

CODEN : BTEEEC

TECHNO NEWS

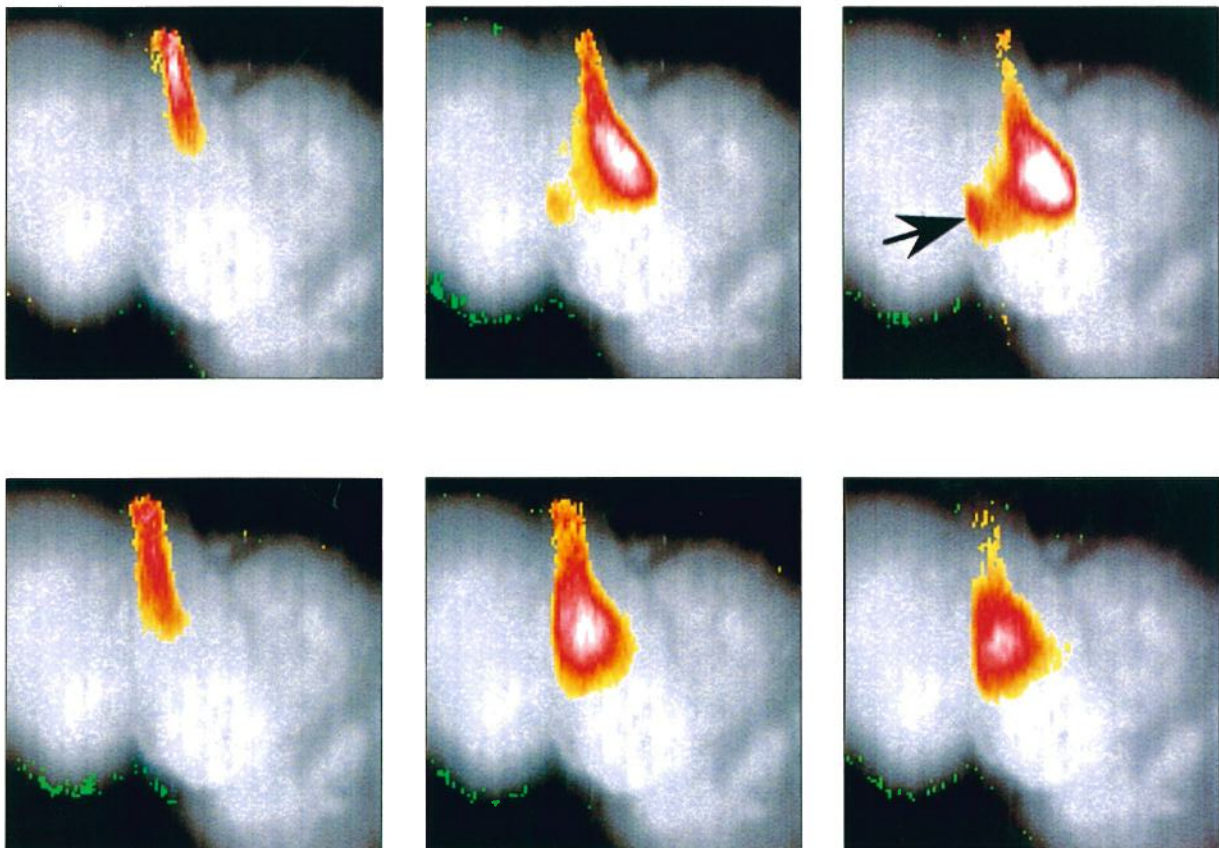
〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

第 69 号

BRAIN
Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

SEPTEMBER 15, 1998



脳神経活動の光学計測法による可視化。カイコガの脳を膜電位感受性色素で染色し、触角神経を電気刺激することにより現れる脳内での神経活動の伝播。この手法により、昆虫の脳神経活動の時空間パターンの解析が可能となった。(本文1ページ参照)

総 説

下山 勲・神崎亮平

昆虫の生体機能に基づくバイオマイクロマシンの研究…………… 1

国内情報

小松敏憲・E. A. Brisibe・高溝 正・蝦名真澄

アンチセンス CAD 遺伝子のマメ科牧草アルファルファへの導入…………… 5

矢野昌充・西野輔翼・大東 肇・小清水弘一・村上 明

カンキツ成分 (β -クリプトキサンチンとオーラプテン) の発がん抑制効果…………… 7

萩尾高志

パーティクルガンによるウィルス病抵抗性オオムギ育種素材の作出……………10

八尾俊男・南條陽子

バイオリアクターを利用した魚の鮮度測定システム……………13

林 明子・生江洋一

イムノアッセイ (抗原抗体法) を用いた農薬の分析……………17

地域の先端研究

小笠原博信

DNA 分析による米の品種判定

—「あきたこまち」ブランドを維持する技術……………21

文献情報

植物を用いた汚染土壌の浄化……………25

トランスジェニック・クローンウシの作出……………26

乳酸菌におけるアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子 *adh* の存在……………26

Prochlorococcus の共存生態型の生理学と分子系統学……………27

海外便り

高畑康浩

バレイショ塊茎内デンプン合成におけるスクロース分解機構の役割

—ドイツ IPK での1年4カ月—……………29

特別情報

篠原 隆

新しい植物品種保護制度 種苗法改正について……………32

田中宏樹

「The world seed market」(オランダ・ラボバンク Rabobank) の紹介……………35

昆虫の生体機能に基づく バイオマイクロマシンの研究

* 東京大学大学院工学系研究科機械情報工学専攻 ** 筑波大学生物科学系
下山 勲*, 神崎 亮平**

1. はじめに

本研究ではマイクロマシン技術を生物、特に昆虫の行動や神経生理研究に用い、昆虫が示す行動機能、さらにその行動を発現させる脳・神経機構の研究によって、微小サイズの脳・神経系がもつ共通の設計原理や行動の制御原理を明らかにするとともに、それらを規範として、ロボットやマイクロマシンを開発するための基盤研究を行なっている。バイオマイクロマシンとは、本研究で扱うMEMS (MicroElectroMechanical Systems)あるいはマイクロマシンの総称である。

昆虫は変化に富んだ環境に適応して進化した結果、180万種以上にも分化したといわれる。昆虫は飛行、歩行、遊泳などの多様な行動様式を生活環境に適応した形で発現する。このような行動は、環境下での光、音、匂い、味、触などの感覚情報が、感覚器により受容され、脳・神経系による情報処理と運動系の制御によって発現する。この一連の情報処理により、障害物を回避したり、それを乗り越えるアリの歩行や、アクロバティックなハエの飛翔などが実現する。驚くべきことに、このような行動はわずか $10^4 \sim 10^6$ 程度のニューロンから成る脳・神経系と、わずか体長数センチメートルの体腔内の筋運動系の活動によって生じる。時々刻々と変化する環境の情報を適切に捕らえ、餌や交尾のパートナー・産卵場所の探索・帰巢・逃避などさまざまな行動を発現するのである。われわれ人間の脳が $10^{10} \sim 10^{11}$ 個という莫大な数のニューロンから構成されることを考慮すると、昆虫の行動機能がこれだ

けコンパクトなサイズで、しかも少数のニューロンの情報処理によってまかなわれているのは驚異というほかない。このような行動が達成されるためには、なんらかの動作原理に基づいた昆虫の微小な脳・神経系に独自の設計原理が存在すると考えられる。

2. 昆虫の脳・神経系

昆虫の神経系は、脊椎動物の脳神経系と同じ構成要素である「ニューロン(neuron)」からなり、膜電位の発生メカニズムやシナプスでの情報処理の機構も共通している。環境情報は、脳を構成する個々のニューロンにより処理される。それらが集合して神経回路網を形成し、さらにそれらが集積され、システムとしての脳が構築されることによりはじめて脳として機能する。脳・神経機能の解析は、個々のニューロンレベル、回路網レベルで解析するグループと、システムレベルで解析するグループに分かれ、相補的な関係を保ちながら、脳・神経系機能を総合的に研究している。

すでに述べたように昆虫の脳・神経系を構成する細胞数は、1万~10万個のオーダーで、100億個を越える人間のそれよりもはるかに少ない。これは、昆虫の神経系による感覚情報の受容処理や行動制御が、脊椎動物のそれに比べると単純な神経システムにより行われていることを示している。昆虫のニューロンは、特徴的な形態や生理機能を持つことから、個体間で比較的容易に同定(identified neuron)することができる。最新の電子技術により個々のニューロンの環境刺激に対する電氣的応答特性を微小電極法により調べ、同時にそ

*SHIMOYAMA Isao · **KANZAKI Ryohei

のニューロンの詳細な3次元形態を調べることも可能となった(図1)。微小電極法とは、

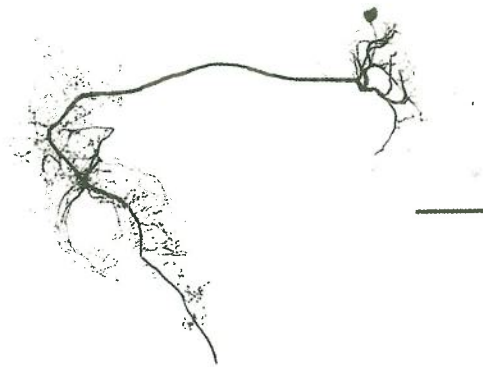


図1 カイコガの匂い源定位行動を司令する脳ニューロン。このニューロンが活動することによって、カイコガの匂い源への進行方向が決定される。スケール:100ミクロン

先端径が0.1ミクロン程度のガラス管に電荷をもった蛍光色素を充填して電極とし、この電極を単一ニューロンに刺入し、神経活動を記録する方法である。神経活動を記録後、内部の色素をニューロン内に流し込み染色することによりその形態を可視化できる。微小電極法は、昆虫のように特に微小な脳における神経回路網を研究するのに適している。この手

法により、カイコガの匂い源探索を解発する神経回路網が解明された。

昆虫の脳機能をシステムレベルで理解するために、われわれは神経信号を可視化し、時空間的に動的な信号伝達形態を計測することを手がけている。この手法として、膜電位感受性色素を用いた光学計測という新しい手法を採用した。これは、ニューロンの膜を膜電位感受性色素で染色することにより、興奮や抑制といったニューロンの活動状態をその吸光または蛍光変化として捕らえるものであり、この色素で染色された脳領域のニューロン活動の時空間の動的信号変化を可視化できる。微小電極法により解明された結果と光学計測法により明らかになった結果とを総合して、脳神経回路網の構造の推定や信号の処理法を明確化することが可能となる。われわれは、この計測装置の改良に努め、昆虫の微小脳では始めて、神経活動の時空間の動的信号変化を記録することに成功した(図2)。さらに、この手法の確立により、昆虫の記憶・学習機能の研究によりやく道が開かれた。

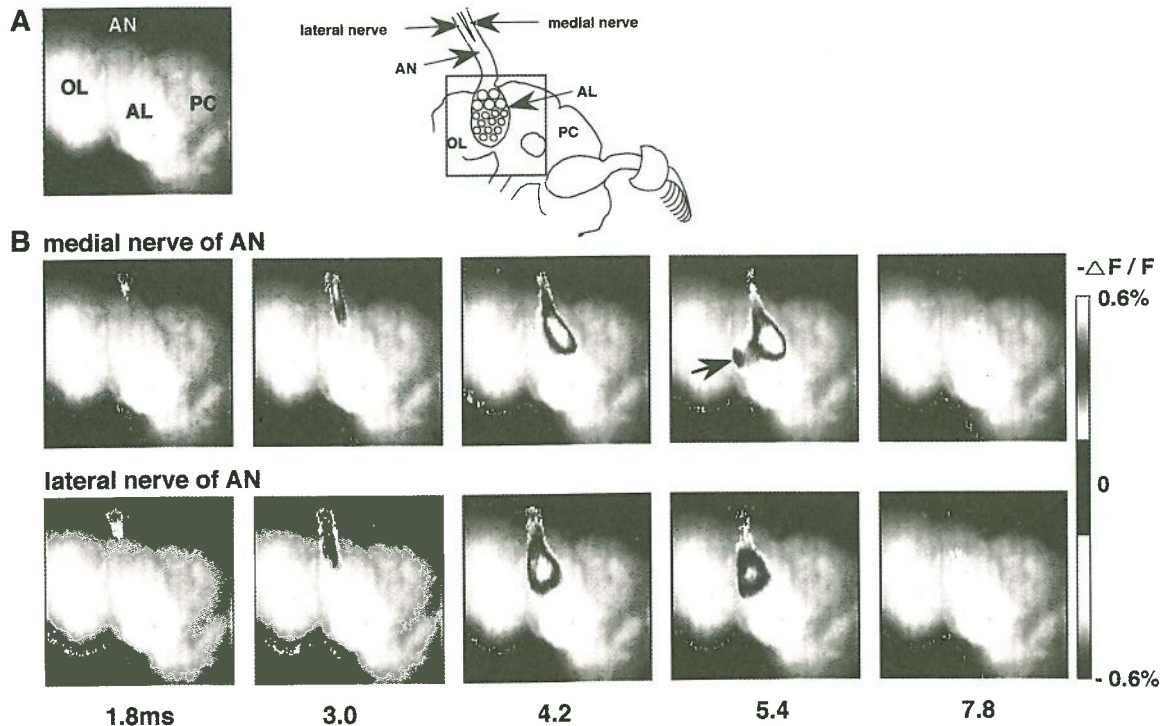


図2 脳神経活動の光学計測法による可視化。カイコガの脳を膜電位感受性色素で染色し、触角神経を電気刺激することにより現れる脳内での神経活動の伝播。この手法により、昆虫の脳神経活動の時空間パターンの解析が可能となった。

3. 昆虫の機能・行動

昆虫の行動の多くは遺伝的にプログラム化されており、型にはまったパターン（定型的行動）を示す。鱗翅目昆虫カイコガの雄は雌の性フェロモンの匂いにより雌に定位する。この行動を定型的行動のモデルとして、昆虫の匂い源探索のアルゴリズムの解析を行っている。匂いは自然環境下ではその分布状態が時々刻々変化する。このような環境下での匂い源探索は容易とは思えないが、昆虫はそれに成功している。高速度撮影装置とその行動解析を駆使した結果、現在までにこの行動戦略（アルゴリズム）をほぼ解明した。さらにそれを解発する脳内神経回路網もほぼ明らかになった（図1参照）。この神経回路網は人工回路として再構成され、小型移動ロボットに搭載され、その評価を行っている。

また、微小軽量テレメータ（無線送信機）を鱗翅目昆虫エビガラスズメに装着し、自由飛行中の飛翔筋活動の記録にも成功した（図3）。高速度撮影装置との併用により、昆虫の飛翔メカニズムの正確な記述が期待できる。

昆虫の複眼は、空間的に配置されたマイクロレンズ、レンズの光軸のまわりで微小振動



図3 テレメータを装着したスズメガ。

する受光器官、情報を処理する神経回路からなる視覚情報センサである。これと同じつくりの複眼をラージスケールモデルで試作した。（図4）。直径1mmのマイクロレンズが片側30個、両側で60個ついている。フォトダイオード・アレイをのせた網膜がアクチュエータによって微小に振動する。

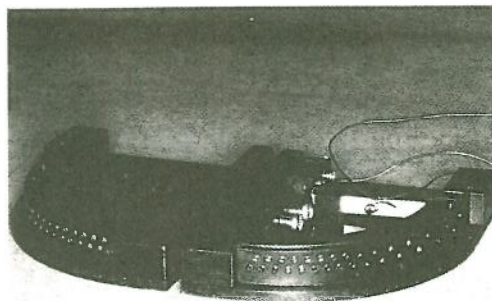


図4 昆虫の複眼をモデルにした視覚センサ。

微小振動することで空間分解能が向上し、空間微分ができるので、コントラストの違いを識別することができる。その情報は並列に処理系に送られる。例えば、コントラストが変化している部分があれば、その方向を感知できる。

図5は、比較的大きなサイズでつくった6足歩行するロボットである。トランジスタで200個規模の単純な制御アルゴリズムで動くようになっていて、コンピュータを搭載しなくても歩行する。それぞれの脚を制御するニューラルネットどうしを抑制性の結合で結ぶと、脚と地面との干渉によって自然に6足歩行するようになり、脚に損傷があっても、5足や4足歩行ができるようになる。

