考えられる。遺伝距離の値から推定される進化時間は上記のような琉球列島誕生の時期に合致しているのである。

このように、著しい特異性をもつリュウキュウアユも、近年の分布調査で(西田ら1992)唯一生息が確認されたのは奄美大島だけであった。その奄美大島においても、その分布は南部の河川に限られており(Nishida 1994)、島内においても、その分布は徐々に狭まってきているようである。同時に奄美大島内におけるリュウキュウアユ集団の遺伝的分化に関する調査も行われており、島南部東西2地域に不連続に分布する2集団は、28遺伝子座中2遺伝子座で差異が認められている。西田らが推測するように、本亜種の資源は、沖縄での急速な資源量低下の例からも、大変厳しい状況に置かれているという認識を改めて再確認しなければならない。上記の調査のなかで、奄美大島における資源構造の主幹をなしているのは島南東部に生息する遺伝集団であり、この種族の分布する河川水系の徹底した環境維持、保全を図らねばならず、また小集団である島南西部種族についても十分な対策を講じる必要があるであろう。また、人為的な資源の補給に際しても島内における遺伝的多様性を十分に考慮することが重要と考えられる。

(抄訳 清木興介—マルハ中研)

(SEIKI Kousuke)

西田睦

アユの分布とリュウキュウアユ,
水産増殖, 38(2) 200-203 (1990)

Nishida, M.

Geographic variation in the molecular, morphological and reproductive characters of the ayu *Plecoglossus altivelis* (Plecoglossidae) in the Japan-Ryukyu

Archipelago. Japan. J. Ichthyol., 33 : 232-248 (1986)

Nishida, M.

A new subspecies of the ayu, *Plecoglossus altivelis*, (Plecoglossidae) from the Ryukyu Islands

Japan. J. Ichthyol., 35 : 236-242 (1988)

Nishida, M.

Genetic differentiation in populations of the Ryukyu-ayu *Plecoglossus altivelis* ryukyuensis on Amami-oshima Island

Japan J. Ichthyol., 41 : 253-260 (1994)

西田睦ら

リュウキュウアユの分布と生息状況—1986年の調査結果—

日水誌, 58 : 199-206 (1992)

関伸吾ら

日本及び韓国の天然アユ集団間の遺伝的分化

日水誌, 54 : 559- 568 (1988)

文献情報

分化した細胞由来の クローンヒツジ

成体の体細胞由来のクローンヒツジが生まれた。この成功は新聞やテレビで大々的に報じられたのでほとんどの方はご存じと思われるが、常識をくつがえすような報告であるのであえてここに取り上げた。今回の成功を報告した Wilmut らは、以前にヒツジ胚から全ての細胞型に分化できる全能性を保持した細胞株を樹立し、その培養細胞の核移植を行ない哺乳類の産子を得ることに初めて成功した、Campbell らと同じ研究グループである(本紙57号参照)。テレビ等では体細胞由来のクローンヒツジのみを取り上げているが、今回の報告は以前の研究をより発展させた報告であり、一連の研究では合計8頭の産子が得られている。今回の特徴の一つは用いた培養細胞にあり、3種類の新しい培養細胞をもちいている。また、成功の鍵とも言えるもう一つの特徴は、これらの細胞をG0期の状態にした後、核移植にもちいたことである。

