

CODEN: BTEEEC

TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

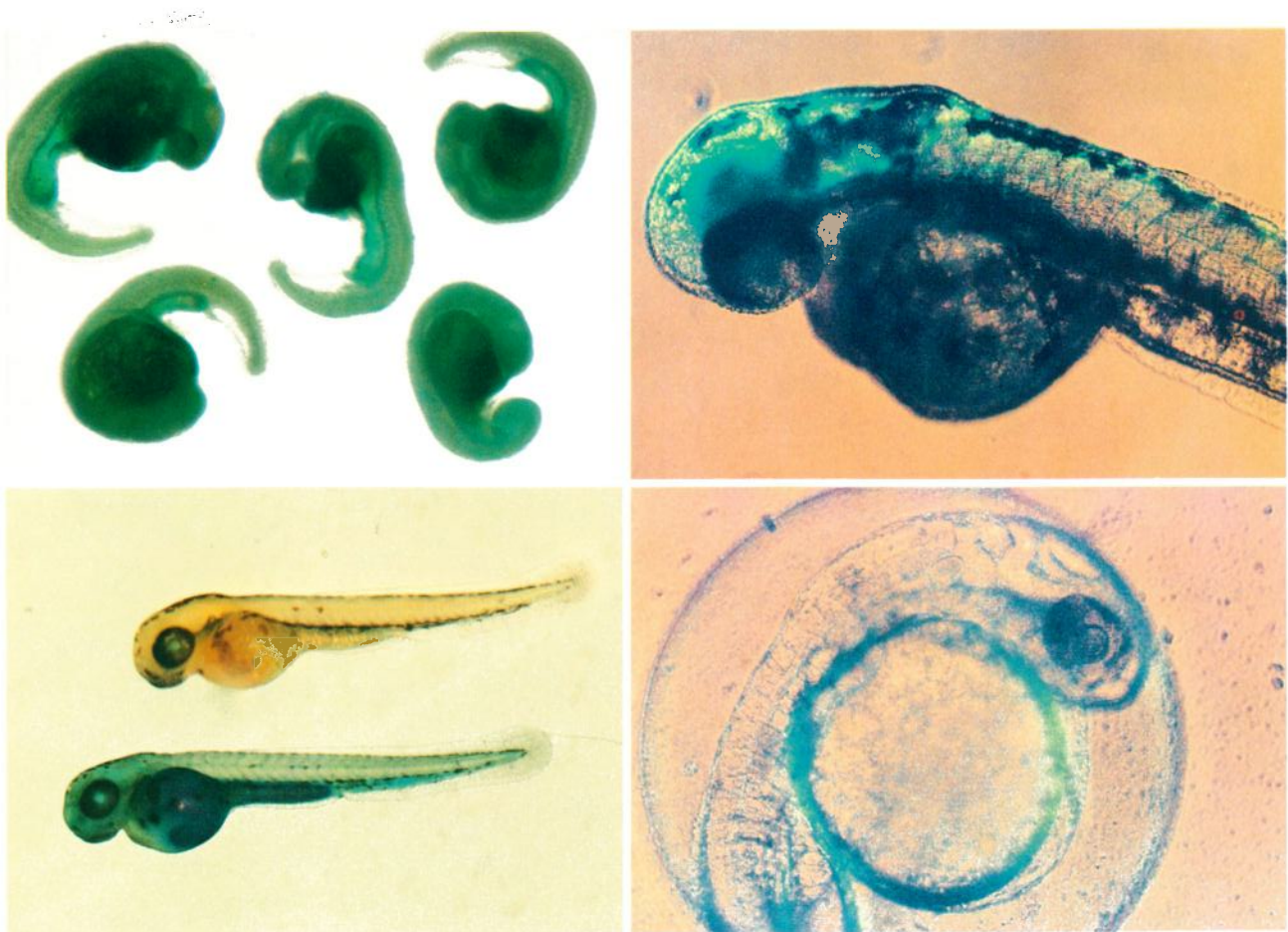
ブレインテクノニュース

第 70 号

NOVEMBER 15, 1998

# BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution



ゼブラフィッシュの遺伝子組み換え。左側 2 枚は HPS 70 プロモーター-lac Z を導入したトランスジェニックゼブラフィッシュ。上図は受精後 1 日目の胚。ストレス処理後、X gal で染色した。下図は受精後 3 日目の仔魚。上の仔魚は 28°C で飼育。下は 38°C で 6 時間熱処理によって全身が発色している。右側 2 枚は蛍光タンパク質遺伝子を導入した F 0 世代の仔魚。全身の多くの細胞が緑色蛍光を発する。(本文 5 ページ参照)