現在は、これを微小化することを試みてい

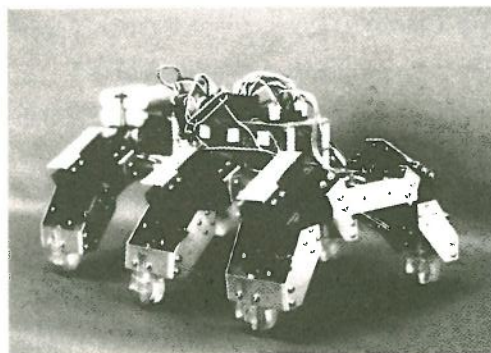


図5 寸法が約30cmある6足歩行ロボット。

る。半導体微細加工技術で製作した約1mmの6足歩行機構を図6に示す。まだ単純な構造ではあるが、この中にセンサーやアクチュエータ、電池などが入った小さなマイクロマシンの開発を目指している。

脳と行動の関係は分析的に研究されてきた。

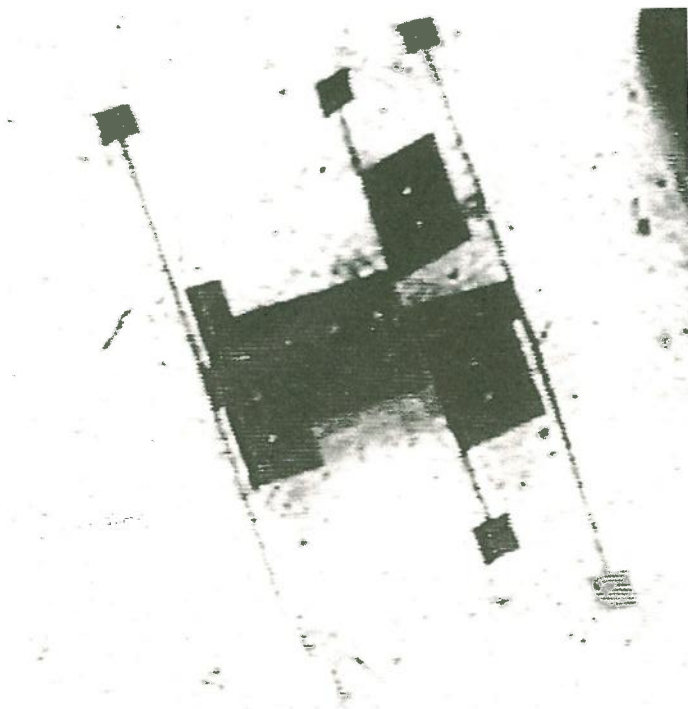


図6 寸法が約1mmのマイクロ6足歩行機構

しかし、いくら詳細に構造が解明できても、行動発現メカニズムは説明しにくい。今まで解明できている分析結果を統合して、実際の発現行動と類似のものが得られるかどうかを調べれば、行動発現メカニズムを研究することができよう。統合による昆虫の行動発現メカニズムの研究は脳機能研究のツールになるかもしれない。

4. おわりに

本研究を通して、学際的な研究のためには、共同研究相手と協力的な信頼関係が保てることが非常に重要であることを学んだ。たとえば、「アンテナ」ということばから、「触角」だと思ふ人と、無線の「アンテナ」を思ふ人が集まって議論するわけである。その障壁を乗り越えて互いが歩み寄り、創造的な議論ができる場を作るには、協力的であることが必須である。

最後に、昆虫は自然選択の中でその小さな寸法に適した知能・機能・構造を獲得したと考えられている。いいかえれば、幾何学的構造、たとえば、神経ネットワークや翼の形状などに、生きていくための知恵が埋め込まれているといってもよいのではないか。メカトロニクスは、知恵としての幾何学的構造、たとえばリンク機構や歯車を、コンピュータで置き換えて成功した。しかし、贅肉を落としきったスリムな設計が要求される場面では、知能を幾何学的構造として埋め込むことも必要と筆者は考えている。

なお、本研究はBRAIN（生物系特定産業技術研究推進機構）のプロジェクトとして平成8年度から実施されているものである。

国内情報

アンチセンスCAD遺伝子のマメ科牧草 アルファルファへの導入

農林水産省 草地試験場

小松 敏憲・*E. A. Brisibe・**高溝 正・蝦名 真澄

マメ科牧草のアルファルファは牧草の女王とも呼ばれ、ミネラルバランスに優れた高栄養の牧草であるが、生育が進むとともに木質化し消化率が低下する。この木質化はリグニンの蓄積によって起こるので、このリグニン合成を人為的に抑制することができれば、リグニン含量が低下し、消化率も向上するものと期待される。そこで、ウドから単離したリグニン合成酵素の一つシナミルアルコールデヒドロゲナーゼ(CAD)のアンチセンス遺伝子の導入を試み、今回その形質転換植物の作出に成功した。

1. はじめに

飼料作物は家畜の利用を目的に栽培される作物であるため、収量とともに消化率などの品質が重要な特性である。飼料作物の消化率はリグニン化の程度と関係し、リグニン含量の高いものは一般に消化率が低い。トウモロコシヤソルガムにおいて、葉の中肋が赤褐色になる突然変異体(brown-midrib)が発見されているが、これらは正常な個体に比べてリグニン含量が低く、*in vitro*の消化率が高いことが報告されている²⁾。トウモロコシの低リグニン変異体の一種(*bm₃*)では、リグニン合成酵素の一つであるO-メチルトランスフェラーゼ(OMT)の活性が正常個体に比べて大幅に低下し、また、マツの一種の低リグニン変異体では、シナミルアルコールデヒドロゲナーゼ(CAD)の活性が正常個体より低下していることが報告されている^{2, 4)}。このように、リグニン合成に関与する酵素の活性とリグニン含量とは密接な関係が認められているので、遺伝子組換え技術を用いてリグニン合成酵素の活性を人為的に抑えることにより、リグニン含量を低下させることが可能であると考えられる。

遺伝子組換えによるリグニン合成の改変に

ついては、林木育種の分野で大きな関心が持たれ、タバコなどを材料に各種のリグニン合成酵素のアンチセンス遺伝子を導入した形質転換体が作出されている。得られた形質転換体では、多くの場合リグニンの特性に変化が認められており、一部にはリグニン含量の低下も報告されている^{1, 3)}。

アルファルファは牧草の女王とも呼ばれ、ミネラルバランスに優れた高栄養のマメ科牧草であるが、リグニン合成の人為的改変により消化率を向上させ、さらにその利用性を高めるために、ウドから単離したリグニン合成酵素の一つシナミルアルコールデヒドロゲナーゼ(CAD)のアンチセンス遺伝子の導入を試み、その形質転換植物を作出した。ここでは、その研究の一端を紹介したい。

2. 効率的な形質転換系の確立

アルファルファでは、アグロバクテリウム法により形質転換体が得られているが、アグロバクテリウムを感染させるための組織、培養期間など検討すべき問題が残されており、安定した形質転換系が確立されているとは言い難かった。そこで、先ず初めに効率的な形質転換系を確立するための研究を行った。

最初に、アグロバクテリウムを感染させるための組織について検討した。胚軸、子葉、カルス、液体培養細胞にアグロバクテリウムを感染し3日間の共存培養後、2～3週間

KOMATSU Toshinori, *E. A. Brisibe,
**TAKAMIZO Tadashi, EBINA Masumi
*: 現 リバース州立理工科大学,
**: 現 農林水産技術会議事務局

6 国内情報

B5培地に2,4-D 1mg/l, セフトキシム及びカルベニシリンを各200mg/l添加した培地で除菌し, さらに2~6週間B5培地+2,4-D 1mg/l+ハイグロマイシン10~25mg/lの培地で選抜を行い, 形質転換効率(ハイグロマイシン耐性遺伝子の導入率)を調査した。その結果によると, 胚軸, 子葉は10%程度の形質転換率で最も効率が悪く, カルスでは約80%, 液体培養細胞ではほぼ100%の形質転換率であった。液体培養細胞の形質転換率が最も高かったが, その後のアグロバクテリウム

の除菌が極めて困難であった。そこで, 80%の比較的高い形質転換率を示したカルスを感染組織として用い, 形質転換系の検討を行った。

その結果, 次のような方法が最も効率的な形質転換法であることが判明した。すなわち, SH培地+2,4-D 2mg/lで誘導したカルスにアグロバクテリウムを感染させ, 3日間共存培養後, B5培地に2,4-D 1mg/l, カイネチン0.25mg/l, カルベニシリン500mg/l及びハイグロマイシン25mg/lを添加した培地で2~3週間培養し, 除菌と形質転換カルスの選抜並びに体細胞不定胚の誘導を行う。その後, BOiY培地+2,4-D 0.4mg/l+ハイグロマイシン25mg/lの培地で3~4週間体細胞不定胚の成熟を図る。最後に, 1/2MS培地+ハイグロマイシン15mg/lで6~8週間培養し, 形質転換植物の再分化を図る。

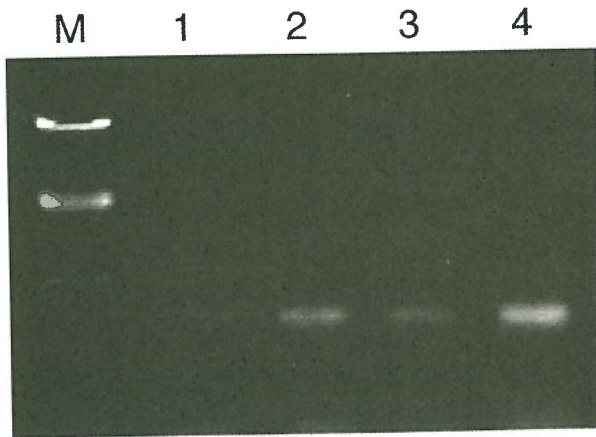


図1 導入したアンチセンスCAD遺伝子のPCRによるバンド
M: サイズマーカー (λ PstI digest); 1~4: 形質転換植物, バンドは35SプロモータとアンチセンスCAD遺伝子の特異的プライマーにより増幅された。



図2 アンチセンスCAD遺伝子を導入したアルファルファの形質転換植物

3. アンチセンスCAD遺伝子導入形質転換体の作出

リグニン含量を減らし, 消化性に優れたアルファルファを育成するために, 三井植物バイオ研究所より分譲されたウドのシナミルアルコールデヒドロゲナーゼ (CAD) のアンチセンス遺伝子をアグロバクテリウムEHA101によってアルファルファ品種レンジランダーに導入した。カルスにアグロバクテリウムを感染・共存培養後, 前節で述べたような方法で除菌と形質転換カルスの選抜を行い, 植物体の再分化を図った。得られた再分化個体のうち, 生育の順調な個体からDNAを抽出しアンチセンスCAD遺伝子の存在をPCRで確認したところ, 4個体でアンチセンスCAD遺伝子の導入が認められ(図1), 形質転換体であることが確認された。今後は, CAD酵素活性, リグニン含量及び消化率の測定などを行い, 形質転換植物の特性を明らかにする予定である。

4. おわりに

アルファルファは, マメ科牧草の中では粗

繊維の消化率が低いので、消化率を高める目的でアンチセンスCAD遺伝子の導入を試み、その形質転換体を作成した。しかし、アンチセンスCAD遺伝子の導入が確認された個体は、4個体と未だ個体数が少ないのでさらに多くの形質転換体を作成し、アルファルファのリグニン含量や消化率に対するアンチセンスCAD遺伝子導入の効果を明らかにしていきたいと考えている。また、タバコでは、このCADの他にO-メチルトランスフェラーゼ(OMT)やシンナモイルCoAレダクターゼなどのアンチセンス遺伝子も導入され、その効果も報告されている¹⁾ので、今後これらの遺伝子の導入についても検討する必要がある。今回はマメ科牧草のアルファルファを材料にアンチセンスCAD遺伝子の導入を図ったが、

わが国の重要な寒地型牧草のオーチャードグラスやトールフェスク、暖地型牧草のローズグラスなどイネ科牧草の中にはまだ消化率の低い草種が多くみられるので、リグニン合成の制御に関する研究は、飼料作物の分野においても今後ますます重要になるものと考えられる。

文 献

- 1) Boudet, A-M. (1998) Trends in Plant Science, 3:67-71
- 2) Cherney, J. H. *et al.* (1991) Advances in Agronomy, 46:157-198
- 3) 日尾野 隆(1997) 化学と生物, 35:599-604
- 4) MacKay, J. J. *et al.* (1997) Pro. Natl. Acad. Sci., 94:8255-8260

国内情報

カンキツ成分 (β -クリプトキサンチンとオーラプテン) の発がん抑制効果

農林水産省果樹試験場・*京都府立医科大学・**京都大学・***近畿大学
矢野 昌充・*西野 輔翼・**大東 肇・***小清水 弘一・***村上 明

β -クリプトキサンチンとオーラプテンをカンキツ類から調製し、発がん抑制効果を検討した。その効果はこれまで研究が進んでいるほかの植物起源のそれぞれカロテノイド、クマリン類に比較して、効力が強く、また特徴的な作用機作を有することから、優れた発がん抑制物質であることが明らかになった。

1. はじめに

カンキツ類は極めて多種多様な化合物群を含んでいる。それらの中には発がん抑制効果の期待される化合物群も多い。しかし、実際に発がん抑制研究に着手されているのはフラボノイド類、リモノイド類、テルペノイド類などに限られる。一方で、カンキツ類は果物の中でもがん予防の疫学的研究が多く、がん予防に役立つ食品群の一つとして評価されているが、実際にどのような成分が発がん予防に役

立っているかは解明されていない。

β -クリプトキサンチンとオーラプテンはそれぞれカロテノイド、クマリン類といった発がん抑制効果の期待される化合物群に属す物質であるが、これまで発がん抑制研究はまったく行われていない。 β -クリプトキサンチンはビワやマンゴーなどにも含まれるが、カンキツ類特にウンシュウミカンが最も重要な給源である。オーラプテンは夏みかんなどの果皮精油に含まれるカンキツ独特のクマリンである。筆者らの研究グループではこの2成分について一連の発がん抑制研究を実施し、カロテノイド類、クマリン類の中でも特に優れた発がん抑制効果のあることを明らかにした。

YANO Masamichi・*NISHINO Hoyoku・
OHGASHI Hajime・*KOSHIMIZU Kouichi・
***MURAKAMI Akira

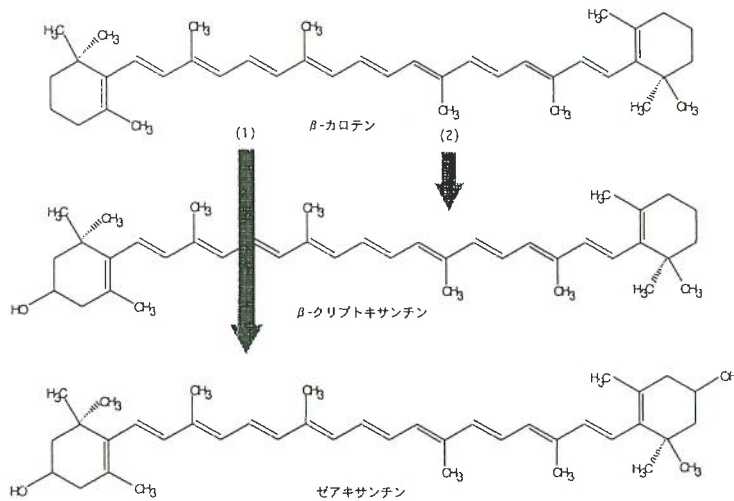


図1 β -クリプトキサンチンの生成経路と関与する酸素遺伝子

- (1) : アラビドプシスや細菌由来の関与遺伝子
 (2) : ウンシュウミカンから単離したもの

2. β -クリプトキサンチン

β -クリプトキサンチンの発がん抑制研究に先立って、なぜウンシュウミカンで特異的にこのカロテノイドのみが蓄積するのかを検討した。 β -カロテンに水酸基を導入する酵素(β -カロテンヒドロキシラーゼ、図1)遺伝子は数種微生物のほか、アラビドプシスから単離されている。これらの酵素はいずれも水酸基が2カ所に導入されたジオールタイプのカロテノイドであるゼアキサンチンを生成し、モノオールタイプの β -クリプトキサンチンをまったく生成しない。ところが、今回ウンシュウミカンから単離した β -カロテンヒドロキシラーゼ¹⁾は上記酵素遺伝子とは異なり、ゼアキサンチンよりも β -クリプトキサンチンを生成する機能を持つことが明らかになった。この酵素遺伝子は β -クリプトキサンチンが急激に蓄積する果実の成熟期に特に強く発現することから、この遺伝子の存在によってウンシュウミカンが β -クリプトキサンチンを特異的に蓄積できるものと考えられた。