3種類の培養細胞の由来は、妊娠9日齢の着床前胚、妊娠26日齢の胎子、そして6年齢の成体の乳腺からそれぞれ得ている。胚由来の培養細胞は、ポール・ドーセット種の妊娠9日齢の胚盤を培養して得られたコロニーを継代培養した。継代8回目で染色体数を検査し、核移植には継代7~9回のもをもちいた。この細胞はマウスのES細胞や彼らが以前に報告したヒツジの培養細胞とは、形態的に異なっていた。胎子由来の細胞は、ブラック・ウェルシュ・マウンテン種の妊娠26日齢の胎子の細胞をトリプシン処理し、播種した。得られたのは繊維芽細胞様の細胞であり、継代4回目で染色体数を検査し、核移植には継代4~6回のもをもちいた。成体由来の細胞は、妊娠後期のフィン・ドーセットの6年齢の乳腺の細胞から得た。継代3および6回目で染色体数を検査し、核移植には継代3~6回のもをもちいた。核を移植する卵母細胞は、スコティッシュ・ブラックフェイス種より採卵した。卵母細胞の核を除去し、これに血清飢餓条件でG0期に停止させた培養細胞の核を移植した。除核卵母細胞と培養細胞核の融合、および卵母細胞の賦活化を電気刺激で行なった。得られた再構築胚は6日間培養し、桑実期/胚盤胞期に発生した胚をレシピエントのヒツジに1頭あたり1~3個移植した。移植後に妊娠診断を超音波装置で行なった。その結果、21頭の妊娠がみられ、8頭の産子が得られた。得られた産子はそれぞれ、胚の細胞由来より4頭、胎子繊維芽細胞様の細胞由来より3頭、成体の乳腺細胞由来では1頭であった。胚の細胞由来より得られた4頭のうち2頭は帝王切開で生まれ、胎子繊維芽細胞様の細胞由来より得られた3頭のうち1頭は産後数分で死亡したが、検査結果に異常は認められなかった。妊娠期間は148~156日で、通常の妊娠期間よりやや長かった。一方、体重は通常の出生時の範囲内であった。

この研究では、すでに分化した細胞からクローンの作出に成功した。これまでの研究では、樹立した細胞株が全能性を保持しており、かつ、初期発生における胚ゲノムの活性化を再現できる細胞であることが大きな要因であ

った。しかしながら、今回もちいた細胞は大きく異なっている。胚由来の細胞ではこれまでのES細胞とは異なる形態的特徴をもち、胎子由来の細胞は繊維芽細胞様であった。さらに乳腺細胞は成体由来である。彼らは核移植におけるドナー細胞と、レシピエントとなる卵母細胞の細胞周期を重要視している。この研究では、ドナー細胞にG0期の細胞を、レシピエントとして卵母細胞を、それぞれもちいた。彼らは、G0、G1期のドナー細胞が卵母細胞の細胞質内に存在する再プログラミング因子に深くかかわっている可能性があるとして述べている。そして、今回のように分化し、すでに全能性や多分化能をもたない細胞から産子が得られたのは、核の全能性の維持を重視したのではなく、ドナー核がレシピエント卵子内で胚発生の再プログラミングを始動させ、正常な胚発生を進行させながら、最終的な個体発生を誘導できるかを試み、成功したといえる。今後、生殖細胞や体細胞の分化能と細胞周期の関係が哺乳動物胚の初期発生にどう関わっているのか解明されていくことが期待される。

(抄訳 松本浩道—東北大農)

(MATSUMOTO Hiromichi)

Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells

Wilmut, I., A.E. Schnieke, J. McWhir, A.J. Kind and K.H.S. Campbell

Nature, 385 : 810, 27 February, 1997

An udder way of making lambs

Stewart, C.

Nature, 385 : 769, 27 February, 1997

文献情報

メチルサリチル酸による 自己・他個体に対する 抵抗性のシグナル伝達

メチルサリチル酸 (MeSA) は一般にヒメコウジ (北米産の常緑樹) 油として知られている揮発性の液体であるが、これはヒメコウジ以外の様々な植物においても広く見いだされる。MeSA は全身獲得抵抗性 (SAR) を

引き起こす際のシグナル分子と推定されているサリチル酸 (SA) と構造的に類似している。タバコにおいて SA は、近距離の組織には維管束を経て移行するが、遠距離な器官へは直接移行せず、他の物質によってシグナル伝達された後にその器官で SA が生合成され、SAR を引き起こすと推定されている。一方、MeSA は揮発性の成分であるために空气中を拡散して移行できることから、タバコにおける SAR の発現との関係について興味を持たれた。