## 総 説

齊藤典行

トレハロースの特性とその利用…………… 1

## 国内情報

山下倫明

ゼブラフィッシュの遺伝子組み換え技術…………… 5

内海 成・高岩文雄

ダイズタンパク質を含有するイネ「マメヒカリ」の開発と展開…………… 9

原 敏夫

納豆の糸から納豆樹脂の開発とその利用……………13

豊田孝義

海洋深層水の資源的特性とその利用技術の研究……………16

## 地域の先端研究

西原昌宏・山村三郎

わさびから単離した新抗菌性タンパク質遺伝子とその利用……………21

## 文献情報

高濃度の炭酸ガスと水分欠乏が光合成に与える影響……………25

ACC 合成酵素遺伝子が2種類の転写物を生成する……………26

人類への警鐘……………27

## 海外便り

加藤祐輔

線虫 *Caenorhabditis elegans* の逆遺伝子学的解析

—オランダ・ネザーランド癌研究所での1年間—……………28

## 特別情報

大杉 立

イネ・ゲノムの全貌解明と有用遺伝子の単離・特許化

—農林水産省第2期イネ・ゲノム研究の紹介—……………31

# トレハロースの特性とその利用

(株) 林原生物化学研究所・開発センター  
齊藤 典行

トレハロースは1832年にWiggersにより麦角中に初めて見いだされ、1959年Berthelotによりペルシャ地方に生息する象鼻虫であるトレハラマンナから分離されたことから、トレハロースと命名された。近年、このトレハロースが澱粉を原料に2種類の酵素を作用させることにより効率よく安価に大量生産されるようになったことから、様々な利用特性が明らかにされつつある。

## 1. はじめに

トレハロースはグルコース2分子が $\alpha$ ,  $\alpha$ -1, 1結合した非還元性の二糖類である(図1)。結合様式により、 $\alpha$ ,  $\alpha$ -、 $\alpha$ ,  $\beta$ -

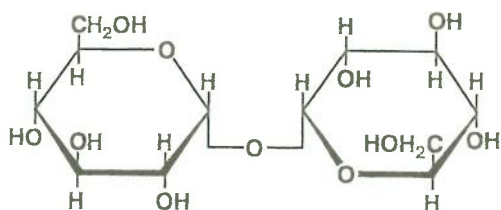


図1 トレハロースの構造式

(ネオトレハロース)、 $\beta$ ,  $\beta$ - (イソトレハロース) の3種類の異性体が存在するが<sup>1), 2)</sup>、自然界ではトレハロースとネオトレハロースの存在が確認されている。

トレハロースは、椎茸やマッシュルームなどの茸類、海藻類、パン酵母、日本酒やビールなどの酒類、大豆製品など幅広い食品に含まれている<sup>3)</sup>。中でも干し椎茸では、乾燥重量当たり10~20%も含まれている<sup>4)</sup>。

一方、砂漠に生息するイワヒバと呼ばれる植物や、クマムシなどの昆虫類、ワムシ、酵母類などは、乾燥して何年も死んだような状態になっていても、水分が補給されると生き返る。また、カエルの中には極寒の冬を凍ったままの仮死状態で過ごすものもいて、暖かくなるとちゃんと蘇生し、活動を開始するこ

SAITO Noriyuki

とが知られている。これらに共通していることは、細胞内に相当量のトレハロースを蓄積していることである。このことから、トレハロースが乾燥や凍結に対して保護作用を有することがわかってきたのである<sup>5)</sup>。

昨今トレハロースが安価に大量生産できるようになり、トレハロースの様々な特性が明らかになってきていることから、本稿ではトレハロースの製造方法、基本特性、利用特性などの概略を紹介する。

## 2. 製造方法

澱粉やマルトオリゴ糖を利用してトレハロースを生成する微生物を広く検索したところ、*Arthrobacter*属や*Rhizobium*属に属する細菌に新奇なトレハロース生成系があることがわかった(図2)<sup>6)</sup>。