ウンシュウミカンの果肉ではカロテノイドの大部分が β -クリプトキサンチンであることから、これを原料(実際には搾汁工程で出る副産物を使用)とすることで、比較的容易

にgオーダーの精製品を得ることができた²⁾。これを用いて一連の発がん抑制実験を実施した。その結果を表1にまとめた。このカロテノイドが試験管内実験と動物実験のいずれでも、代表的なカロテノイドである β -カロテンと比較して遙かに強い発がん抑制活性を示すことが明らかになった³⁾。特にEBウイルス活性化抑制試験による抗発がんプロモーションでは供試数十種類のカロテノイドの中でトップクラスの効力を最も優れた活性を持つ3種類の内の一つであること、ほかの数種類のカロテノイドとともに発がん抑制遺伝子(RB遺伝子)の発現を促進することは興味深い。

3. オーラプテン

カンキツ類には多種類のクマリン系化合物が含まれる。これらをほかの植物起源のものと比較すると、クマリン骨格に脂溶性に富むアルキル側鎖を持つことが構造上の特徴である。オーラプテンはそれらの一種で、側鎖はゲラニル基である。ナツミカン、ハッサク、グレープフルーツの果皮に多く含まれるが(100-600 mg/kg fresh weight)、果肉にはほとんど含まれていない。市販の果汁飲料は果皮ごと搾汁するケースが多いので、カンキツジュースにはある程度含まれている(多いもので1.8 mg/l)。

これまでに、このオーラプテンはマウス皮膚、ラット口腔、ラット大腸の系で顕著な発がん抑制活性を示すことを明らかにした(表2)^{4,5,6)}。このようなオーラプテンの発がん抑制は、解毒酵素群の誘導による発がん物質の排泄促進、活性酸素産生系の抑制による酸化ストレスの軽減など複合的な機能によるものであることを明らかにした(表3)。

4. がん予防研究への貢献

1) β -クリプトキサンチン

ヒトを対象にした大規模ながん予防介入試験が実施されたものの、否定的な結果が得られた β -カロテンの例は「カロテノイドはが

ん予防に役立たないのではないかと関係者に強い衝撃を与えた。しかし、近年、ある種のカロテノイドはやはりがん予防に有効であるとの説が再び提起されている。その説はリコピンや α -カロテンの動物実験での β -カロテンを上回る発がん抑制効果を根拠としているが、ここで紹介した β -クリプトキサンチンの発がん抑制に関する知見はこの説を支持、発展させる重要な発見で、カロテノイドの発がん抑制機序解明に重要な役割を果たすことが期待される。

2) オーラプテン

多くの発がん抑制物質はradical scavengerとして活性酸素の消去能を持ち、それが発がん抑制作用機作の一つである。ところが、オーラプテンの発がん抑制効果は活性酸素の消去ではなく、 O_2^- , NO産生抑制を中心とする酸化ストレスの抑制効果に依存していることが興味深い。共同研究者の一人である村上らは同様の作用機構を持つ発がん抑制物質として1'-acetoxychavicol acetate (ACA) を見いだしている。 O_2^- , NOは各種活性酸素の初発化学種として重要であり、両者を制御できれば、下流で生成するradicalも効率よく制御出来るはずである。オーラプテンはACAとともに、活性酸素の過剰産生が発がんの原因となっている系で発がん抑制研究の進展に大きく貢献できる素材と考えられる。

5. おわりに

これまで発がん抑制についての研究がまったく行われていなかった β -クリプトキサンチン、オーラプテンのカンキツ2成分に優れた効果があることを明らかにした。現在、この2成分につぐ第3、第4の発がん抑制成分の研究に着手しており、かんきつ類のがん予防機構を解明すると同時に、より優れたカンキツ、カンキツ加工品の開発に役立てたい。

本研究は生物系特定産業技術研究推進機構の基礎研究推進制度「カンキツ類によるがん予防に関する基礎的研究」で行われたものである。また、 β -カロテンハイドロキシラー

表1 β -クリプトキサンチンの発がん予防と発がん抑制作用機構に関するこれまでの検討結果

標的臓器	発がん条件	投与時期	投与量	投与方法	抑制効果 (%)
発がん抑制					
マウス皮膚	DMBA/TPA	プロモーション	80 nmol	背部塗布	32 (発生率) 48 (腫瘍数)
ラット大腸	AOM	イニシエーション	0.24mg	混餌	40 (前がん病変数)
発がん抑制作用機構					
	radical scavenging (ESR)				+
	EBV 活性化抑制 (TPA 誘起、Raji 細胞)				+
	superoxide 産生抑制 (TPA 誘起、分化 HL-60 細胞)				-
	NO 産生抑制 (IFN-g & LPS 誘起、RAW264.7 細胞)				+
	リン脂質代謝抑制 (TPA 誘起、分化 HL-60 細胞)				+
	細胞増殖マーカー (ODC) の抑制 (AOM 誘起、ラット大腸)				+
	発がん抑制遺伝子の発現促進 (RB遺伝子)				+

表2 オーラプテンの発がん予防効果

標的臓器	発がん条件	投与時期	投与量	投与方法	抑制効果 (%)
マウス皮膚	DMBA/TPA	プロモーション	16 nmol	背部塗布	20 (発生率)
			160 nmol		27 (発生率)
					23 (腫瘍数)
ラット口腔	4-NQO	イニシエーション	100 ppm	混餌	91 (発生率)
			500ppm		63 (同上)
			100ppm		100 (同上)
ラット大腸	AOM	イニシエーション	500ppm	混餌	74 (同上)
			100ppm		41 (前がん病変数)
			500ppm		56 (同上)

表3 オーラプテンの発がん抑制作用機構に関するこれまでの検討結果

in vitro					
	EBV 活性化抑制 (TPA 誘起、Raji 細胞)				+
	superoxide 産生抑制 (TPA 誘起、分化 HL-60 細胞)				+
	hydroperoxide 産生抑制 (TPA 誘起、分化 HL-60 細胞)				+
	NO 産生抑制 (IFN-g & LPS 誘起、RAW264.7 細胞)				+
	superoxide 産生抑制および消去 (XA/XOD 系)				-
	PEG2 合成抑制 (TPA 誘起、HeLa 細胞)				-
in vivo					
	細胞増殖マーカー (AgNORs, BrdU, ODC) の抑制 (AOM 誘起、ラット大腸)				+
	耳炎症抑制 (TPA 誘起、マウス ~1段階プロトコール~)				-
	肝臓 GST、QR 誘導活性 (マウス、ラット)				+
	肝臓 P-450 誘導活性 (マウス)				-
	皮膚2段階炎症抑制 (TPA 誘起、マウス ~2段階目でのみ有効~)				+
	毒性アルデヒド類の生成抑制 (AOMe 誘起、ラット)				+

ゼの単離には(株)キリンビール基盤技術研究所 三沢典彦博士, β -クリプトキサンチン, オーラプテンの精製についてはそれぞれ(株)愛媛柑橘資源開発研究所, (社)和歌山県農産物加工研究所のご協力をいただいた。記して謝意を表します。

文 献

- 1) 特許出願 特願平 9-331936
- 2) 特許出願手続き中
- 3) H.Nishino et al.(1998) The Fourth Joint meeting Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association, C-24
- 4) A. Murakami et al.(1997). Jpn. J. Cancer Res. 88, 443-452.
- 5) T. Tanaka et al.(1997) Carcinogenesis, 18, 2155-2161.
- 6) T. Tanaka et al.(1998) Carcinogenesis, 19, 425-431.

国内情報

パーティクルガンによるウイルス病抵抗性 オオムギ育種素材の作出

農林水産省 農業生物資源研究所

萩尾 高志

オオムギマイルドモザイクウイルス (BaMMV) はオオムギの根に寄生する *Polymyxa graminis* 菌により媒介され土壌伝染することから、現在のところ、抵抗性品種の利用が唯一の防除法となっている。本研究では、BaMMVのコートタンパク質 (CP) 遺伝子をパーティクルガンを用いて、実用品種であるニューゴールデンに導入し、抵抗性を示す系統を得ることができた。現在は、抵抗性が後代に安定して伝達されるかどうかについてなど、研究を進めているところである。

1. はじめに

わが国のムギ類に発生するウイルス病で最も被害が大きいオオムギ縞萎縮病はオオムギ縞萎縮病ウイルス (BaYMV) を主な病原としている。また、最近、ヨーロッパで本病に關与することが知られていたオオムギマイルドモザイクウイルス (BaMMV) も、わが国の一部地域で発生していることが知られている¹⁾。BaYMV及びBaMMVは根に寄生する *Polymyxa graminis* 菌により媒介され土壌伝染することから、圃場で利用可能な農薬が無い。従って現時点では抵抗性品種の利用が唯一の防除法となっている。しかし最近、抵抗性品種が特定のウイルス系統によって罹病化し、問題となっている。

HAGIO Takashi

遺伝子操作によるウイルス病抵抗性付与にはウイルスコート蛋白質 (CP) 遺伝子の導入のほかウイルスの非構造タンパク遺伝子(ポリメラーゼ, プロテアーゼ等)の導入も効果のあることが知られるようになってきた²⁾。

BaYMV及びBaMMVについては農業研究センター・ウイルス病害研究室・柏崎哲氏らのグループにより遺伝子構造の解析が進められており³⁾、従来困難であったオオムギの形質転換体作出もパーティクルガンの利用によりその可能性が高まってきた。

このような背景の中、本研究では、BaYMV及びBaMMVのコートタンパク質遺伝子とポリメラーゼ遺伝子をパーティクルガンを用いて導入することにより、BaYMV及びBaMMV抵抗性オオムギの育種素材を育成することを目的とした。同時に、有効な接種検定法のないBaYMV及びBaMMVについて閉鎖系でも適

用可能な抵抗性検定法を開発することも目的とした。

なお本研究は農業研究センター・ウイルス病害研究室・柏崎哲氏らのグループと共同で行い、抵抗性検定法に関する研究が先行しているBaMMVについて、抵抗性オオムギ作出の研究も先行させた。従って本稿はBaMMVについての内容が中心となる。

2. オオムギの形質転換系作出と改良

アグロバクテリウムによる形質転換系の適用が困難なイネ科作物やプロトプラスト培養系の効率の低い作物を中心に、直接細胞に遺伝子を導入する方法としてパーティクルガン法が注目されている。ここでは、未熟胚由来カルスからの効率的な植物体再分化系は確立されているが、プロトプラスト培養が依然困難なオオムギを材料として、パーティクルガン法による形質転換系の開発を目的とした。

使用機種はBIO RAD PDS-1000/Heで、供試材料は開花後約2週目の未熟胚、プラスミドDNAはpBC1(ハイグロマイシン耐性を導入)。培地の基本組成はMS+60g/lマルトースで2g/lゲルライトで固化した。ホルモン組成はカルス誘導・継代の場合2mg/l 2,4-D, 0.1mg/l BAで、ハイグロマイシンの濃度は継代ごとに10,20,30mg/lと段階的に上げた。植物体再分化培地はホルモンフリーでハイグロマイシンの濃度は30mg/lとした。

ゴールデンプロミス、はるな二条、ディッサ、ニューゴールデンの4実用品種を用い、合計3450個の未熟胚を処理した。選抜の結果ハイグロマイシン耐性の植物体を合計18個体得ることができ、11個体については導入したハイグロマイシン耐性遺伝子の存在をサザン法で確認できた⁹⁾。

この時点での形質転換体作出効率は未熟胚1000個につき形質転換植物体およそ3個体の割合であったが、その後、金粒子の使用、1試料当たり2回の処理、金粒子の飛散距離の調整、培地組成の改良などにより、未熟胚1000個につき選抜用マーカー遺伝子に関して

は形質転換植物体をおよそ30個体得ることができるようになった。

3. オオムギマイルドモザイクウイルス(BaMMV)コートタンパク質(CP)遺伝子の導入

本研究のため新たに構築し、導入した遺伝子は下記の3種類で、単独あるいは組合せて(co-transformation)用いた。

①ハイグロマイシン耐性導入用:pUC

Hyg

②マイルドモザイクCP導入用:pREX

KAX

③マイルドモザイクCP導入+ハイグロマイシン耐性導入用:KAXH

供試した品種はニューゴールデンで、処理した未熟胚はハイグロマイシンを含む培地で選抜培養した。さらに再分化した植物体の生葉からDNAを抽出し、サザン法によりウイルスコートタンパク質(CP)遺伝子の存在確認を行った。

合計3210個の未熟胚を処理し、ハイグロマイシン耐性の植物体を117個得ることができた。その内十分な試料が確保できた71個体についてサザンプロット検定を行ったところ21個体でウイルスCP遺伝子の存在を確認できた。

CP遺伝子の存在を確認できた植物体では、すべての個体で自殖種子を得ることができ、穂ごとに採種した。

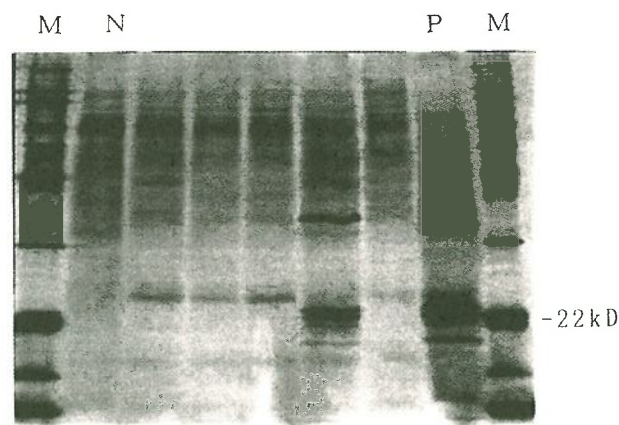


図1 BaMMV, T₁固体ウェスタンブロット
M: marker N: negative control P: positive control

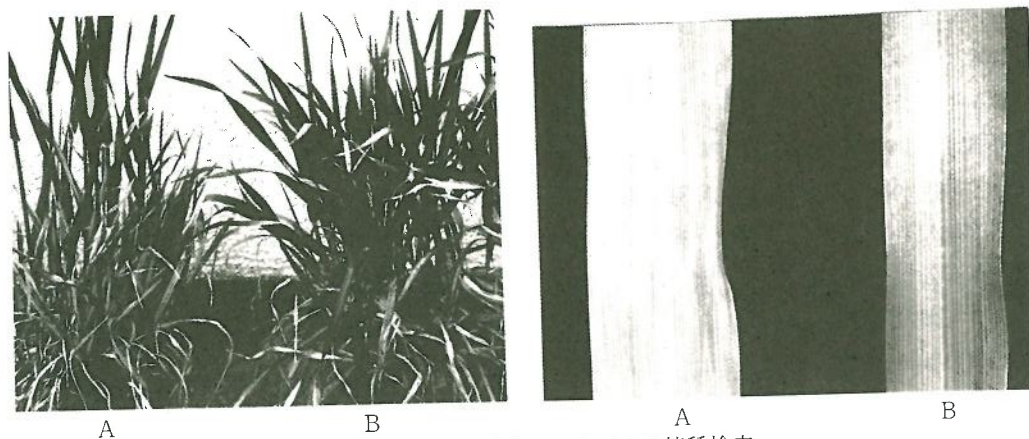


図2 BaMMV T₂植物でのウイルス接種検定
A: 非形質転換体 B: 形質転換体

4. ウイルス病抵抗性個体の育成

(T₁植物): サザン法でCP遺伝子の導入確認した形質転換植物の自殖後代から5系統を選び、各系統につき5個体、計25個体を育成した。PCR-サザン法では23個体について遺伝子の存在を確認でき、ウェスタン法でもこの23個体については概ね(発現が弱いものを含めて)CP遺伝子の発現を確認できた(図1)。