筆者らは N gene を持つタバコ (Xanthine) に、TMV を接種し、その後の MeSA の挙動について調査した。培養5週間目のタバコの第2葉に TMV を接種し、24°C で観察したところ、接種後48時間から MeSA が検出されはじめ、84時間で最大量 (22ng/h) に達しその後減少した。この時、タバコ葉が産生する揮発性分のうち MeSA は最も多量な成分として検出された。MeSA 量の上昇は、過敏反応による病斑形成とも平行関係にあったことから、MeSA は SAR に関与しているのではないかと考えられた。一方 TMV を接種後、32°C で48時間処理してから24°C に戻し、全身感染を引き起こさせたタバコを用いて MeSA の検出を行ったところ、32°C で処理していた48時間までは MeSA は検出されなかった。しかし、24°C に植物体を移すと MeSA の検出量が急増し、24°C に移行後60時間目では283ng/h と、32°C の処理を温度処理を行なわなかった個体に比べて10倍以上の値を示した。

MeSA と SAR の関係についてより詳細な検討を行うため、様々な濃度で MeSA を含んだ密閉容器中で培養5週間目のタバコを6日間育て、SA 濃度、TMV に対する抵抗性、SAR の指標となる PR-1 の転写量について検討を行った。密閉容器中の MeSA の濃度がわずかに2.5 $\mu\text{g}/\text{l}$ で、SA 量はもともと内生的に存在している量の1.5倍に、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ では250倍と MeSA の濃度に依存して増加した。TMV に対する抵抗性に関しても同様に、MeSA が6.25 $\mu\text{g}/\text{l}$ では病斑直径が25%、250 $\mu\text{g}/\text{l}$ では75%縮小した。さらに、SA 量の増加と TMV に対する抵抗性の増加は、

PR-1の転写量とも相関関係が認められた。MeSAはTMV接種葉で大量に生合成されることから、接種葉近傍の器官にSARを引き起こす空気伝搬性のシグナルとして機能している可能性が示された。

更に、筆者らは遠距離の器官に対するシグナル伝達に関して検討するため、TMVを接種したタバコによって放出されるMeSAの量と、放出されたMeSAが離れたところにある健全タバコに与える影響について実験を行った。培養5週間目のタバコにTMVを接種したもの（Donor）と健全タバコ（Recipient）をそれぞれ密閉容器に入れ、MeSA等の揮発性成分をトラップするカラムを介してDonor側からRecipient側に空気が流れるようにしたものと、カラムをつけないものの2種類を作成し、タバコを3日間培養した。3日目、Donor側をTMVを接種した別のタバコに交換して、更に3日間培養し、Donor側の接種葉、Recipient側の健全葉の両方に関してPR-1の発現を検討した。Donor側がMock接種の場合には、Donor、Recipient両方いずれとも、PR-1の発現は見られなかった。一方、TMVを接種し、24°Cで培養した場合、Donor側だけでなく、MeSAをトラップするカラムを介していないRecipient側のタバコでもPR-1の転写が観察された。また、Donor側に接種後32°Cで処理した後24°Cに移した個体を用いた場合、カラムを通さないRecipientから温度処理をしなかったDonorを用いた場合より多量のPR-1が検出された。前述のように、温度処理によってタバコからのMeSAの放出量が増大することから、独立したタバコ個体間であっても、TMVを接種した個体の放出するMeSAの濃度に依存して、健全個体にもPR-1が誘導されると考えられた。カラムを介してMeSAを除去したものは、いずれにおいてもPR-1の転写が見られなかった。Recipient側のTMVに対する抵抗性について検討を行ったところ、Donor側がMock接種の場合、カラムの有無に関わらず形成された病斑の大きさに差は見られなかったが、TMVを接種した場合、カラムを介さない