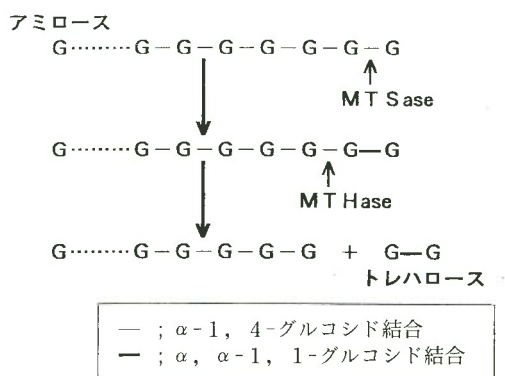


図2 トレハロース生成の基本反応

この生成系には2種類の酵素が関与している。一つは、澱粉やアミロースに作用して還元末端の $\alpha$ -1, 4-グルコシド結合を $\alpha$ ,  $\alpha$ -

## 2 総説

1, 1-グルコシド結合に変換し、トレハロース部分を生成する分子内糖転移酵素（マルトオリゴシルトレハロース生成酵素, Maltooligosyltrehalose synthase ; MTSase) である。もう一つは、還元末端のトレハロース部分とマルトオリゴシル基との間の  $\alpha$ -1, 4-グルコシド結合を特異的に加水分解し、トレハロースを生成する酵素（トレハロース遊離酵素, Maltooligosyltrehalose trehalohydrolase ; MTHase) である。

現在、上記の2種類の酵素を共同作用させることにより、澱粉を原料に85%以上の生成率でトレハロースが大量生産されるに至っている。

### 3. 基本特性

トレハロースの一般的な物理化学的性質を表1にまとめた。

トレハロースに特徴的な性質としては、pH安定性や耐熱性が高く、非還元性の糖質であるためメイラード反応による着色をまったく起こさない点である。また、相対湿度90%まではまったく吸湿を示さないことから、食品加工上安心して使用できる。

なお、トレハロースを経口摂取した場合、小腸粘膜酵素トレハラーゼにより容易に加水分解されグルコースとして吸収されることから、スクロースやグルコースと同様エネルギー値は4 kcal/gと見積もられている。

### 4. 利用特性

#### (1) 澱粉の老化抑制効果

表1 トレハロースの物理化学的性質

融点	2含水結晶：97℃，無水結晶：210.5℃
融解熱	2含水結晶：57.8kJ/mol，無水結晶：53.4kJ/mol
比旋光度	$[\alpha]_D = +199^\circ$ (c = 5, 20℃)
溶解度	68.9g/100g水 (25℃)
甘味度	45% (対スクロース)
吸湿性	RH90%まで吸湿性なし (2含水結晶)
pH安定度	99%以上残存 (4%水溶液, pH3.5~10, 100℃, 24時間)
耐熱性	99%以上残存 (10%水溶液, 120℃, 90分)
メイラード反応	着色しない (ペプトンとの反応：120℃, 90分)

澱粉使用食品は製造後、常温あるいは低温下に置くと、澱粉の $\beta$ 化が起り老化し、硬化、パサ付き、白濁などの品質劣化を引き起こす。従来は、この澱粉の老化を防止するため、 $\beta$ -アミラーゼなどの酵素剤を用いる方法、乳化剤を用いる方法、マルトースなどの糖質を添加する方法などで対処されていた。

そこで、澱粉溶液に各種糖質を加え、糖化・冷却後の澱粉の老化の程度を比較したところ、トレハロースに最も強い澱粉の老化抑制効果が確認された(図3)<sup>8)</sup>。