(T₂植物): BaMMV-CPを導入したT₁個体から、PCR-サザン法でCP遺伝子の存在を確認し、かつウェスタン法でCPの発現を明瞭に確認できた個体を選び、自殖後代の幼苗にウイルスを人工(汁液)接種して抵抗性検定を行った。1回目の接種を1.5葉期に、2回目の接種をその2週間後に行った。発病株率0%(6個体すべて)と50%(12個体の内の6個体)の2集団を選んでPCR-サザン法で検定したところ、すべての個体(合計18個体)についてCP遺伝子の存在を確認できた⁹⁾。なお非形質転換体は100%の発病株率を示した(図2)。

5. おわりに

以上の通り、実用品種であるニューゴールデンにウイルスCP遺伝子を導入し、オオムギマイルドモザイクウイルスに抵抗性を示す系統を得ることができたが、T₂世代でウイルス

CP遺伝子を持っているにもかかわらず抵抗性を示さない個体もあったので、今後も引き続き後代検定を継続するとともに抵抗性の発現機構や遺伝様式などについても検討してゆかなければならない。もし有望と思われる系統を見い出せばBaMMV抵抗性育種素材として活用していく。

また、縮萎縮病についてもCP遺伝子を導入した形質転換体(品種:ニューゴールデン)を作出し、T₁植物の中に抵抗性を示す個体をいくつか見い出しており⁶⁾、現在はT₂植物についての解析や検定作業を進めているところである。さらにBaMMVのポリメラーゼ遺伝子を導入した形質転換体も作出し、自殖種子の採種を終え、抵抗性検定に備えているところである。

文献

- 1) Kashiwazaki, S. *et al.* (1992) J. General Virology 73:2173-2181
- 2) Grumet R. (1994) Plant Breed. Rev. 12:47-80
- 3) Kashiwazaki S. (1996) Arch. Virol. 141:2077-2089
- 4) Hagio *et al.* (1995) Plant Cell Rep. 14:329-334
- 5) 萩尾 ほか (1997) 育種学雑誌 47 別冊 1:153
- 6) 萩尾 ほか (1997) 育種学雑誌 47 別冊 2:87

国内情報

バイオリクターを利用した魚の 鮮度測定システム

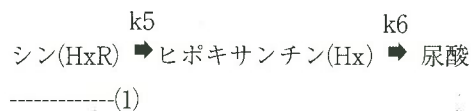
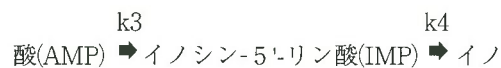
大阪府立大学 工学部, 先端科学研究所
八尾 俊男・南條 陽子

固定化酵素リアクターの高い基質特異性と高い触媒活性を利用して魚の鮮度を数値化して測定できるセンサーシステムを開発した。試料調整は魚肉の薄片を少量のリン酸緩衝液中でホモジナイズし、遠心分離して濾過した溶液で鮮度測定できる。この方法は検量線を必要とせず、試料量にも依存しない。酵素リアクターは約2カ月間100%の酵素変換効率を維持し、その間連続して使用できる。

1. はじめに

魚の鮮度は人間の五感などに頼って判断されている。しかし、寿司や刺身に代表されるように生肉を食する特殊な食文化を持つ日本人にとって、鮮度を数値化することは、食品工業などの分野に置いて大きな関心がある。鮮度の化学的測定には、揮発性塩基窒素、アンモニア、アミン類、揮発性酸、pHなど腐敗に関連する化学物質を指標とする方法があるが、鮮度との相関に問題がある。

一方、生命体のエネルギー源の一つであるアデノシン-5'-三リン酸(ATP)は魚肉中に多く存在するが、魚の死と同時に式(1)の経路に従って分解が進む。そこで、鮮度の指標として分解過程で生成する核酸関連化合物の濃度を用いて、式(2)の鮮度指数Kが提案されている。しかしATPからIMPまでの分解の速度定数(k_1, k_2, k_3)はIMPから尿酸までの分解の速度定数(k_4, k_5, k_6)に比べて早く、魚の死後5~20時間で $[ATP] + [ADP] + [AMP] \ll ([IMP] + [HxR] + [Hx])$ となり、式(2)の鮮度指数Kは式(4)の鮮度指数 K_2 や、より簡単な式(3)の鮮度指数 K_1 で置き換えることができる。



$$K(\%) = \frac{([HxR] + [Hx])}{([ATP] + [ADP] + [AMP] + [IMP] + [HxR] + [Hx])} \times 100 \quad (2)$$

$$K_1(\%) = \frac{[Hx]}{([HxR] + [Hx])} \times 100 \quad (3)$$

$$K_2(\%) = \frac{([HxR] + [Hx])}{([IMP] + [HxR] + [Hx])} \times 100 \quad (4)$$

従って、鮮度指数 K_1 は $[HxR+Hx]$ 濃度と $[Hx]$ 濃度から、鮮度指数 K_2 は $[IMP+HxR+Hx]$ 濃度と $[HxR+Hx]$ 濃度から決定できる。

魚肉中のこれら各成分の定量には液体クロマトグラフィーがあるが、厳密な除タンパクなどの前処理や他の核酸塩基や共存物質によるピークの重なりや分析に長時間を要するなど、ルーチ的な品質管理には向かない。そこで、我々はバイオリクター（ここでは固定化酵素リアクター）の特異的な分子認識特性とフローインジェクション分析(FIA)法の流路の多様性に着目し、 K_1 と K_2 の分母項と分子項の全濃度を特異的なピークシグナルとして検出できる簡易迅速な鮮度センサーシステムを開発し、実際に鯛の鮮魚を用いて鮮度指数 K_1, K_2 と鮮度との相関性についても検討した。その結果、このシステムが鮮度センサ

 k_1

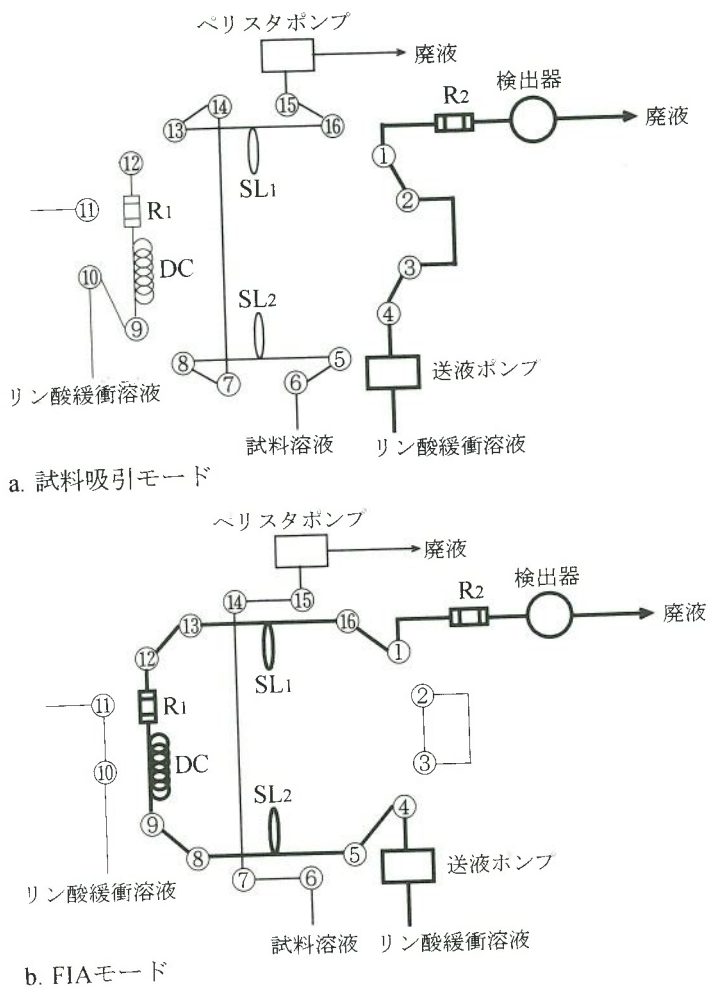



図1 鮮度センサーシステム
 R1, R2: 固定化酵素リアクター; SL1, SL2: サンプルループ;
 DC: 遅延コイル (φ0.5mm, 長さ3.5mm)

として十分に機能することを明らかにした。

2. 鮮度測定システム

酵素は高分子のタンパク質で、その一部に活性部位がある。また、水溶性であるため、酵素を適当な担体に保持し、水に不溶性にすることで、固体触媒と同様に扱うことができる。このような固定化酵素を充填したリアクターをFIA法の分子認識、触媒素子リアクターとして用いる場合に要求される特性として、(1)小さなサイズであること、(2)高活性であること(100%の酵素変換が望ましい)、(3)高い基質特異性を有すること、(4)長期にわ

たり安定であること、等が必要である。(1)では、試料ゾーンの分散が抑制されるため、鋭いシグナルが得られ、高感度であるとともに分析時間が短い、(2)では、例えば鮮度指数 K_2 の測定に必要な $[IMP+HxR+Hx]$ 濃度と $[HxR+Hx]$ 濃度に対応するシグナルを得るためにそれぞれの成分に対してシグナル強度が同じで加成性が成立する必要がある。酵素リアクターの特性は、酵素が限られた部位に高密度に固定化されているので、溶液中の酵素反応に比べて反応速度が早く、(2)の条件を満足できる場合が多い。(3)と(4)では、妨害となる物質の分離などの前処理を必要とせず、長期間にわたり鮮度のモニターに使用できる。

このような特性を有した固定化酵素リアクターを得るために、³の鮮度指数の測定で述べる種々の酵素を多孔性ガラスビーズに共有結合法により固定化した。図1に考案した鮮度センサーシステムの概略を示す。測定系は二つの固定化酵素リアクター(R1, R2)と16方切り換えバルブと電気化学検出器とから構成されている。試料吸引モードでは、ペリスタポンプで試料溶液が吸引されサンプルループSL₁とSL₂(各々60 μ l)に満たされる。その間キャリアー溶液(リン酸緩衝液)は④→③→②→①の順に検出器に流れ、一定のベース電流が得られる。続いてFIAモードに自動的に切り換わり、キャリアー溶液は④→⑤→⑧→⑨→⑫→⑬→⑯→①の順に流れ、SL₁とSL₂の試料溶液が流路内に注入される。遅延コイルDCを入れることで、時間差によりSL₁とSL₂に対応するピーク1とピーク2のシグナルが得られる。試料吸引モードを30秒、FIAモードを2分30秒に設定することで、毎時20試料を自動的に分析できる。また、検出器には分子ふるい機能を有した高選択的な過酸化水素電極を用いた。

3. 鮮度指数の測定

3-1 鮮度指数 K_1

鮮度指数 K_1 の測定には、R1リアクターに

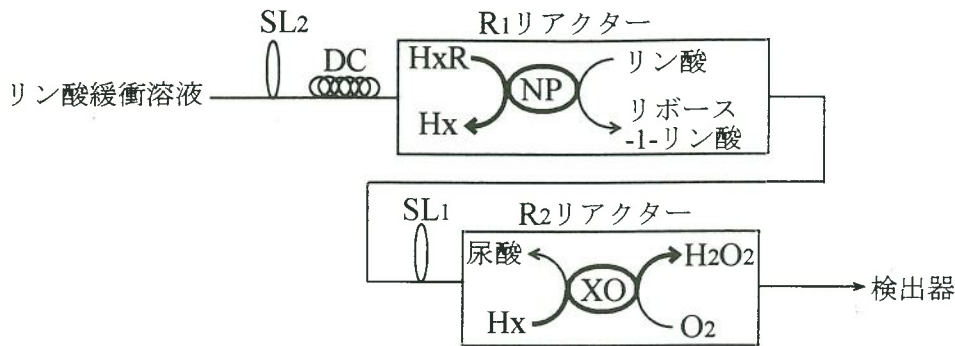


図2 鮮度指数K₁測定システムで用いた酵素リアクターでの反応
 NP:プリンヌクレオシドホスホリラーゼ;
 XO:キサンチンオキシダーゼ

ヌクレオシドホスホリラーゼ(NP)固定化リアクター(φ 3 mm,長さ10 mm)を, R₂リアクターにキサンチンオキシダーゼ(XO)固定化リアクター(φ 3 mm,長さ10 mm)を用いた(図2)。SL₁の試料溶液中のHxはR₂リアクターで過酸化水素に変換されピーク1を与え, SL₂の試料溶液中のHxRとHxはR₁リアクターとR₂リアクターによる連続的な酵素反応により, ピーク2を与える。ここでそれぞれのリアクターはHxRとHxを特異的に認識して, 100%の効率で反応を触媒するので, ピーク1はHxの濃度に, ピーク2はHxRとHxの総濃度に比例する応答が得られ, 鮮度指数K₁を決定できる。

HxRとHxは, R₂リアクターで最終的に過酸化水素に変換されるため, ピーク1とピーク2が得られる。一方, IMPはR₂リアクターで全く反応しないので, SL₂に対応するピーク2だけが得られる。リアクターは100%の効率で基質を変換できるので, ピーク高さには加成性が成り立ち, ピーク1はHxRとHxの総濃度に比例し, ピーク2はIMPとHxRとHxの総濃度に比例する。従って, 式(4)は式(5)に置き換えられる。ここで*i*₁/*i*₂はピーク2に対するピーク1の電流(ピーク高さ)比で

$$K_2 = (i_1/i_2) \times (S_2/S_1) \times 100 \quad \text{-----}(5)$$

あり, S₂/S₁はHxのピーク1に対するピーク2の電極での感度比を示す。つまり鮮度指数K₂は, 試料溶液に対して得られたピーク1のピーク2に対する相対的大きさの比と検出感度の比とから求められ, 検量線を必要とせず, また試料量にも依存しない。

3-2 鮮度指数K₂

鮮度指数K₂の測定には, R₁リアクターに5'-ヌクレオチダーゼ固定化リアクター(φ 3 mm,長さ10 mm)を, R₂リアクターにNP/XO同時固定化リアクター(φ 3 mm,長さ18 mm)を用いた(図3)。SL₁とSL₂中の

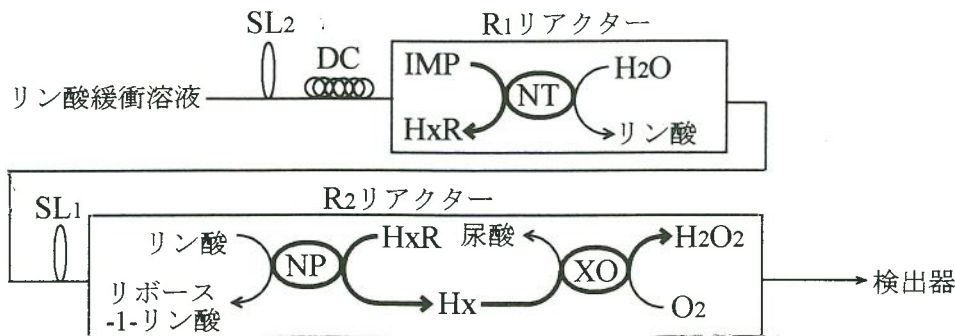


図3 鮮度指数K₂測定システムで用いた酵素リアクターでの反応
 NT:5'-ヌクレオチダーゼ; NP:プリンヌクレオシドホスホリラーゼ; XO:キサンチンオキシダーゼ