Recipient、Mock接種に比べ病斑の大きさが28%縮小した。

MeSAの生産量は葉中のSAレベルと比例関係にあり、構造的にも両者が類似していることから、筆者らはタバコ葉中においてSAからMeSAが合成されると予想し、以下の実験を行った。培養5週間目のタバコの十分展開した中葉を¹⁴CでラベルしたSAに浸漬し、密閉容器に入れ、中の空気をMeSAを吸着するカラムを通し、¹⁴CでラベルされているMeSAの割合を調べたところ、99%が¹⁴Cでラベルされていた。更に、合成されたMeSAが最終的にタバコ体内でどのように代謝されるのかを知るために、培養5週間目のタバコを¹⁴CでラベルしたMeSAを含む密閉容器中で48時間培養し、その葉に含まれるSAのラベルされた割合を調べたところ、その93%がMeSAから合成されたものであった。このことから、タバコ葉中には、SA ⇄ MeSAという両方向の代謝経路が存在していると考えられた。

以上のことから筆者らは、MeSAは揮発して感染部位から離れている器官や、あるいは別の植物体にSAの移行を仲介し、SARを引き起こす空気伝搬性のシグナルとして機能すると考察している。またSARは接種葉からみて下位葉よりも上位葉で顕著であるのは、MeSAが揮発性であり上位葉に向かって作用するためであると筆者らは考えている。本実験では密閉容器を用いて行った実験であり、自然界でこのように健全植物と感染植物のあいだでシグナル伝達が起こりうるかについては不明であるが、耳目がない植物が自分の周りに起こっている危機を察知するための何らかの手段を持つ可能性を持っていることは非常に興味深い。

(抄訳 佐々木 厚子—東北大農)

(SASAKI Atsuko)

Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance

Shulaev, V., P. Silverman and I. Raskin
Nature, 385 : 718, 20 February, 1997

海外だより

アラビドプシスのうどんこ病抵抗性の解析

——カーネギー研究所での2年間——

農林水産省 農業生物資源研究所

西澤 洋子

1. はじめに

1994年12月より2年間、サンフランシスコ近郊にあるカーネギー研究所 (Carnegie Institution of Washington, Department of Plant Biology) に滞在する機会を得ました。カーネギー研究所は、鉄鋼王として知られた Andrew Carnegie 氏が1902年に設立した非営利目的の基礎研究所です。その本部はワシントン D.C. にありますが、植物部門は活気あふれるシリコンバレーの中心地、スタンフォード大学構内にあり、各研究スタッフは当大学の教授職を兼ねています。私が滞したのは Shauna C. Somerville 博士の研究室で、そこでアラビドプシスが持つうどんこ病抵抗性遺伝子の単離を試みるとともに、感染に伴って発現量の変化する新規の遺伝子の探索に携わりました。本稿では、滞在中に行った研究の一部をはじめ、感じたことなどを述べてみたいと思います。

2. なぜアラビドプシスのうどんこ病か

うどんこ病とは、その名の示すとおり、葉面などにうどん粉をふりかけたような病徴を示す子の菌類による病気で、その発生は、ムギ類をはじめ、ナス科、アブラナ科、ウリ科、マメ科、バラ科など広い範囲の植物で報告されています。オオムギやコムギのうどんこ病は、特に欧米において古くから研究され、オオムギでは85以上のレース特異的抵抗性が

同定されてきました。しかしながら、その病原菌である *Erysiphe graminis* が絶対寄生菌であるため取り扱いが容易でないこと、オオムギ、コムギのゲノムサイズが大きいこと、効率のよい形質転換系が確立されていないことなどから、これら抵抗性を支配する遺伝子の単離が難しい状況にあります。S.C. Somerville 博士の研究グループも、近同質遺伝子系統を用いてゲノムサブトラクションを行っていましたが、抵抗性遺伝子の単離には至りませんでした。その頃、カリフォルニア大学サンタクルツ校において分離されたアラビドプシスのうどんこ病菌の分譲を受け、詳細な感染過程の観察から、本菌は *Erysiphe cichoracearum* と同定され、子の胞子は形成しないものの、その形態、感染速度がオオムギにおける *E. graminis* とほぼ同じであることがわかりました。以後、オオムギのうどんこ病抵抗性遺伝子単離のためのモデル系としての、アラビドプシスのうどんこ病抵抗性の解析へと研究室の主な研究対象がシフトしました。