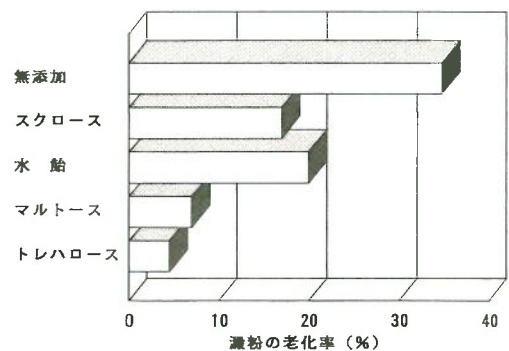


図3 各種糖質による澱粉の老化抑制効果の比較

※澱粉溶液(2%)と各糖質(12%)を等量混合し、糊化後4℃保存。保存前と12時間後の濁度の比を老化率とした。

#### (2) 蛋白質の変性抑制効果

卵白を凍結後解凍すると、卵白が変性し濁度が上昇してくる。この濁度を指標に、凍結・解凍前に各種糖質を加え、蛋白質の変性抑制効果を比較した。

その結果、トレハロースに強い蛋白質の変性抑制効果があることが確認された(図4)<sup>9)</sup>。

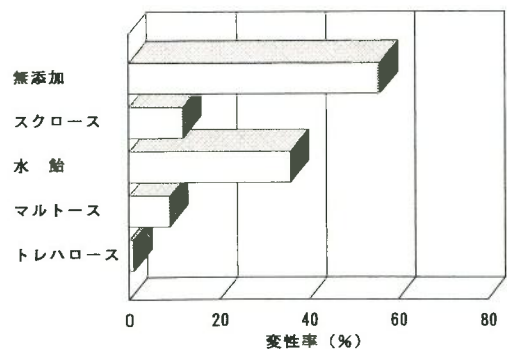


図4 各種糖質による蛋白質の変性抑制効果の比較

※95gの卵白に5gの各種糖質を加え、よく混合し、-20℃で5日間保存した。蛋白質の変性率は、保存前後の濁度の比とした。



このようなトレハロースの蛋白質の変性抑制効果を利用することで、豆腐、プリン、茶碗蒸しなどの蛋白質含有食品の冷凍化が可能となっている。

(3) 矯味・矯臭作用

醤油や食酢にトレハロースを加えると、塩辛味や酸っぱ味が強調される。一方、苦味、渋味、生臭味などの好ましくない味や臭いに対しては、それらの発現を抑制することがわかってきている。

そこで、魚肉類に対する生臭味の抑制効果を他の糖質と比較するため、サバ肉ミンチに対して2.5%の糖質を加え、加熱処理し、魚肉類の特有臭の主要成分であるトリメチルアミン (TMA) の発生状況を調べた。その結果、調べた糖質の中でトレハロースに最も強い臭気発生抑制効果があることが認められた (図5)<sup>10)</sup>。

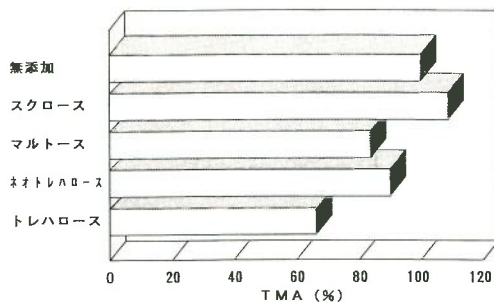


図5 魚肉加工時の気相中TMAに及ぼす糖質添加の影響

このようなトレハロースの臭気発生抑制効果は、加熱時においてTMAの揮散が抑えられることによるものではなく、TMAの前駆物質であるトリメチルアミノオキシド (TMAO) の分解が抑えられることによることがわかった<sup>10)</sup>。なお、トレハロースがなぜTMAOのTMAへの分解を抑制するのか、そのメカニズムについては解明されていない。

(4) SOD (スーパーオキシドジスムターゼ) 様活性の安定化効果

最近の研究によると、スーパーオキシドなどの活性酸素が種々の疾病や発がんの原因となり、老化にも深く関係していることが解明

されつつある。このため、種々の抗酸化物質に関する研究が活発に行われるに至っている。

トレハロースについては、それ自身には当然抗酸化作用はないが、抗酸化物質の持つSOD様活性を安定化させるという結果が得られている (表2)<sup>11)</sup>。

このように、トレハロースを加えることで野菜や果実類などに多く含まれる熱に比較的弱いビタミンA、ビタミンC、β-カロチンなどが持つ抗酸化作用を効率的に保持させることが可能となるため、抗酸化作用を有する食品や飲料のジュースや粉末化、ペースト化などへの利用が期待できる。

表2 トレハロースの種々の抗酸化物質のSOD様活性に与える影響

抗酸化物質	残存活性 (%)	
	無添加区	トレハロース添加区
α-グルコシルヘスペリジン	80	82
α-グルコシルルチン	29	57
没食子酸	62	90
D(+)-カテキン	38	72

- 1) 抗酸化物質は40%トレハロース溶液に溶解。
- 2) α-グルコシルヘスペリジン、α-グルコシルルチン、没食子酸はそれぞれ10mg/ml、10mg/ml、250μg/mlの濃度に調整後、80℃で5日間保存。
- 3) D(+)-カテキンは50μg/mlの濃度に調整後、25℃で20時間保存。
- 4) SOD様活性はNBT法にて測定。