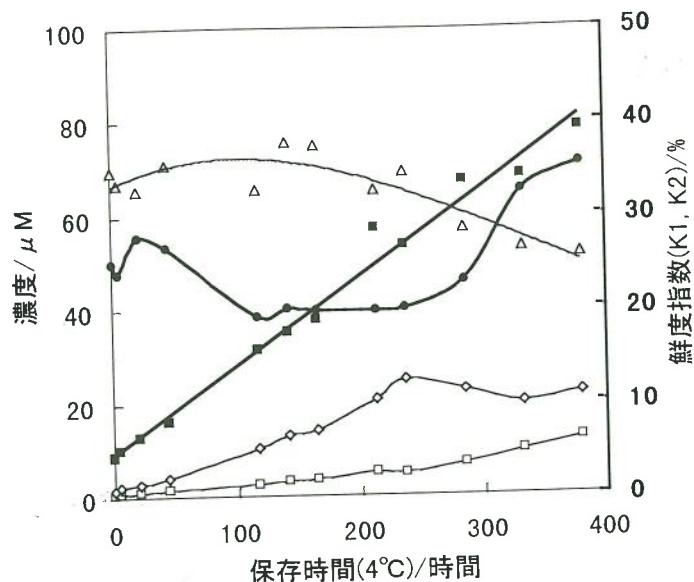


図4 鮮度指数K₁, K₂と鯛魚肉中のHx, HxR, IMP濃度の保存(4℃)時間による変化
 □: [Hx]; ◇: [HxR]; △: [IMP]; ●: K₁; ■: K₂

4. 魚肉の鮮度測定

鯛の魚肉の小片(0.2~0.4g)に少量のリン酸緩衝液を加え、ホモジナイザーで均一にし、遠心分離して濾過した溶液をK₁, K₂の鮮度センサーシステムに注入した。鯛の死後4℃

で保存した時間と鮮度指数K₁とK₂およびHx, HxR, IMPの濃度との関係を図4に示す。150時間経過後に、魚肉のうま味成分であるIMPは減少するとともに、HxRが増加して、さらに遅れてHxが増加し、分解が式(1)に従って起こっていることがうかがえる。鮮度指数K₁は鮮度との間に明確な相関が得られなかったが、鮮度指数K₂は保存時間0から380時間まで良好な相関があり、鮮度の優れた指標となることが分かった。また、作製したバイオリアクターは約2カ月間100%の酵素変換効率を維持し、その間連続して使用できた。

5. おわりに

高い基質特異性と高い触媒活性を有したバイオリアクターを多様なFIA流路に組み入れ、目的に適合するように酵素反応と流路系を設計することで、鮮度という「あいまいさ」を数値化して測定することが可能になった。この研究では、鯛に対して鮮度指数K₂が鮮度の良い指標となることを明らかにしたが、他の種類の鮮魚を用いて同様の相関をとる必要があると考えている。

国内情報

イムノアッセイ（抗原抗体法）を用いた 農薬の分析

JA全農 営農・技術センター

林 明子, 生江 洋一

農薬の農産物中の残留や環境中への流出が懸念されている。現在、これらのモニタリングの強化が急務とされており、そのための簡易な測定法が求められている。農薬の簡易分析法として近年注目を浴びているイムノアッセイ法は、抗原抗体反応を利用した測定法である。簡単な操作で、経済的に、迅速な分析ができ、さまざまな場面での応用が期待されている。本報では、その概要と現況を報告する。

1. はじめに

現在、農薬の分析は、主にガスクロマトグラフィー（GC）や高速液体クロマトグラフィー（HPLC）といった分析機器を用いて行われている。農産物中や環境中の残留農薬を測定する場合、分析機器を用いた検出の前に、試料からの農薬の抽出と夾雑物を取り除くための複雑な精製が必要となる。そのため、残留農薬分析は結果が判明するまでに時間を要し、また分析を行うための高度な技術を必要とする。その結果、十分なモニタリングが実施されているとは言い難い状況にあり、農産物や環境中の残留農薬の検出のために、さらに簡便な分析法が求められている。

簡便な残留農薬の分析法として、多成分一斉分析の考え方がある。残留農薬の分析は単成分分析として各農薬を分析する方法が公定法として定められているが、多成分分析は一度の精製操作および機器分析で多数の農薬を検出してしまうもので、厚生省の残留農薬簡易分析法開発検討委員会をはじめとし、盛んに研究がなされている¹⁾。

こうした方法は研究機関では非常に有効であるものの、分析機器や分析技術を持たない現場では実施ができない。一方で、生産現場などでも簡易に実施できるような、経済的に、短時間で、簡単に分析できる方法として近年注目されているのがイムノアッセイ法である。

2. イムノアッセイ法とは

イムノアッセイ法とは免疫測定法または抗原抗体法といわれる。哺乳動物の体内には、花粉や風邪ウイルスなどの非自己物質が侵入すると、自己防衛のためにそれらを認識し結合する抗体が産生される。このように、抗体が認識する物質を抗原という。このとき抗体が抗原を認識する反応は非常に特異的であり、この抗原抗体反応の特異性を利用した測定法がイムノアッセイである。イムノアッセイは、臨床化学の分野では古くから用いられてきた測定法であり、農業分野でも植物ウイルスの検出に用いられてきた。操作が簡単で自動化しやすく、経済性にも優れた検出法である。そこで、農薬の分析への応用について研究が始まった。

3. イムノアッセイ法の開発

農薬を測定するイムノアッセイ法を開発するには、農薬を特異的に認識し結合する抗体を調製しなければならない。ある物質に対する抗体を得ようとする場合、その物質を哺乳動物に免疫してその血液中に産生される抗体を利用する。しかし、農薬のような低分子化合物は免疫応答を引き起こすことが出来ない。そのため、農薬をタンパク質などの高分子量の担体と結合させることが必要となる。農薬に官能基をつけて誘導体化し担体と化学的に

HAYASHI Akiko, NAMAÉ Hirokazu

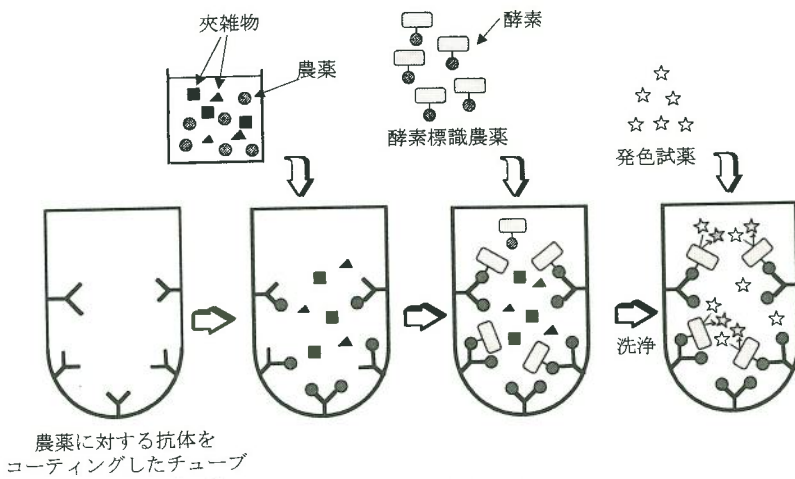


図1 イムノアッセイの測定原理

- ① 農薬を認識する抗体を一定量コーティングしたチューブ
- ② 試料を添加する。試料中の農薬が抗体と結合する。
- ③ 酵素標識農薬を一定量添加する。抗体の結合部位のうち農薬が結合しなかった部分に酵素標識農薬が結合する。
- ④ 洗浄の後、発色試薬を加えると酵素の量に応じて発色する。

採血して、血中に存在する抗体を精製したものである。ポリクローナル抗体中には、様々な認識部位をもつ抗体が混在している。調製は簡易であるが、免疫する動物により固体差が生ずるため、同一の抗原を免疫しても得られる抗体が一定ではないという欠点がある。

一方、モノクローナル抗体は、抗原をマウスに免疫した後、マウスの脾臓細胞とガン細胞を融合させることによって得た融合細胞(ハイブリドーマ)から、目的の抗原を産生する細胞をスクリーニングし、大量培養することにより、その培養上清から調製する。単一の細胞から産生された抗体のため認識部位が一定である。モノクローナル抗体は調製が複雑であるが、特異性の高い抗体が得られることや、一旦抗体産生細胞が得られれば定質の抗体を半永久的に調製することが出来るという利点がある。特に農薬のような低分子化合物に対する抗体を得る場合、抗体認識部位が少ないことからモノクローナル抗体が良いとされている。

抗体が得られれば、その抗体を用いて測定系を組み立てる。イムノアッセイには種々のフォーマットがあるが、農薬の場合一般的に直接競合法を用いる(図1)。これは、測定対象の農薬と酵素で標識した農薬とを共存させ、農薬と標識農薬が抗体に対して競合することにより、農薬を検出する方法である。抗体や酵素標識農薬の濃度や緩衝液の検討を行うことにより測定法の最適化を図り、感度が高く安定性の良い測定系を確立しなければならない。

農薬のイムノアッセイを利用した測定の実施は非常に簡単であるものの、測定法を開発するためには、このように複雑なプロセスが必要となる。

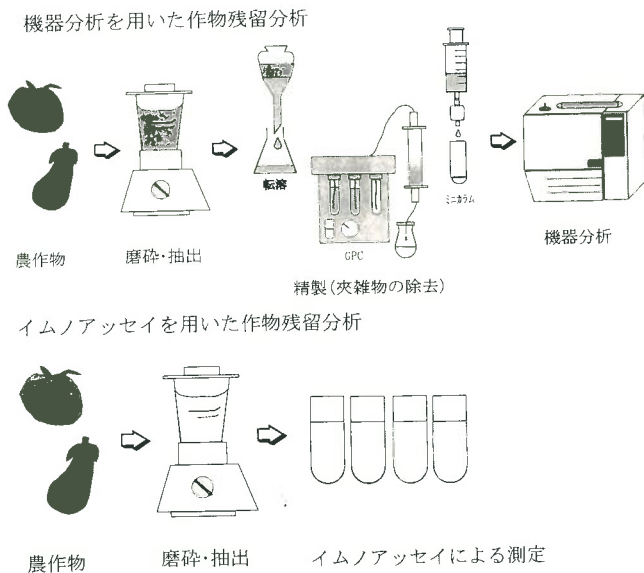


図2 機器分析とイムノアッセイを用いた作物残留分析

結合させ、これを抗原として哺乳動物に免疫する。

抗体にはその調製法によってポリクローナル抗体とモノクローナル抗体という2種がある。ポリクローナル抗体は、ウサギやヤギ等に抗原を注射し、数回の追加免疫を行った後

4. イムノアッセイによる農薬の作物残留分析

前述したように、現在、農作物や環境中の残留農薬は分析機器を用いて測定されており、そのために複雑な前処理が必要となる。しか

し、イムノアッセイを農薬の検出に利用する場合、抗原抗体反応が特異的であることから夾雑物を除去する精製過程を必要とせず、試料からの簡単な抽出のみで測定に供することが出来る(図2)。そのため、イムノアッセイを用いた残留分析は、簡単な操作で、短時間に、経済的に測定が実施できるという利点がある。

一方で、機器分析と比較すると結果の変動が大きいことや、抗体が抗原と構造の類似した化合物をも認識する(交差反応性)ことから、農薬の代謝物等も検出してしまふなどの欠点もある。

5. イムノアッセイキットの利用

イムノアッセイの測定法の開発は非常に難しいが、イムノアッセイによる測定を実施するために必要な試薬一式が対象農薬ごとにキットとして市販されている。しかし、これらは主に米国で開発された輸入品である。検出できる農薬の種類は30から40種類程度あるが除草剤が中心で、我が国で作物残留が問題となっている殺虫・殺菌剤のキットは少ない。これらのキットを用いて作物残留分析を実施しようとする場合、機器分析に用いるような複雑な精製は不必要なもの、少なくとも作物からの抽出操作が必要となる。そこで、イムノアッセイに適した、簡単で複数のキットや作物に応用できる前処理法について検討した²⁾。

抽出溶媒としては、抗原抗体反応に影響の少

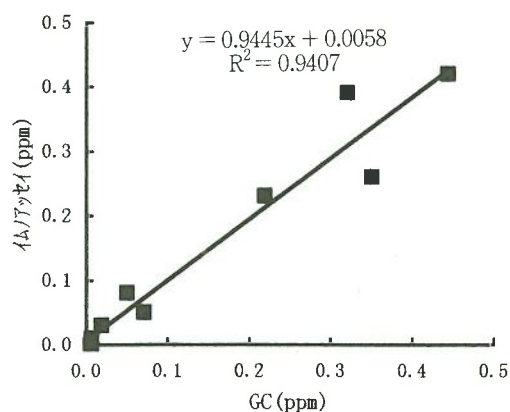


図3 イムノアッセイと機器分析の相関
リンゴ中のカルバリルの分析値の比較。
イムノアッセイはメタノール抽出の後、ろ過、希釈してRapid Assay Kitsカルバリルキットを用いて測定。
GC分析はアセトン抽出の後、ジクロロメタン転溶、フロリジルカラム精製して、GC-NPDにより分析。

ないメタノールが適しており、メタノールを5%以下になるように希釈して供試すれば、測定系に影響を及ぼさなかった。そこで、磨砕作物にメタノールを添加し、振とう抽出後ろ紙でろ過し、ろ液を緩衝液で希釈するという簡単な抽出法を用いて添加回収試験を実施したところ、多くの場合に適用できた(表1)。また、これらの前処理法を用いてイムノアッセイで分析した結果は機器分析の結果と非常に良い相関があることがわかった(図3)。また、別の前処理法として、マイクロフィルターによるろ過が有効であり、ブロッコリーや夏みかんの分析に応用した報告もある³⁾。イムノアッセイを用いた作物残留分析は、短時間のうちに簡単な操作で結果が得られることから、生産現場でも測定でき、安全性を確

表1 イムノアッセイキットを用いた作物残留分析のための添加回収試験の結果

キット	対象農薬	作物					
		トマト	キュウリ	ナス	イチゴ	レタス	リンゴ
プロシミドン	プロシミドン	114.8	119.8	87.0	97.4	113.4	—
クロタロニル	クロタロニル	113.1	132.8	69.9	—	82.6	93.7
カルバリル	カルバリル	—	—	—	—	—	90.9
カルボフラン	カルボフラン	—	47.8	55.7	×	—	42.6
ベニミル	ベニミル	112.3	100.6	149.7	—	95.5	134.8
	カルベンダジム	129.4	130.3	104.4	×	92.3	128.2
	チオファネートメチル	182.5	236.5	86.5	—	71.5	59.1
メトローロール	メトラキシル	87.8	165.0	—	—	—	—

数値は回収率(%), 磨砕試料に農薬をアセトン溶液で添加し、メタノール抽出後、ろ過、希釈して測定した。イムノアッセイキットはRapid Assay Kits (SDI社)を使用した。

—: 農薬登録がない ×: 適用が困難

認してからの農産物の出荷が可能となる。また、機器分析を行う場合も、一旦イムノアッセイを用いてスクリーニングし、農薬が検出された検体だけを機器分析で確認することにより、分析のコストと手間を大きく省くことが出来る。いずれにせよ、イムノアッセイはスクリーニング法として利用し、その結果農薬残留の可能性のある検体は従来法での確認を行うことが必要であろう。

また、イムノアッセイは、作物残留分析以外にも農薬の分析を必要とする多くの場面での利用が期待され、すでに、いくつかの報告がなされている。

環境中の残留農薬分析として、水試料は前処理なしに直接イムノアッセイの測定に供試出来る。たとえば、畑地での表流水における農薬の挙動⁴⁾や環境中の試料ではないが、ミネラルウォーター中の農薬の分析に、イムノアッセイを利用した例がある⁵⁾。

また、農薬散布機の開発過程において、散布された農薬の作物体への付着量を測定するのにイムノアッセイを用いた報告がある⁶⁾。このように、多数の検体を処理する場合にもイムノアッセイは適しているといえる。

6. 今後の展望

農薬のイムノアッセイに関する研究ははじめられてから、まだ10数年しかたっており、しかもそのほとんどは欧米をはじめとする諸外国で行われていた。報告の数や対象農薬の種類は非常に多く⁷⁾、キット化されたものも数十種類に及ぶ⁸⁾。米国では、実際に食品工場で残留農薬の分析に利用されていたり、米国農務省 (USDA) のマイナー作物の農薬登録拡大のためのプログラム (IR-4 Program) では残留データの取得にイムノアッセイを用いている。また、米国環境保護庁 (EPA) が

イムノアッセイ法を環境中の一部の農薬の測定法として認証しており、イムノアッセイに使用する試薬の認証基準が定まりつつあるなど、イムノアッセイの普及、実用化が進んでいる。