3. うどんこ病抵抗性遺伝子の単離に向けて

オオムギで何十年にわたって行なわれてきた抵抗性遺伝子の同定を、アラビドプシスの特性を生かして約2年間で行うという歴史の早送りのような研究の結果、6種類のエコタイプ (accession) から抵抗性遺伝子が同定され、うち5個 (*RPWI*~5) が染色体上にラフにマッピングされました (表1)。私を含めた3人のポストドク達に抵抗性遺伝子が1個ずつ割り振られ、positional cloning に向けた

NISHIZAWA Yoko

表1 アラビドプシスにおいて同定された
うどんこ病抵抗性
(文献1より引用改変)

accession loci	座乗染色体	遺伝様式
Wa-1 one (RPW 2)	III	優性
Kas-1 one (RPW 1)	II	優性
Stw-0 one (RPW 5)	V	優性
Su-0 one (RPW 4)	IV	優性
Te-0 one (RPW 3)	III	劣性
SI-0 two		劣性

精密マッピングが開始されました。私が担当したのは、エコタイプ Te-0 で見つかった RPW3 という遺伝子で、これは抵抗性遺伝子には珍しく、劣性遺伝します。劣性遺伝するうどんこ病抵抗性の例としては、菌の生育を吸器形成前に抑制し、付着器下の細胞壁の厚化がおこる、オオムギのレース非特異的抵抗性 *mlo* があります。RPW3 が *mlo* homologue であることが期待されたわけですが、実際は、Te-0 の示す抵抗性は過敏反応のような菌の侵入を完全に阻止するタイプではなく、菌の生育は不良ながら分生子の形成を許す、つまり病徴が現れる程度のものでした。Te-0 と罹病性エコタイプの Col-5 を交配させた後代における抵抗性は環境条件によって左右され、検定結果から遺伝子型を判定することが極めて困難でした。この傾向は、Te-0 より強い抵抗性を示す他のエコタイプにおいても認められ、recombinant inbred line あるいは近同質遺伝子系統を使った抵抗性検定が必要であると考えられ、これらの作製は現在も進行中です。いずれにせよ、現状では、アラビドプシスを宿主とする *E. cichoracearum* は1株しか報告されていないため、これまでに同定された抵抗性遺伝子がレース特異的かどうか、すなわち、Flor が1971年に提唱した gene-for-gene 説に当てはまるものかどうかは全くわかりません。人為的に長い年月を経て作られてきた重要作物と違って雑草であるアラビドプシスでは、病原菌側の分化もさほど起こっていないであろうことから、その抵抗性機構はオオムギなどと単純に比較できるものではないのかもしれま

せん。

一方、近年、gene-for-gene 説に当てはまる抵抗性遺伝子がトマト、タバコ、アラビドプシス、イネなどから続々と単離されてきました。それらの遺伝子の多くが leucine-rich repeats (LRR) を含むタンパク質をコードしているため、アラビドプシスのうどんこ病抵抗性遺伝子も LRR を含んでいる可能性が考えられます。アラビドプシスでは、YAC クローンの染色体地図上へのマッピングが精力的に進められているため、LRR を含む YAC クローンを PCR などと同定することにより、ただちに、LRR を含む遺伝子の染色体上の位置がわかるようになってきました。うどんこ病抵抗性遺伝子も LRR を含んでいるという仮定のもと、こうしたアプローチもなされていますが、滞在中、既に50以上の LRR を持つクローンがマッピングされ、どれが本物かどうかを絞り込んでいくには、やはり精密マップが重要になります。

4. 新規の感染時発現遺伝子の検索

1995年、スタンフォード大学の研究グループによって、スライドグラス上に種々の cDNA を96ドットうち、蛍光標識した mRNA を使って発現量を感度良く解析する技術 (通称 DNA chip) が開発されました (文献2)。うどんこ病菌は吸器を通して宿主の表皮細胞から栄養を摂取しますが、吸器形成に必要とされる植物側の物質についてはほとんど知見がありません。また、異なる抵抗性において、どんな遺伝子がどのような挙動を示すかも明らかになっていません。そこで、10,000以上の EST クローンの利用が可能なアラビドプシスの利点と、DNA chip 技術を生かして、感染過程のさまざまな時期や種々の抵抗性エコタイプから抽出した RNA を使った解析プロジェクトが開始されました。前実験として、吸器形成に関わっているかもしれない100近くの EST クローンをノーザン分析したところ、これまでに知られている PR タンパク質遺伝子以外のいくつ