(5) 非う蝕性

虫歯 (う蝕) は、砂糖などの発酵性糖質を摂取した際、*Streptococcus mutans*を始めとする口腔内微生物により発酵されて乳酸などの酸が作られ、これらの酸が長時間口腔内に停滞し、歯のエナメル質 (象牙質) が脱灰されることにより発生する。

この点、マルチトールやキシリトールなどの糖アルコール類は経口摂取しても口腔内微生物により発酵されず、虫歯発生の臨界pHといわれる5.5以下には下がらないため、虫歯になりにくい甘味料として各種食品に使用されている。

トレハロースについてもヒトにおける摂取試験が行われ、口腔内pH (厳密には菌垢のpH) が5.5以下には下がらないことが確認さ



写真1 マウス脛骨断面骨梁の低真空走査電子顕微鏡写真

れており<sup>12)</sup>、虫歯になりにくい甘味料としても嗜好食品を中心に広がりを見せ始めている。

#### (6) 骨代謝へ与える影響

卵巣摘出マウスを用いてトレハロースが骨代謝に対してどのような影響を与えるかについて調べられた。卵巣摘出後、100mg/kg/日の比較的低用量で4週間与えたところ、カルシウム、リン、子宮重量への影響はなかったが、骨重量の減少が有意に抑制され、また脛骨断面所見において骨梁も保持されていた(写真1)<sup>13)</sup>。

トレハロースは食品への利用によって毎日摂取することが可能であることから、骨粗鬆症の治療あるいは予防の補助的な役割が期待できる。なお、トレハロースのヒトへの影響や作用メカニズムについては現在検討されている。

#### 5. おわりに

本稿では、現在までに明らかにされているトレハロースの比較的新しい利用特性あるいは機能特性のいくつかを紹介したが、上述したように物理化学的な機能に加え、骨代謝への影響にみられるような生理的な機能も徐々に明らかにされてきていることがわかりい

ただけたと思う。

トレハロースは今までに開発された糖質にはみられない利用特性や機能がまだまだ隠されているように思われ、今後の研究に大きな期待を寄せている。

#### 文 献

- 1) G.G.Birch;Advances in Carbohydrate Chemistry,18,201-225 (1963)
- 2) A.D.Elbein;Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry,30,227-256 (1974)
- 3) 奥 和之他;日本食品科学工学誌,45(6), 381-384(1998)
- 4) 濱田正一;月刊フードケミカル,1,57-62 (1997)
- 5) J.H.Crowe et al.;Biochim.Biophys.Acta,947, 367-384(1988)
- 6) K.Maruta et al.;BiosciBiotech.Biochem.;59, 1829-1834 (1995)
- 7) 田淵彰彦他;応用糖質,42,401-406 (1995)
- 8) 榊林原商事Lプラザ;食品と開発31(5),48 (1996)
- 9) 榊林原商事Lプラザ;食品と開発,31(7),47-48(1996)
- 10) 奥 和之他;日本食品科学工学会誌へ投稿中
- 11) 阿賀 創他;日本食品科学工学会誌,45(3), 210-215(1998)
- 12) 阿部一彦他;東北大学歯学部口腔生化学講座報告書 (1997)
- 13) 西崎泰司他;医学と生物学, 137(3) 91-96 (1998)

## 国内情報

ゼブラフィッシュの  
遺伝子組み換え技術

水産庁 中央水産研究所

山下 倫明

小型の熱帯魚の一種、ゼブラフィッシュを実験材料として遺伝子機能を解析する研究手法が可能となってきた。ゼブラフィッシュへの遺伝子組み換え技術に関する最近の研究動向を解説する。ストレス応答性HSP遺伝子を導入することによって、環境水の水温、化学物質などのストレスに伴って外来遺伝子を発現させる遺伝子発現系の開発に成功した。

## 1. ゼブラフィッシュ研究の現状

脊椎動物における発生の分子機構の研究材料として、ゼブラフィッシュを利用する動きが世界的に広がっている。十数尾の親魚から毎朝数百個の受精卵を採取することができ、飼育、繁殖が容易で、3、4カ月で成熟し、雌性発生、雄性発生を利用してクローン化も可



図1 ゼブラフィッシュの成魚

能である(図1)。胚の培養は簡単で、卵膜が透明なので顕微鏡下で生かしたまま発生を観察できる。二日間の培養で受精から孵化まで進むので、短時間に効率的に実験をこなすことができる。ショウジョウバエの分子遺伝学でノーベル医学生理学賞を受賞したNusslein-Volhardを中心として、ドイツではゼブラフィッシュの形態形成異常のミュータントを数千系統作出するプロジェクトが始ま