しかし、我が国では、数年前から学会等で測定法開発の報告がなされているが、キット化されたものはいまだなく、イムノアッセイの開発に関しては遅れているといわざるを得ない。イムノアッセイの利用も研究段階にとどまっている。我が国におけるイムノアッセイの普及のためには、独自のキットの開発、種類の増加が急務である。

参考文献

- 1) 残留農薬簡易分析法開発検討委員会(1995), 残留農薬簡易分析法の開発について, 食品研究, 45 No.9, p.31
- 2) 林ら (1996), イムノアッセイによる農産物中の残留農薬分析, 第20回農薬残留分析研究会講演要旨資料集, p.106-109
- 3) Saka M, et al (1996), Analysis of Pesticide Residues in Agricultural Products by Magnetic Particle ELISA., Japan-USA Pesticide Residue Workshop Proceeding, p112-116
- 4) 平塚ら (1995), 酵素免疫法によるミネラルウォーター中の農薬検出, 日本食品衛生学会第69回学術講演会講演要旨集, p59
- 5) Takahashi, Y, et al (1996), Runoff Pesticides Analyzed by Immunochemical Determination., Japan-USA Pesticide Residue Workshop Proceeding, p117-119
- 6) Takahashi, Y, et al (1996), Immunological Analysis of Deposition of Chlorothalonil Applied by Fogging Techniques, *J. Pesticide Sci.*, **21**, p65-67
- 7) Kaufman, B. M. et al (1995), Immunoassay of Pesticides: An Update, *J. AOAC. International*, **78**, p1079-1090
- 8) Linde, C. D. et al (1995), Immunoassays (ELISAs) for Pesticide Residues in Environmental Samples, *Pesticide Outlook*, August 1995, p18-23

地域の先端研究

DNA分析による米の品種判定

——「あきたこまち」ブランドを維持する技術——

秋田県総合食品研究所

小笠原 博信

秋田県産「あきたこまち」は品質、食味の優れたブランド価値の高い米であり、秋田県産業の主力商品の一つとなっている。平成7年の新食糧法施行による規制緩和にともない、輸入米の増加や国内の米流通の多様化が進む中、品質、食味が一層重視されるようになってきた。秋田県産「あきたこまち」の商品としての差別化、付加価値維持のために、流通段階でも応用可能な、精米1粒からのDNA分析による品種判定法を開発した。

1. はじめに

秋田県育成の新品種「あきたこまち」は、「コシヒカリ」を母とし「奥羽292号」を父として、県農業試験場の選抜育種により昭和59年9月県の奨励品種としてデビューした。命名は秋田県雄勝町小野の里に生まれたと伝えられ、美人の誉れ高い平安時代の歌人小野小町にちなんだもので、「おいしい米・秋田の米(品種)」として全国に名声が得られるようにとの願いがこめられている。新品種としては初の斬新なネーミングであったこと、当時依頼した穀物検定協会での食味試験で平均的コシヒカリを越え0.9という非常に高い評価値を得たこと、また、「コシヒカリ」を親とした東北初の良質米品種であったことなどから、話題性の大きいデビューとなった。このように「あきたこまち」は県単独育成の米として全国にさきがけた存在となった。

その後、秋田県と県経済連との連携により作付け面積は順調に増加し、平成6年以降、70～80%の作付け比率となっている。また、単一銘柄米として平成6年より3連続生収量が1位になるなど、「あきたこまち」の需要とブランド価値の高さを示している。

しかしながら、平成7年11月、新食糧法施行による規制緩和にともない、輸入米の増加や、国内の米流通の多様化が進み、品質、食

味がより一層重視されるようになった。同法施行後、精米の出荷には品種、産地、産年の表示が義務づけられることとなり、消費者の間には銘柄米に対する指向がますます強まってきている。

このような状況の中、秋田県においても県産「あきたこまち」の商品としての差別化とブランド価値の維持のための研究開発が求められていた。そこで、平成7年に開設された総合食品研究所では、流通過程でも応用可能な玄米及び精米での品種判別技術の開発を開始した。

2. 品種判別の方法

米の品種は、従来から農産物検査官により、産地や外観等を指標とした検査が行われているが、作業に熟練性を要するとともに、判定に主観が入り込む可能性は否めない。客観性の高い生化学的手法として、酵素多型による方法、非破壊的手法として画像解析を用いた粒形判別による品種判別方法がある。また、分子生物学的手法としてDNAの制限酵素多型解析方法、Restriction Fragment Length Polymorphism法(RFLP法)が報告されている。しかしながらこれらの方法は、気候や栽培条件により結果が影響されたり、大量の試料を必要とすること、また、高価な分析機器や試薬を必要とすること等から、流通現場での検査には適していない。

OGASAWARA Hironobu

表1 品種判定に用いられた米品種

大坪らによる品種判定 ³⁾	秋田県での品種判定
あきたこまち	あきたこまち
ササニシキ	ササニシキ
コシヒカリ	コシヒカリ (参考品種)
日本晴	日本晴 (参考品種)
ひとめぼれ	
ヒノヒカリ	
ゆきひかり	
きらら397	
むつほまれ	
キヌヒカリ	
	キヨニシキ
	トヨニシキ
	たかねみのり
	秋田39
	でわひかり

そこで、近年発展がめざましい遺伝子を高度に増幅できる技術、Polymerase Chain Reaction法(PCR法)が注目されている。最近、このPCR法にランダムプライマーを用いて行うRandom Amplified Polymorphic DNA法(RAPD法)が開発され、米の分類研究に応用されている。それらの研究の中にはインディカとジャポニカ、あるいは外国品種と日本品種の分別は可能との報告もある。しかしながら、近縁種である日本国内産米同士の品種を判別することは不可能であると考えられてきた。

以上のような研究をふまえ、平成7年の秋田県奨励7品種を対象とし、品種間の遺伝子の僅かな相違を明確に識別できるプライマーのスクリーニングを行った。その結果、秋田県産の奨励品種の判別法を確立することが可能となった^{1), 2)}。このRAPD法を用いた「DNA鑑別による県産米の品種判定」技術の開発について、その概要を紹介する。

3. 判定用品種

昨年、大坪らは比較的多量の米粉砕試料から抽出したDNAを用いて、「コシヒカリ」や「あきたこまち」をはじめとする国内作付品種上位10銘柄(表1)について、RAPD法による

品種判別法の開発を報告している³⁾。今回開発した方法は、精米もしくは玄米1粒そのままから抽出したDNAを用い、RAPD法によるDNA増幅後、増幅産物を電気泳動し、その遺伝子パターンと比較により、品種判定を行うものである。

本研究では秋田県産「あきたこまち」の商品としてのイメージアップをするという観点から、秋田県内で生産されている奨励米を品種判定の対象とした。

標準試料米は品種、栽培履歴が明らかで、他品種混入の恐れのない秋田県農業試験場の原種圃場のものを使用した。標準米の内容は平成6年産、及び平成7年産の「あきたこまち」、「キヨニシキ」、「トヨニシキ」、「ササニシキ」、「たかねみのり」、「秋田39」、および、「でわひかり」である(表1)。また、参考標準米として、新潟県農業試験場提供の平成7年産「コシヒカリ」、および、滋賀県産の「日本晴」を用いた。

4. 精米1粒からのDNA抽出

プライマー検索時にはCTAB(セチルトリメチルアンモニウムブロマイド)法により米の粉碎試料からDNAの抽出を行った。この方法により抽出されたDNAは損傷が少ないというメリットはあるが、回収率が低く、比較的多くの試料を必要とする(3~5g)という欠点がある。さらに、抽出にかかる時間も長い(約8時間)。そこで、流通現場でも適応可能な小スケールでのDNA抽出法について検討した。その結果、市販のDNA抽出キット(ISOPLANT; ニッポンジーン社製)が最適であることが判明した。本キットを用いることにより、精米1粒から約2.5時間でRAPD法に適用可能なDNAを抽出することが可能となった。

5. DNA鑑別の実際

RAPD法は、迅速かつ簡便でごく少量のDNA試料の鑑別に適用できる。しかし、この方法

にも問題点がある。それは感度が高いために非特異的増幅反応が生じやすく、ややもするとその再現性が低いことである。

そこで、本研究では非特異的反応が最も起きやすいプライマーを試料とし、再現性が高く、安定した結果が得られるような条件の検討を行った。すなわち、反応系の容量、プライマーと米のDNAとの比率、およびRAPD法における反応温度、時間、特に変性とアニーリング時間の検討を詳細に行うとともに、使用するDNA増幅装置における最も再現性の高い条件を検討した。

この様なRAPD条件下で、品種によって異なるバンドが増幅され (DNA増幅多型)、注目するバンドの増幅度が高いプライマーのスクリーニングを行った。さらに、実用化を考慮し、バンドの有無 (+, -) が明瞭で、素人でも判別できるプライマーのスクリーニングを試みた。市販の10および12塩基のプライマーを約200種類、および約1,000組合せのスクリーニングを行った。ほとんどのプライマーでは対象にした米7品種で同様の増幅パターンを示した。その中で、5種類の単独プライマー (ARIF 1~5, ARIFは秋田県総合食品研究所の英語略名称) によるDNAの増幅パターンを比較することにより、7品種を判定することが可能となった。

図1,2に分析結果の一部を示した。プライマーARIF 1を用いた場合には「あきたこまち」, 「たかねみのり」, および「でわひかり」に特異的な約1,700塩基対のDNA断片が強く増幅された (「+」の判定)。ARIF 3では「キヨニシキ」に特徴的な約1,900塩基対の遺伝子が増幅された。

品種判定の結果を表2に示した。5種類のプライマーによって増幅された注目する遺伝子の有無 (+, -) のパターンを比較することにより、「あきたこまち」をはじめとする秋田県奨励7品種をタイプI~VIIの7タイプに判別することができた。また、参考品種の「コシヒカリ」はタイプVIIIとして秋田県奨励品種とは分別された。また、「日本晴」は「トヨニシキ」と同じとタイプIIIに判定された。

以上の研究より、秋田県で生産、出荷される米については、「あきたこまち」か否かを判定することができるようになった。また、1サンプルから十~数十粒分析することで、「混米」の検出も可能となった。

おわりに

本研究で開発された品種判定技術により、秋田県内で生産されている県奨励米を精米1粒からでも判別が可能となった。また、この判定手法は比較的簡便かつ迅速であり、さらに使用機器、試薬も比較的安価であることから、米の流通段階での実用化が可能であることが大きな特徴である。実際に、分析者1人で米試料10~20サンプルを2日で判定できる。今後は増幅された品種特異的DNA断片の解析を進めるなど、「あきたこまち」に特異的な

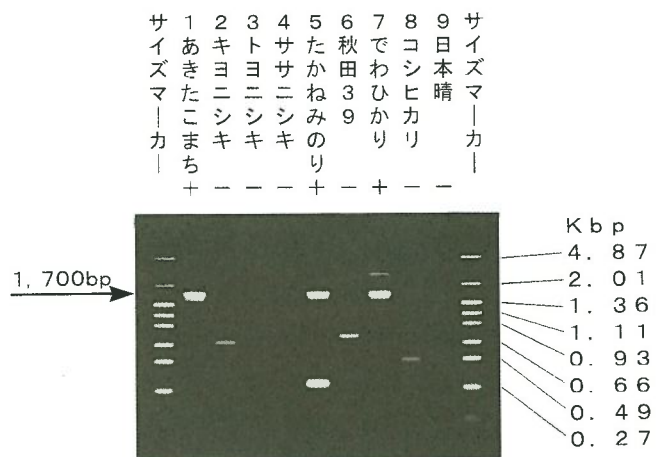


図1 ARIF 1による増幅パターン

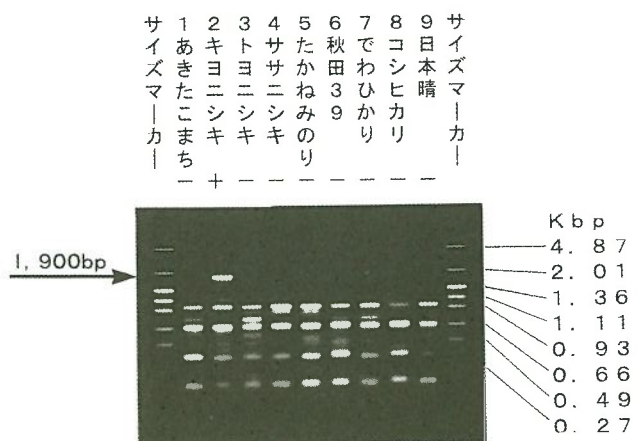


図2 ARIF 3による増幅パターン

表2 DNA鑑別による秋田県産米奨励品種の判別結果

プライマー	秋 田 県 奨 励 品 種							参考品種	
	あきたこまち	キヨニシキ	トヨニシキ	ササニシキ	たかねみのり	秋田39	でわひかり	コシヒカリ	日本晴
ARIF1	+	-	-	-	+	-	+	-	-
ARIF2	+	+	+	-	+	+	+	-	+
ARIF3	-	+	-	-	-	-	-	-	-
ARIF4	+	-	-	-	-	+	-	+	-
ARIF5	-	-	-	-	+	-	-	-	-
判別タイプ	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX

遺伝子配列の検索と解析を進めていくとともに、「あきたこまち」専用プライマーを構築することにより、さらに迅速で確実性の高い判定手法の開発を行っていきたいと考えている。

最後に、この判定技術が秋田県産「あきたこまち」の付加価値向上とブランド維持、さらには秋田県産米全体のイメージアップにつながることを期待するものである。

参考文献

- 1) 小笠原博信ら：日本食品科学工学会第44回大会講演集，54（1997）
- 2) 小笠原博信：平成9年度秋田県総合食品研究所試験研究成果概要，53（1997）
- 3) 大坪研一ら：食科工，44（5），386（1997）。

文献情報

植物を用いた汚染土壌の浄化

最近、生物を利用して汚染された環境を浄化しようという試み（バイオレメディエーション）が積極的に行われている。汚染物質を従来の物理化学的方法で除去するには莫大な費用がかかり、また、生態系への負荷も大きい。現在行われているバイオレメディエーションは、主に微生物を用いて汚染物質を分解しているが、最近、植物を用いた環境浄化（ファイトレメディエーション）も注目を集めている。ファイトレメディエーションは基本的に、植物に汚染物質を吸収させ、物理的に除去、あるいは分解や無毒化しようとするものであり、特に、重金属等の無機物汚染土壌からの汚染物質の除去に効果が期待されている。重金属汚染土壌のファイトレメディエーションを効果的に行うためには、重金属耐性及び蓄積能力の高い植物種の選択が鍵となる。また、土壌中の重金属を植物が吸収しやすい形態にする(可給態量を増加させる)ことも重要である。

ここでは、亜鉛等の重金属、及び放射性セシウム汚染土壌のファイトレメディエーションに関する研究例を紹介する。亜鉛や銅、カドミウム等の重金属を効果的に土壌から除去することができる植物種の選抜を行った。亜鉛の除去にはカラシナ (*Brassica juncea*) が有効であることが知られているが、イネ科植物では検討されていなかった。そこで、イネ科の22種の植物を用いて亜鉛、銅及びカドミウムに対する耐性と、これらのシュートにおける重金属蓄積量を調べた。カラスムギ (*Avena sativa*) とオオムギ (*Hordeum vulgare*) が特に強い耐性を示し、高濃度の重金属を蓄積することができた。カラシナは亜鉛の存在下でバイオマスが80%以上減少したのに対し、カラスムギとオオムギでは減少が20%程度にとどまった。植物体当たりの亜鉛の蓄積量もオオムギでは2 mg以上であり、カラシナの

約4倍量に相当する。実際に土壌中に存在する重金属を植物に吸収させようとした場合、重金属と土分子との結合が吸収効率を低下させる。そこで、土壌にキレート剤であるEDTAを処理したところカラシナではシュートの亜鉛蓄積量が有意に増加した。以上のことから、亜鉛やカドミウム等の重金属による汚染土壌のファイトレメディエーションには、オオムギなどのイネ科植物が有効であること、また、カラシナではキレート剤を用いることにより重金属の吸収効率が増加することが示された。