かの遺伝子発現が、感染に伴って誘導される
ことが明らかになりました。感染過程におけ
るこれらの遺伝子の機能解析が今後の課題で
す。

5. その他雑感

研究室で仕事を始めるにあたって最初にし
たことは、ひと揃いのピペットマンを見つけ
だすことと、それらの修理でした。試薬会社
と機器メーカーの区別もつかないうちに、い
ちばん安く入手できる店をみつけて伝票を出
す仕事、次々に故障するグロースチャンバ
ー類への対応、短期間でやめていくラボアシ
スタントの指導等々、アメリカではテクニシ
ャン制度が充実していると聞かされて渡米し
た身にとって、現実にはショッキングなほどで
した。小規模な研究所であるうえに、植物関係
の研究予算カットの状況下では仕方のないこ
ともかもしれません。ただ、感心したのは、問
題点を放置せず、意見の言える雰囲気をお

にしながら、積極的に問題解決に向けて行
動する所員の姿勢でした。また、教授、学生
に関係なく、そのもとを訪れた研究者のセ
ミナーを開催し、他のメンバーが交流でき
る機会を設けるやり方は大変参考になりま
した。

その他、国を越えた人間性の問題ですとか、
新聞やテレビから受けるアメリカ像が、ほん
の一部の人の見方を反映したものに過ぎない
ということを実感するなど、この2年間、日
本にいては持てなかったであろう、本当に貴
重な経験をいろいろさせていただきました。
最後になりましたが、この在外研究を実現さ
せてくださった多くの方々に、この場を借り
て厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Adam, L. and S.C. Somerville (1996)
The Plant J., 9: 341
- 2) Schena, M. et al. (1995) *Science*, 270:
467



衛星リモートセンシングの農業活用

(社)日本農村情報システム協会 マルチメディア研究室
高野 充

軍事技術の規制緩和により、リモートセンシングも商用化の時代を迎えようとしている。商用化により、高解像度衛星データの入手が可能となり、多方面での活用が期待されている。このことは、日本の農業においても同様で、農業・農村の活性化のための戦略的な農業経営の実現、および効率的な資源管理の実現に向けた有効活用が求められている。

1. はじめに

近年、地球環境資源の保護・管理が世界的規模で叫ばれるようになり、そのためのツールの一つとしてリモートセンシング技術が脚光をあびており、世界各地の資源探査等に活用されている。

リモートセンシング技術の活用には、広範囲の情報を一度に短期間で把握したり、人跡未踏の地の情報も容易に把握できるなどの長所があるが、人工衛星を利用しなければならないため、情報入手に高額な費用が必要であった。

しかし、東西冷戦の終結に伴う軍事技術の規制緩和によりリモートセンシング技術の商用化が実現し、より高精度で安価な画像データの取得が可能となりつつある。

ところで、日本の農業は国内外の厳しい諸情勢により、環境資源情報の把握の重要性が増加しつつある。農地や農作物のモニタリングを行い、農業環境資源の実態把握をし、農業の効率化、活性化に向けた情報の有効活用が迫られている。

そこで、農業・農村の活性化に向けて、地域に存在する農作物等の多くの農業環境資源情報を、リモートセンシング技術を用いて収集・蓄積・分析することにより、21世紀へ向

けた強い農業を目指した戦略的農業展開への活用を図る必要がある。

2. リモートセンシングとは

リモートセンシングとは、航空機や人工衛星などの飛行体で地表の電磁波を収集し、地表の状態を知る技術である。地表を二次元で観測し、電磁波の波長を幾つかの波長帯に分け(多バンド)、情報を収集している。