り、ゼブラフィッシュを扱う研究者数が飛躍的に増大してきた。Development誌増刊号(vol. 123)にその最初のスクリーニングの結果が報告されている。ゼブラフィッシュを実験動物として用いる際の一連の実験法はすでにマニュアル化されており、オレゴン大学Westerfieldらによって「Zebrafish Book」としてインターネット上で公開されている(<http://zfish.uoregon.edu/>)。

このようにゼブラフィッシュは遺伝学と発生生物学の両面から研究を進めることのできる生命科学の重要な実験動物であり、その成果が水産有用魚種の研究開発にも結びつく利点と魅力がある。

2. ゼブラフィッシュへの  
遺伝子導入法

魚類への遺伝子導入技術は名古屋大・尾里らによって、メダカ卵母細胞へのDNAマイクロインジェクション法が最初に確立されたものである(1)。その後改良が進み、受精卵一細胞期の細胞質に外来DNAをマイクロインジェクションで注入する方法が定着している。この手法がコイ、キンギョ、ゼブラフィッシュ、サケ科魚、ティラピアなど多くの魚種に応用されている。

ゼブラフィッシュでもマイクロインジェクション法による遺伝子導入法が定着している(2)。産卵直後の一細胞期の受精卵に実体顕微鏡下で外来DNAを注入すると、そのDNA

YAMASHITA Michiaki

のほとんどは分解されるが、一部は細胞分裂の過程で染色体に取り込まれる。うまく生殖細胞に外来遺伝子が組み換えられると、外来遺伝子は次世代に伝達され、新たな遺伝子機能を獲得した系統ができる。約200個の受精卵に外来遺伝子を注入すると、その半数が成魚まで成長し、さらにそのうちの数尾から外来遺伝子を発現する次世代のトランスジェニックフィッシュが得られる。外来遺伝子の導入の判別は尾鰭または受精卵から抽出したDNAを鋳型としてPCR法によって分析し、また、遺伝子発現はノザンプロット、RT-PCR、ウエスタンプロットなどの方法で確認する。導入する遺伝子の発現の確認を容易にするために、遺伝子産物のN末端またはC末端にHis-Tag、GFP-Tagなど認識配列を導入しておけば、Tag配列の特異抗体を利用して、導入遺伝子産物と内在性のタンパク質とを区別して検出することが可能となる。

トランスジェニックフィッシュ作出にあたり、重要となるのが遺伝子発現系に用いるプロモーターの選択と設計である。つまり、どの細胞・組織でいつどの時期に発現させるかが実験系を設計するうえで最も重要な要素となる。これまでのトランスジェネシス研究は各魚種での遺伝子導入法を最適化するための手法確立が主であり、プロモーターには哺乳類培養細胞系用として市販されているヒトサイトメガロウイルス (CMV)、アカゲザルポリオーマウイルス (SV40) 由来のプロモーターを含む発現プラスミドをそのまま用いた例がほとんどである。これらのプロモーターはほぼ全身で発現するが、過剰発現の目的のためには不十分である。全身すべての細胞種での発現や組織特異性を期待する場合は魚類由来、とくにゼブラフィッシュ由来の遺伝子を利用するのが望ましい。しかしながら、魚類由来の遺伝子プロモーターで現在利用できるものは少なく、目的に応じてプロモーターを使い分けるといことはできない状況にある。全身の細胞で外来遺伝子を過剰発現させる目的に魚類HSC70遺伝子プロモーターが有用であることを筆者らは見だし、トランスジェ

ニックフィッシュの作出に利用している。

一方、誘導性のプロモーターは特定の時期にだけ、外来遺伝子を発現させる目的で必要となる。熱ショックプロモーターは細胞レベルでの熱ストレス、重金属、化学物質、放射線などによって誘導されるものであり、魚類の個体レベルでのストレス応答を調べるため、筆者らがニジマスからクローン化し、これを用いてトランスジェニックフィッシュを作出した。

### 3. トランスジェニックフィッシュを用いる遺伝子機能の解析

ゼブラフィッシュを用いる実験系の特徴は、表現形質に変異をもつミュータントを用いて原因遺伝子を解析するフォワードジェネティクスと、クローン化された特定の遺伝子の機能を遺伝子導入手法によって解析するリバースジェネティクスの両面から研究を進められる点にある。