同様の研究は、放射性セシウムに関しても行われている。放射性のセシウム-137は核分裂の副産物であり、核実験や核関連施設の事故等により生じる。半減期が30.2年と長く、深刻な土壌汚染を引き起こしている。アオゲイトウ (*Amaranthus retroflexus* L.)、カラシナ [*Brassica juncea* (L.) Czern] 及びインゲンマメ (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) を用いて、土壌中の放射性セシウムの除去効率を比較検討した。アオゲイトウは単位面積当たりカラシナの30倍、インゲンマメの60倍量の放射性セシウムを除去できることが明らかになった。これは、アオゲイトウのシュートが蓄積できる放射性セシウム濃度 (38 Bq/g dry wt) が、カラシナ (5 Bq/g dry wt) とインゲンマメ (2 Bq/g dry wt) に比べて高く、これに加えて、アオゲイトウの単位面積当たりのバイオマスが他の2種より3~5倍大きいことに因ると考えられた。実際に、放射性セシウムで汚染された圃場でアオゲイトウを3ヶ月間栽培した結果、地表15cmの土壌から約3%の放射性セシウムが除去された。このことから、アオゲイトウを年に2回栽培すると、1年間で6%の放射性セシウムを除去することができ、15年以内で利用可能な濃度にまで圃場を浄化することができると試算された。

現在のファイトレメディエーションでは、汚染物質を効率よく除去することができる植物種を探すという手法が正攻法のようなものである。しかし、遺伝子組み換えなどにより、植物に新たな環境浄化機能を付加しようという試み

も始まっている。

(抄訳 渋谷健市—東北大学大学院農学研究科)

(SHIBUYA Kenichi)

Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and indian mustard (*Brassica juncea*). Ebbs S.D. and Kochian L.V. *Environ. Sci. Technol.* 32:802-806 (1998)

Phytoremediation of a radiocesium-contaminated soil: evaluation of cesium-137 bioaccumulation in the shoots of three plant species. Lasat M.M., Fuhrmann M., Ebbs S.D., Cornish J. E. and Kochian L. V. *J. Environ. Qual.* 27:165-169 (1998)

J. Environ. Qual. 27:165-169 (1998)

文献情報

トランスジェニック・クローンウシの作出

培養細胞の核を移植して個体を得るクローン作出法の成功がヒツジで報告されて以来、同様の方法を用いた試みがウシでもなされている。Cibelliらはウシ胎子線維芽細胞由来の培養細胞を用い、トランスジェニック・クローンウシを作出し、報告している。

彼らは、ドナー細胞として成長が速く、G1期の長い胎子線維芽細胞を用いた。妊娠55日齢の雄胎子由来の線維芽細胞を2回継代培養し、 β -ガラクトシダーゼ-ネオマイシン耐性遺伝子を導入し、ネオマイシンで2週間処理して選別した。これらの細胞は、サイトケラチンとヒト線維芽細胞表面マーカーにネガティブで、中胚葉起源のビメンチンにはポジティブであった。

核移植をした276個の胚を7日間培養し、33個(12%)が胚盤胞期に発生した。このうち28個の胚盤胞期胚を発情を同期化した11頭のレシピエントに移植した。超音波診断による妊娠診断の結果、胚盤胞期胚を移植後40日では6頭(55%)、移植後60日では5頭(45%)で妊娠が確認できた。複数の胎子を妊娠した個体はいなかった。妊娠249日で1頭流産し

たが、4頭は妊娠277, 286, 287, 289日で生まれた。4頭のうち1頭は生後5日で死亡した。生存している3頭のうち2頭は帝王切開で、1頭は正常分娩であった。これら5頭の遺伝子診断をしたところ、トランスジェニックした細胞核由来であることが判明した。また、生存している3頭は同じ線維芽細胞クローン由来であった。

彼らは特に細胞周期をG1期に同期化してはいないが、10%の血清を含む培養液で培養しており、血清飢餓条件にはしておらず、proliferating cell nuclear antigen (PCNA)にも82%の細胞が陽性で、56%がG1期であった。このことは、核移植により産子を得るのに血清飢餓条件やG0期にする必要がないことを示している。

培養体細胞の核移植によるクローンの作出が可能になり、遺伝的に同一な個体の作出が出来るようになった。このことは培養細胞をトランスジーンすることで、これまでより効率的なトランスジェニック個体の作出が可能であることを意味する。今後は、トランスジェニックウシの利用性の展望が広がられていくだろう。

(抄訳 松本浩道—東北大農)

(MATSUMOTO Hiromichi)

Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts

Cibelli J.B., Stice S.L., Golueke P.J., Kane J.J., Jerry J., Blackwell C., Ponce de Leon F.A. and J.M. Robl

Science, 280: 1256-1258, 22 May, 1998

文献情報

乳酸菌におけるアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子 *adhE* の存在

乳酸菌による発酵中には、ピルビン酸から乳酸や多くのマイナー代謝産物が生成される。乳中の嫌氣的な生育条件では、ピルビン酸は、

L-乳酸デヒドロゲナーゼ (LDH) により乳酸に、また、ピルビン酸ギ酸リアーゼ (PFL) によりアセチルCoAやギ酸に変換される。

*Escherichia coli*では、*adhE*遺伝子にコードされる多機能デヒドロゲナーゼにより、アセチルCoAはさらにアセトアルデヒドやエタノールになる。*E. coli*のAdhEは890アミノ酸から成る多機能タンパク質で、アセチルCoAのエタノールへの変換を触媒し、アセトアルデヒドデヒドロゲナーゼ活性とアルコールデヒドロゲナーゼ活性を持ち、さらに、PFLの不活化にも関わっている。これまでのところ、原核生物では、*Clostridium acetobutylicum*で*adhE*ホモログが報告されているのみで、それ以外は、*Salmonella typhimurium*と*Actinobacillus pneumoniae*で推定ホモログが報告されているだけである。乳酸菌においては、*Streptococcus thermophilus*はアルコールデヒドロゲナーゼ(ADH)を持たず、アセトアルデヒドはスレオニンをグリシンに変換する際に生成されていると仮定されている。しかし、乳酸菌において、*adhE*ホモログの存在が示されれば、ヨーグルトの主な香気成分であるアセトアルデヒドの生成レベルを上げるためのプロテインengineeringが可能となる。

筆者らは、PFL活性とLDH活性がないために嫌気条件では生育できない*E. coli* NZN111株を、*L. lactis*の遺伝子を用いて形質転換し、嫌気条件での生育性を回復した*E. coli*をスクリーニングした。解析の結果、この生育性の回復に関わる遺伝子は*L. lactis*の*adhE*ホモログであった。この*L. lactis*の*adhE*遺伝子は、そのDNA配列から903アミノ酸から成るタンパク質をコードしていると推定された。以前に報告されたAdhEホモログとのホモロジーは40%程度で、アルデヒドデヒドロゲナーゼをコードすると思われるN末端部分のホモロジーは高く、PFLの認識や不活性化に関わるC末端部分のホモロジーは低かった。*L. lactis* MG1363株の*adhE*遺伝子にアセトアルデヒドデヒドロゲナーゼとADH活性を持たないように変異を加えた変異株、MGKAS15株を作製した。アセトアルデヒドとエタノールレベル

を調べてみると、嫌気条件下では、MG1363株は*AdhE*によりアセトアルデヒドがエタノールに変換されて、エタノール生成が多いのに対し、MGKAS15株は*adhE*の変異によりエタノールは生成されず、*adhE*が確かにADHをコードすることが示された。

さらに、*adhE*のフラグメントをプローブに、*S. thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides*, *Lactobacillus acidophilus*のゲノムを用いてサザン分析を行ったところ、これらの産業的によく使われている乳酸菌にも*adhE*遺伝子が存在することが示唆された。また、ADH活性に関わると考えられる保存領域に変異を加えることでAdhEのプロテインengineeringを試みているということだが、これが可能になれば、アセトアルデヒドの多い、風味豊かなヨーグルトの製造に役立つかもしれない。

(抄訳 石田 優 - カルピス(株))

(ISHIDA Yu)

Cloning of the *Lactococcus lactis adhE* Gene, Encoding a Multifunctional Alcohol Dehydrogenase, by Complementation of a Fermentative Mutant of *Escherichia coli*
A. Jose, J. Flemming, M. M. Soren, V. Astrid and I. Hans. *Bacteriology* 180(12):3049-3055 (1998)

文献情報

*Prochlorococcus*の共存生態型の生理学と分子系統学

熱帯および亜熱帯海域に豊富に存在するシアノバクテリアの*Prochlorococcus*は酸素放出型光合成生物であり、この海域での最大の一次生産者と考えられている。本種は光強度に四桁もの差のある広範な深度域で生育可能であり、この光強度に対する広い適応性は、それぞれの光強度に適応した遺伝的に異なる個体群が共存しているためであるという仮説が提唱されている。実際に光強度に対する適応性の異なる二種の個体群を同一の海水から分

離し、これらの遺伝子レベルでの解析を行った研究を以下に紹介する。

クロロフィル鉛直分布の二つの極大深度の中間層より採取した海水より、クロロフィル蛍光強度の異なる二種の*Prochlorococcus*の個体群をフローサイトメトリーにより分離した。これらの個体群は光強度適応性が異なっており、高光強度型が最大限に生育する高光強度下では低光強度型の生育は大幅に阻害されていたが、低光強度下での生育は低光強度型の方が旺盛であった。これらの個体群のクロロフィルの組成についても検討した結果、低光強度型の方がchl_{a2}含量、chl_{b2}含量、b₂/a₂比ともに高いという、それぞれの型の光強度適応性を反映する差が認められた。

全く異なる地点の海水からも同様に高光強度型と低光強度型の二種の*Prochlorococcus*個体群が分離された。この二種の個体群での光強度適応性の差や、クロロフィル含量および組成の差は、採取地点の異なる海水からのものと同様であった。

これらの個体群間の遺伝子レベルでの差異の確認のため16SリボソームRNAの相同性について検討した結果、異なる二地点より分離された高光強度型間での相同性は99.7%、低光強度型間では99.2%であり、サンプリング地点による差は非常に小さかった。しかしながら

同一の海水由来の高光強度型と低光強度型での相同性はそれぞれ97.3%と97.7%であり、高光強度型と低光強度型はそれぞれの光強度に適応して進化したものと考えられる。起源の異なる他の*Prochlorococcus*との比較を行うと、高い相同性を持つ「高光強度適応型」と考えられるグループが存在していた。

広い範囲の光強度に適応し熱帯および亜熱帯海域での一次生産において重要な役割を果たしている*Prochlorococcus*は、異なる光強度に適応して進化した個体群が同一場所に共存することによって、それぞれが光強度により優勢に増殖しているのであろう。高光強度型の*Prochlorococcus*は栄養分は少ないが光強度の強い表層域で、低光強度型は栄養分は豊富であるが光強度の弱いより深い部分でそれぞれ優勢に増殖し、単一の光強度適応性の個体群では不可能な高い一次生産を可能としているのであろう。

(抄訳 北川 剛史 - マルハ株) 中研)

KITAGAWA Takeshi

Physiology and molecular phylogeny of coexisting *Prochlorococcus* ecotypes
L.R.Moore, G.Rocap and S.W.Chisholm
Nature, 393:464-467(1998)

海外便り

バレイショ塊茎内デンプン合成における スクロース分解機構の役割

農林水産省 九州農業試験場
高畑 康浩

1996年11月末より1年4カ月にわたってドイツ国植物遺伝学・作物学研究所 (Institut, für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, IPK) に在外研究員として滞在する機会を得た。IPKが所在するGaterslebenは人口わずか3,000人、日本で普通に目にするドイツの地図には載っていない小さな町であるが、研究・勉学の面では静かな環境で良いところである。近隣には、いわゆるアミューズメント系の施設は皆無であるが、南西部には「魔女伝説」と「ブロッケン現象」で知られたブロッケン山を中心とするハルツ山地が横たわり、また、すぐ隣の町はユネスコ世界遺産にも指定されているQuedlinburgで、気分転換するうえでは不自由のない所である。IPKは、Gottfried Wilhelm Leibniz科学協会傘下のほぼ植物分野に特化した研究所で、分類学、遺伝学、生理学など幅広い研究が行われており、ジーンバンクも設置されている。筆者が所属していた研究グループは、植物（主にバレイショ）の光合成・デンプン生産に関する代謝生理研究を分子生物学的手法・生理学手法を用いて行っており、その範囲はガラス室内での光合成の測定から植物体内でのシグナル伝達機構まで非常に幅広い。グループリーダーであるゾネバルト教授は1992年にIPKへ異動後、グループを拡大しながらプロモーター関連や植物体の病害ストレス反応の研究などにも精力的に取り組んでいる。

1. 植物におけるデンプン合成

植物がデンプンを合成し貯蔵するまでには、葉で炭酸ガスを同化した後、それをスクロースなどの可溶性糖に換えて貯蔵器官まで運搬し、それを基にデンプンを合成する必要がある。貯蔵器官においてスクロースが分解されデンプンが合成されるまでには多くのステップがあり、数多くの酵素が関与するとともにその制御機構は複雑で未知の部分も多い。貯蔵器官内でのデンプンの合成は大まかに3つに分けられる。第1ステップは、運搬されてきたスクロースの分解であり、インベルターゼ（スクロースをグルコースとフルクトースに分解する酵素）やスクロースシンターゼ（スクロースをグルコース6リン酸とフルクトースに分解する酵素）が主要な酵素としてあげられている。第2ステップは、スクロース分解によって生じた糖をデンプン合成に使える形にするための生化学的転換で、ヘキシキ

ナーゼ等をはじめとする数多くの酵素による非常に複雑な経路である。最後の第3ステップは、グルコース1リン酸からADPグルコースを経てのデンプンの合成である。これらのうち、第3ステップについては比較的研究が進んでおり、特にADPグルコースピロホスホリラーゼに関する一連の研究はデンプン合成における先駆的研究と言えよう。また、近年各種の作物で開発・育成が進められているモチ性の系統は、この第3ステップ内の主要酵素の一つであるデンプン合成酵素の活性を低下させたものである。しかしながら、デンプン生産能そのものを飛躍的に増加させるためには、この最終ステップを改変するだけでは不十分であることが明らかになりつつある。

2. Sucrose Cleavage Enzyme の役割

筆者は、この第1ステップであるスクロースの分解がデンプン蓄積に与える影響を解明し、それによってデンプン蓄積力をさらに強

TAKAHATA Yasuhiro

化することを目標として、研究を実施した。前述したようにこのスクロース分解に対してはインペルターゼあるいはスクロースシンターゼが重要な機能を持つと考えられているが、インペルターゼには酸性・中性や、可溶型あるいは細胞壁結合型などの種々の型があり、植物種や器官、生育時期によってこれらの種々の型が役割分担していると考えられる。ここでは、実験材料として種々の組換え体バレイショを用いて、塊茎形成初期から生育・肥大に伴うこれらの酵素活性・関連代謝物の変動を解析した。

スクロースシンターゼの活性を抑制した組換え体を用いた実験では、塊茎形成直後において既にデンプン含量が原品種と比べて大きく低下していることが明らかとなった。このことは、この酵素が塊茎形成の極初期においてデンプンの蓄積に対して既に大きな役割を持っていることを示している。

次に、従来まで活性測定の実験がなかった細胞壁結合型インペルターゼについて検討を加えた。原品種の塊茎生育に伴う活性の変動を調べたところ、生育初期においてその活性が液胞型（可溶性）に匹敵するレベルにあることが分かった（図）。現在までに、バレイショ生育期間中において、スクロースシンターゼ活性は生育初期には僅か後期に高く、液胞型インペルターゼ活性は初期に高く後期には減少、という逆相関の関係にあることが知られている。今回のこの結果は、塊茎形成初期において、液胞型よりも、むしろ細胞壁結合型インペルターゼがスクロース分解に寄与している可能性を示唆している。

そこで、細胞壁結合型インペルターゼの活性を増加させた組換え体を用いて実験を行った。この組換え体では塊茎形成時期は原品種と変わらないものの、塊茎着生後の生育程度が早く、収量は20%の増加となった。しかしながら、デンプン含有率が原品種に比べ低下していたため、デンプン収量としては原品種並にとどまった。