衛星によるリモートセンシングは、1960年に米国で実験用気象衛星 TIROS-1の打ち上げによりスタートした。さらに、1972年に米国で LANDSAT-1が打ち上げられ、本格的なリモートセンシングが開幕した。LANDSAT-1の打ち上げから20年程しか経過していないが、その間に種々の衛星が打ち上げられ今日に至っている。

1992年の米国連邦会議におけるランドサット法の改正で、高解像度衛星画像データの取得が可能となり衛星画像データ提供の商用化が可能となった。

高解像度リモートセンシング技術の主なものには、地表観測(画像)の細かさを識別する高空間分解能と地表からの光の反射(スペクトル)の違いを識別する高分光分解能、そして衛星画像を入手するまでの周期を短縮する高時間分解能がある。

高空間分解能、および高時間分解能を取り入れた 3m 高分解能衛星が1997年に、1998年

には0.8m 高分解能衛星が、また高分光分解能、および高時間分解能を取り入れた超多スペクトル衛星が1997年に打ち上げられる予定である。

これら高解像度衛星からの高精度データの取得により、リモートセンシング画像を基にして地図の作成や更新、農業環境資源状況の詳細把握が可能となるため実用化が大いに期待されている。

また、リモートセンシング技術を用いたデータの収集・更新時の、単位面積当たりの情報コストの安さが衛星データの特徴で、情報入力コストの引き下げに寄与するものと考えられている。

さらに、衛星データは、同一センサで広域をほぼ同時にカバーすることが可能であり、高密度かつ均質なデータ収集が行える。赤外線やマイクロ波など可視光線以外の波長を認識するセンサにより、植生指数やバイオマス量に関する情報、地表面温度など、従来の地上調査では難しかった情報を得ることができる。

時には、観測時の大気状態の違いなどで、衛星データから物理量の絶対値を求めることが困難な場合でも、地点間の相対的な比較による情報の収集がある程度可能である。

3. リモートセンシングの利用

海外では、国土環境の違いや調査資料の不備等から、農業分野でリモートセンシング技

術が多岐にわたって利用されており多様なニーズが存在する。

例えば、将来の食糧動向の予測や農業生産力の把握、河川流域の農業開発計画調査や海岸地域農村の開発計画調査などである。

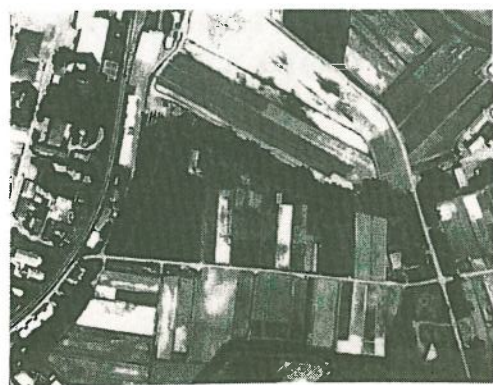
しかし、国内の農地は、狭隘で入り組んでおり、農業分野では、北海道など一部の地域を除いては、リモートセンシング技術が実用システムとして日常的に用いられている事例はまだなく、高解像度リモートセンシング技術の有効活用による取り組みが期待されることである。

高解像度リモートセンシング技術の活用例として考えられることを以下に述べる。

高空間分解能、および高時間分解能を取り入れた高分解能衛星で、0.8m～3mの精度で撮影された画像が高頻度で入手可能となることから、地形図に代わる背景用等の写真としての利用が考えられる。

また、写真としての利用を一步進めて、衛星画像を基にした人工物・地物の輪郭抽出がある。

高分解能衛星で撮影された画像から、輝度値、形状等の特徴を基にして、土地の区画、道路、建物などの情報を線として抽出し、地理情報を作成する。また、衛星が移動しながら同一地点を異なった角度で撮影した2枚の画像を用いて、空中三角測量の原理により地点ごとの高さ情報を取得することができるため、標高データの作成も可能である。