変異原物質エチルニトロソウレアやガンマ線照射によって突然変異を誘発する手法でミュータントを得て、ポジショナルクローニングによって遺伝的変異を解析することが可能となっており、初期発生に関わる変異体のスクリーニングが世界的に進められている(3)。

一方では、特定の遺伝子またはそのドミナントネガティブ変異型のを過剰に発現させることによって、遺伝子機能を高めたり、抑制する手法も可能となってきた。

魚類でもES細胞樹立やクローンヒツジを可能にした体細胞核移植が試みられており、

あと一步のところまで来ている。近い将来、魚類の特定の遺伝子座のみを改変し、特定の器官・組織で目的遺伝子を効率よく発現させる技術が確立されるだろう。

大腸菌や酵母のゲノム解析が今や終わり、2003年にはヒトの全塩基配列が決定されるといふ。しかし、塩基配列決定後も高等動物のもつ約10万個の遺伝子のうちその半数以上が機能の不明なものであると推定されている。その場合、大腸菌、酵母、ショウジョウバエ、マウスとともに、ゼブラフィッシュが実験生



物として重要なものとして位置づけられ、これら実験生物間での普遍的な遺伝子の機能、あるいは魚類特有の機能が明らかになるだろう。たとえば、肉質や体色、斑紋など水産物としての品質に関わる遺伝的要素、脳・神経系、生体防御といった高等動物の高次な機能、発生、成長、生殖、老化といった生命の基本現象、行動、群れ、回遊といった本能的な生態現象などを研究の対象とすることによって、魚類ならではの研究展開が期待される。生命現象を担う分子機構を解明する上で、魚類が研究材料としてますます重要となってくるに違いない。

#### 4. ストレス耐性のメカニズムを追う

水温変動、紫外線、放射線、浸透圧、高水圧などの物理的ストレス、重金属や汚染物質などの化学的ストレス、飢餓、感染などの生理的ストレスが魚類をとりまわっている。天然海域での卵稚仔魚の生き残りには、餌密度、被捕食とともに環境ストレスが重要な意味をもつ。また、人為的にコントロールされた増養殖の場でも、高水温、高密度条件での飼育が成長や成熟に悪く影響することが知られている。どのようなストレス源が魚類生理に障害をもたらすのか、魚類にとってストレスの種類と度合いを知ることは、水産研究の重要な課題である。

ストレス状態にある細胞ではストレスタンパク質(stress protein)の誘発を伴う。この機構は広く生物に分布している。ストレスタンパク質は細胞内のリボソーム上で合成途上の新生タンパク質の立体構造の構成、タンパク分子間の会合、細胞内膜輸送、変性タンパク質の分解に関与し、分子シャペロン機能を発揮すると考えられている。ストレスタンパク質として、数十種類の遺伝子が存在すると考えられているが、HSP70はこれまで最もよく研究されてきたストレスタンパク質である。HSP70の発現レベルを調べることによって、魚類に対するストレス状態を知ることができると考え、筆者らは遺伝子の単離と発現の解