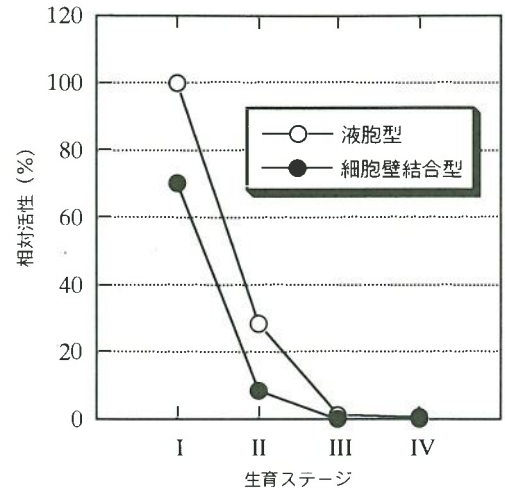


図 塊茎生育に伴う液胞型、細胞壁結合型インペルターゼ活性の推移
(ステージIの液胞型の活性を100とした相対値)

これらの結果から、細胞壁結合型インペルターゼの存在がバレイショ塊茎の肥大に重要な役割を持つことが予想されるが、このこととヘキソーストランスポーターとの関わりや、その存在が示唆されているスクローストランスポーターの役割との機能的相違、シンク細胞内でのスクロース分解との関連性など、解明されねばならない点が数多く残されている。さらに、これら一連の研究の究極的な目標としての作物生産能の飛躍的な向上を達成するためには、スクロース分解の系と上記第3ステップの系をバランスよく制御することが求められ、様々な角度からのアプローチが必要であることは言うまでもない。

3. 雑 感

一連の実験中、スクロースシンターゼの活性を抑制した系統では、生育環境の違いにより塊茎部だけでなく茎部にも変化が見られた。近年、この酵素がセルロース合成と直接にリンクしているとの報告もあり、実験対象として非常に興味深いものである。一方で、この結果は、組み換えの効果は環境に左右されることを明確に示しており、農業現場での組換え体植物利用におけるブラインドサイドを改めて見せつけられた思いがする。

筆者の滞在中、グループリーダーであるゾネバルト博士が教授に昇格した。IPKは近隣の大学の教授との兼任ポストを4つ持っており、そのうちの一つを獲得したものである。ドイツでは、教授になるためには博士の学位だけでなくhabilitation（大学教員資格）を必須とする。教授のhabilitationとなると、博士論文と同等程度の研究実績（学位を得た研究とは別に！）に加えて講義・実習などで実際に学生を指導していることが必要であるそうだ。この必須条件を満たしたうえで、公募されたポストに多くの人がアプライする。この時には1ポストに8人ぐらい応募していたようであるが、公開でのプレゼンテーションを行った後、合否判断が下される。当然、この

ような選別をくぐり抜けて得た地位は非常に価値あるものと見なされ、またこのポストは研究所のDepartment Headでもあるため、正式就任後は研究所でのオフィシャルな就任演説、公式パーティーが催された。これに伴い、組織の方もいくらかの組み換えが行われ、その柔軟性と素早さは印象的であった。

滞在を通じて、研究以外の面でも有形無形にいろいろなことを学んだと思う。時にはビールを飲みながら、研究面だけでなく社会環境や実生活など多岐にわたる事柄について生の声を聞いたことは何物にも代え難い貴重な体験とを感じる。末筆ながら、この在外研究に対してご協力とご支援を頂いた多くの方々に深く感謝いたします。

特別情報

新しい植物新品種保護制度

—— 種苗法改正について ——

農林水産省農産園芸局種苗課

篠原 隆

はじめに

優秀な植物新品種の育成が農林水産業の発展のためには不可欠である。この植物新品種育成者の権利を保護し、育種の振興を図る仕組みとして、昭和53年の種苗法改正により品種登録制度が創設された。この間、品種登録の出願件数は着実に増加を続け、年間の出願件数は1,000件を超え、累積の出願件数も11,000件に達している。

その後、国際化の一層の進展や、バイオテクノロジーの発達等を背景として、平成3年(1991年)には育成者の権利の強化等を内容とする植物新品種保護国際条約(UPOV条約)の改正がなされ(91年UPOV条約は本年4月24日に発効)、新しい国際的な植物新品種育成者の権利保護のルールに沿った、品種登録制度の改正が課題となっていた。

このため、第142回国会において、種苗法を全部改正(5月29日公布)し、品種登録制度の充実・強化を図ったところである。

改正種苗法は、本年後半(11月又は12月ごろ)に施行の予定であるが、以下に、この改正種苗法に基づく新しい品種登録制度の概要を紹介する。

対象植物の拡大

現行種苗法では、保護の対象は、政令で指定した特定の植物(現在467種類を指定)に限られていた。改正種苗法では、栽培される植物(種子植物、しだ類、せんたい類、多細胞の藻類)は広く対象となる。

SHINOHARA Takashi

なお、菌類である「きのこ」については、従来と同様政令で指定されたものが対象となる。

品種登録の要件

①区別性(公然知られた他の品種と重要な形質に係る特性によって明確に区別されること。)、②均一性(その品種の同一世代の植物体について、その特性が十分に均一であること。)、③安定性(その品種について、繰り返し増殖させた後においても特性が安定していること。)を有するものでなければならないという品種自体の基本的要件に変更はない。また、品種の④名称の適切性(品種名称が、登録商標との類似等していない、出願品種に関し誤認混同を生じない。)の要件についても変更はない。

⑤未譲渡性(種苗や収穫物が譲渡されていない)の要件については、現行法では出願品種の種苗や収穫物が「出願の日前に業として譲渡されていないこと」とされていたのを改め、「出願の日から1年さかのぼった日前」と1年間緩和している。これによって、育成者は、市場の評価を見た上で出願する品種を判断することも可能になった。

保護期間の延長

育成者権の存続期間(現行種苗法では品種登録の有効期間)は、15年(永年性植物については18年)から20年(永年性植物については25年)に延長された。

出願品種の審査

書類審査の他に現地調査や栽培試験により出願品種の審査は行われる。

登録の要件を満たしていない品種、正当な理由なく資料提出命令や名称変更命令に従わない場合、正当な理由なく現地調査を拒んだ場合は、出願は拒絶されるが、拒絶に先立ち拒絶理由が出願者に通知され、出願者には意見書の提出の機会が与えられる。

審査の結果、拒絶理由に該当しないと判断された品種は品種登録される。

育成者権の効力

改正種苗法では品種登録を受けた者の権利を「育成者権」として権利であることを明確に規定している。

育成者権は品種登録によって発生し、育成者権の効力は次の品種の利用に及ぶ。

① 登録品種（登録を受けた品種）及び登録品種と明確に区別されない品種（＝現行種苗法の登録品種に該当）

② 従属品種

③ 繁殖のため常に登録品種の植物体を交雑させる必要がある品種（＝現行種苗法の交雑品種に該当）

「従属品種」とは、登録品種を親とし、変異体の選抜、戻し交雑、遺伝子組換え等の方法により、登録品種のわずかな特性のみを変化させて育成された品種をいう。例えば、登録品種の耐病性のみを変化させた品種などが該当する。

育成者権者（＝品種登録者）は業として上記の登録品種等を「利用」（種苗（一定の場合には収穫物）の生産，譲渡の申し出，譲渡，輸出，輸入，保管等）する権利を専有することとなり，育成者権者以外の者が登録品種等の「利用」を行う場合には育成者権者の許諾が必要となる。

育成者権の効力の例外

育成者権の効力が種苗の生産まで及ぶよう拡大されたが，育種の振興や農業生産慣行との調整を図るため，次に掲げる行為には育成者権の効力は及ばないとされた。

- ① 新品種の育成その他の試験又は研究のためにする品種の利用
- ② 農家の自家増殖で法令で定める場合
- ②の農家の自家増殖とは，農業者が，登録品種の種苗を用いて収穫物を得，その収穫物を自己の農業経営において更に種苗として用いることをいう。この場合，自家増殖を開始するにあたり使用する種苗は，育成者権者等が譲渡したものであることが必要である。

また，②の農家の自家増殖については，それを制限する契約を結んだ場合又は農林水産省令で定める栄養繁殖植物に属する品種の場合には育成者権が及ぶことになる。

育成者権が行使され譲渡された種苗又は収穫物については，通常その再譲渡に対して改めて育成者権者の許諾を必要としない（権利の消尽）が，新たに種苗を生産したり，譲渡された種苗等をUPOV条約非加盟国等に輸出する場合には，育成者権者等の許諾を得ることが必要である。

特別情報

「The world seed market」 (オランダ・ラボバンク Rabobank) の紹介

生物系特定産業技術研究推進機構
田中 宏樹

オランダ第2位の協同組合金融機関であるラボバンク (Rabobank) は、同国の主要産業である農産物向けの金融事業を得意としていることから、世界の農産物市場、農業資材、食品産業に関する多くの報告書を公表してきています。

ラボバンクが96年に発行した報告書「The world seed market」は、世界の種苗をめぐる現状と種苗産業の動向を分析した貴重な資料です。本誌では、同報告書の概要を紹介します。

1. 世界の種子市場

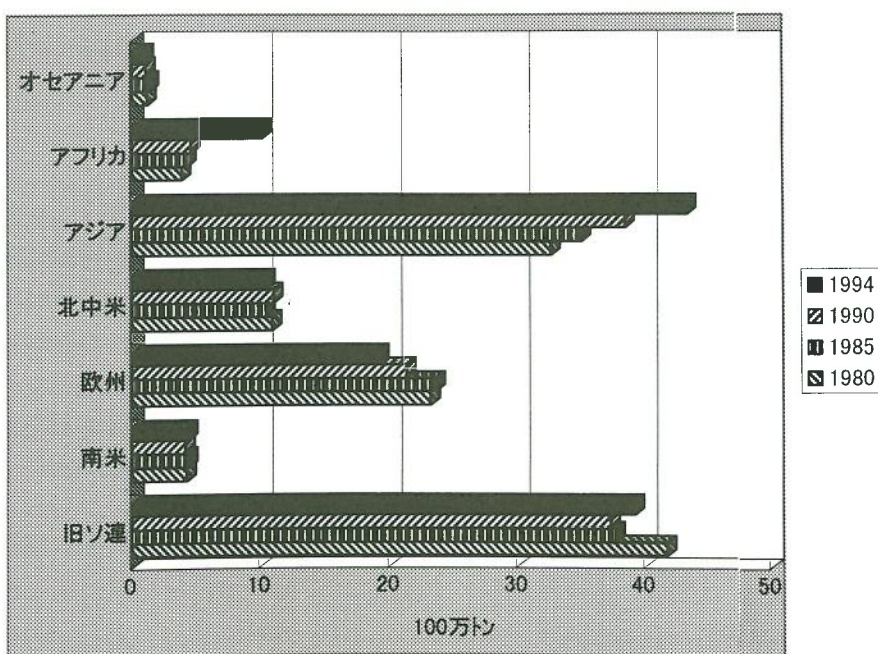
世界の種子市場規模は450億ドルと推定される。その市場は概ね以下の3つに等分される。

第1は先進国で多くみられるような通常の商業ベースで取り引きされる(1)商業的種子、第2は開発途上国では一般的で、先進国では主要農作物種子にみられる農家が自家増殖した種子、すなわち(2)自家採種種子、第3は途上国において特徴的な形態の主要農作物種子などの(3)公的機関による供給種

TANAKA Hiroki

子です(例えば、インドなどでは国営の種子会社、インドネシアなどでは公団のような組織が農家に稲・麦などの種子を供給している)。

民間企業の視点からみると種子市場とは、上記(1)の商業的種子ということになるが、その規模は450億ドルの3分の1、すなわち150億ドルということになる。商業的種子の市場は、新品種の種子に対する需要が高い農作物種子については拡大傾向にある。他方、園芸種子の市場規模は18億ドルで、うち野菜種子が16億ドルを占め、さらに野菜種子市場規模の約半分はトマトの種子である。



世界の種子消費量 (自家採種種子を含む)

商業的種子の市場規模を地域別にみると、150億ドルのうち、130億ドルがOECD加盟先進国により占められている。

これまで伝統的に行われてきた農家の自家採種は、先進国においても引き続き、小麦、大麦、ばれいしょ、なたね等の作物について行われている。他方、アジア、アフリカ、南米などの途上国地域においては、自家採種種子は総種子需要量の80%にのぼると推定されるが、アジアでは食用作物は需要増大の傾向にあり新品種の導入が必要であることから自家採種の比率は低下するとみられる。

世界の種子企業数は1500を数え、うち600が米国、400が欧州に本拠をおいている。世界の種子企業のうち上位24社で商業的種子市場の半分のシェアを占める。種子企業の将来動向については、会社の集中化は一層加速するものの、吸収・合併は、これまで以上に目的を絞っておこなわれるものとの予測される。

2. 種子産業をめぐる環境

種子会社を取り巻く環境は厳しく、種苗の品質水準に対する要求は高まり、一方で需要量は落ち込んでいる。

バイオテクノロジー分野など新たな研究開発投資を回収するためには、投資額に見合う種苗価格が必要だが、種苗市場は飽和状態にあることから、研究開発投資の回収を価格に乗せることは困難な状況にある。

このような状況の中で、種苗関係企業にとっては、市場シェアの拡大が収益を確保する唯一の手段となっている。

3. 育種の動向

主要な種苗企業は、遺伝子組換え品種の研究など先端技術開発に投資を行い、除草剤耐性、病害耐性、新たな形質の導入が可能とな

ってきたが、このことは新品種開発のコストの上昇を意味する。また、先端技術開発への十分な研究投資は、一部の大企業のみが実施可能である。先端技術の必要性が増大することは、国際的な企業統合、特にバイテク企業と種苗企業との統合による巨大グループの出現を加速するとみられる。

4. 戦略と見通し

農産物市場と同様に、種苗をめぐる市場も生産物志向（products-oriented）から市場志向（market-oriented）に変わりつつある。

市場が飽和状態にある種苗ビジネスでの企業収益は、生産・流通コストの削減と市場シェアの拡大によってのみ維持される状況にある。

収益率、品種の寿命が短くなること、一層の研究開発投資の必要性などの圧力があることから、種苗産業における、一層の集中化が見込まれる。

世界の種苗企業にあつては、綿密な市場調査に基づく確固たる戦略確定が重要である。

コメント

本報告書は、貴重な種子関係データを多数掲載しつつ、現状分析を加え、結びの部分で種子企業への経営戦略の選択枝を示し締めくくる構成となっています。

この中で、予測された種子企業の統合は、デュポン社による仏国ハイブリノーバ社の買収、米国モンサント社による穀物メジャーの1つカーギル社の種子部門買収をはじめ、現実のものとなったほか、その統合形態も報告書での予測の線に沿って進んだといえます。

昨今の情勢変化が大きい世界の種苗をめぐる環境に鑑み、改訂版の出版が強く待たれるところです。

編集後記

この4月より生研機構に参りブレインテクノニュースの編集を担当させていただいております。初めてのことで、慣れない部分も多く、ご執筆頂いた方々にも行き届かないところが多々あったかと思いますが、この場をお借りいたしまして御礼申し上げます。

改めて、バイオテクノロジーをはじめとする先端技術の世界を見渡してみますと、まず、実用化が大きく進んでいることに驚かされます。遺伝子組み換えは、今や、どのようにではなくどのような遺伝子を組み込むかが課題であり、発見した遺伝子で特許の申請を行っ

ているものすらあります。

昨年、英国で世界初のクローンヒツジが誕生しましたが、日本でも体細胞クローンによる牛が続々と産声を上げています。

もう一つ、異分野との連携で今までになかった成果が生み出されており、今後のバイオ技術の発展に欠かせない要素となっています

これら最先端の技術情報を集めながら、読者の皆様の期待に応えることの出来る雑誌作りを行っていききたいと思っておりますので、ご指導、ご鞭撻のほどよろしくお願いいたします。

(原田 記)

ブレインテクノニュース (第69号)

平成10年9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

〒105-0001 東京都港区虎ノ門3丁目18番19号 虎ノ門マリビル10F
TEL. 03-3459-6565 FAX. 03-3459-6566

編集 (社)農林水産技術情報協会

〒103-0026 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

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 1998