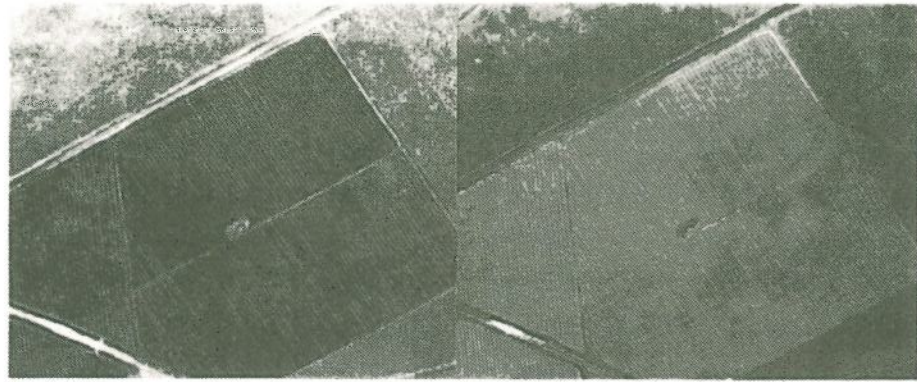


シミュレーション画像 (分解能0.8m)



輪郭抽出結果

図1 衛星画像からの人工物・地物輪郭抽出事例



自然色表示例

裸地を青、作物を赤に色分け表示した例

図2 超多スペクトル衛星による作物状況識別事例（シミュレーション画像）

これらの技術により、高分解能衛星で撮影された画像を基にした、地図データの作成が考えられる。

地図データは、地形・地物が時間の経過とともに頻りに変化しているため、それに合わせて修正していく必要がある。

そこで、高精度で撮影された高分解能衛星画像を時系列に蓄積しておくことにより、画像中で変化のあった部分の認識が可能となるため、この部分を限定して抽出することにより、地図更新データの効率的な作成作業が可能となる。

一方、高分光分解能、および高時間分解能を取り入れた超多スペクトル衛星では、空間分解能（30m）は従来のものと変わらないが分光分解能は384バンド（従来は、最大7バンド程度）と高精度のため、取得可能な情報量が大幅に増加し、きめ細かな状況の把握が可能となる。

そこで、植物、作物等の成育過程における光の波長成分を分析して、植物、作物の種類別にそれぞれ固有の波長成分の特徴を蓄積しておく（フィンガープリント）ことにより、撮影された衛星画像の光の波長成分と照合し、植物、作物の種類別に作付け状況を認識し、

色分けして表示することができる。

また、撮影された画像の光の波長から、葉緑素の光成分などを抽出し、フィンガープリントとの照合により、植物、作物の生育状況を推定することが可能で、結果は色分けして表示する。

その際、生育不良が見つかったと、病虫害等の原因となる事象の推定を含めて認識することが可能である。

この他にも市町村の農業情報センターでは、農家における圃場管理、作付け履歴による営農計画の策定、地力に合わせた土壌改良、連作障害の防止などに、農協や農業改良普及センターでは、的確な営農指導、農業振興計画などの作成に向けた高解像度衛星画像データの有効活用が考えられる。

4. おわりに

高精度で安く、しかも迅速に高解像度衛星画像が入手可能となるのも時間の問題と思われる、農業環境資源を正確に把握し農業振興に役立てるという面から、今後の有効活用が大いに期待される。

写真提供：㈱日立製作所

編集後記

本誌は奇数ページでは右側、偶数ページでは左側の欄外が広く空いています。最初編集を担当したとき、ちょっと奇異に感じたり、あるいは斬新な感覚なのかなとも勝手に思っていました。ところが編集をやってみますと、この余白が意外に便利なのです。図はある程度縮小しても結構見られるのですが、表はあまり縮小すると字が小さく詰まって読みにく

くなり、恰好もよくありません。こんな場合例の欄外余白に少しはみ出すことによって縮小度を抑えますと、格段に読みやすく、恰好もよくなります。毎号この欄外余白を利用させて貰っています。その度に「創刊準備号」（創刊号の前に関係方面のご意見を聞くために作られました）を作られた方々の見とうしとセンスの良さに感謝しています。（大畑記）

ブレインテクノニュース（第61号）

平成9年5月15日発行

発行者 眞木秀郎

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