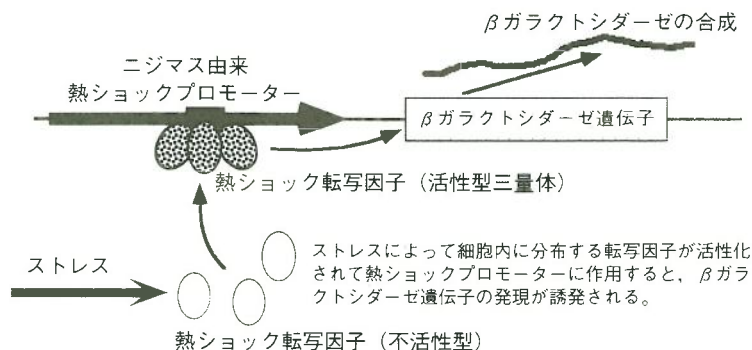


図2 ストレスによって誘発される遺伝子発現系の模式図

析を進めてきた(4)。

ストレスタンパク質遺伝子の発現は細胞内に分布する熱ショック転写因子と呼ばれるタンパク質が調節している。通常、この因子は不活性型単量体なのだが、細胞へのストレスによって分子構造が変化して、三量体となり、活性型に変換される。これが、ストレスタンパク質遺伝子上流域調節配列である熱ショックプロモーターに作用して転写を促進する。魚類の熱ショックプロモーターに大腸菌βガラクトシダーゼ遺伝子(魚類には存在しないので遺伝子発現の指標となる遺伝子)を連結した遺伝子をつくり、ゼブラフィッシュに導入した(図2および表紙写真)(5)。このトランスジェニックフィッシュがストレスを受けると、導入された熱ショックプロモーターの作用によって細胞・組織にβガラクトシダーゼが蓄積される。この酵素の作用によって発色する試薬で染色すると、ストレスを受けた身体の部位が青色に発色し、ストレスの度合いを観察することができる。さらに、熱ショックプロモーターなどストレス応答性のプロモーターの下流に、レポーター遺伝子としてオワンクラゲ由来の蛍光タンパク質GFP遺伝子を連結したストレス応答性遺伝子発現系を導入したトランスジェニックフィッシュの開発も進めている。受精卵や仔稚魚を活かしたまま、熱ストレスや環境ホルモン・汚染物質などの影響による遺伝子の発現動態を蛍光観察によってリアルタイムで調べることも可能になりつつある。

魚類細胞を用いる筆者らの研究によって、水温、浸透圧、汚染物質など様々なストレス

に対してそれぞれに特異的な遺伝子が誘発され、細胞分裂、細胞骨格、膜機能、情報伝達などの細胞レベルでの機能的変化が制御されることが明らかとなってきた(4, 6)。これらの多くは他の高等動物がもたない魚類特有の細胞機能であり、行動・回遊や発生・成長など魚類生理を特徴づける点で重要な生理的役割を果たしているものと推定される。筆者らは、先端の遺伝子解析技術を活用して、環境耐性に直接的に関与する遺伝子、例えばストレスタンパク質、細胞分裂周期因子、抗菌・抗ウイルス因子などを形質導入したトランスジェニックフィッシュの種々の系統を作出し、ストレス下での導入遺伝子の発現動態と発生、成長、成熟、行動など魚類生理への影響を解析する予定である。これまで未知の研究領域であった環境ストレスによる生体への影響のメカニズムを解明することにより、多種多様な生物間での個々の遺伝子の普遍性と特殊性が明確になるだろう。海洋における生命の進化過程で魚類が獲得してきた生物機能の本質を究明し、体系化したいと考えている。

## 文 献

- 1) K. Ozato et al.: Production of transgenic fish: introduction and expression of chicken delta-crystallin gene in medaka embryos. *Cell Differ.*, 19, 237-244 (1986).
- 2) 岡本仁: ゼブラフィッシュで分子生物学を始めるための手引き. *細胞工学*, 11, 600-604 (1992).
- 3) J. Zhang et al.: Positional cloning identifies zebrafish one-eyed pinhead as a permissive EGF-related ligand required during gastrulation. *Cell*, 92, 241-251 (1998).
- 4) 山下倫明: ストレス応答に関わる遺伝子. 魚類のDNA分子遺伝学的アプローチ(青木・隆島・平野編)p. 219-243, 恒星社恒星閣(1997).
- 5) M. Yamashita: Transgenic zebrafish as a biosensor. in "Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects, Vol. 10", Kluwer, Dordrecht, in press.
- 6) M. Yamashita et al.: Molecular cloning and cold-inducible gene expression of ferritin H subunit isoforms in rainbow trout cells. *J. Biol. Chem.*, 271, 26908-26913 (1996).

## 国内情報

## ダイズタンパクを含有するイネ 「マメヒカリ」の開発と展開

京都大学食糧科学研究所、\*農林水産省 農業生物資源研究所

内海 成、\*高岩 文雄

ダイズタンパク質をコメに集積させることにより、人の血清コレステロール値低下機能および食品加工特性が付加され、栄養性が改善された「マメヒカリ」を開発することを試みている。実用品種化の暁には、「マメヒカリ」を毎日主食として食することにより、コレステロールの心配をする必要がなくなるとともにバランスのとれたタンパク質を摂取できる。しかも、長期貯蔵により食味が低下すれば、加工食品の製造に利用でき、一石三鳥の効果が得られる。

### 1. はじめに

21世紀は、食糧問題が人類にとっての最重要課題である。慢性疾患やアレルギーなどの食源性病態の急増と高齢化社会の到来、および、人口増大と環境悪化に伴う食糧不足がその理由である。地球上において耕地として利用できる土地には限りがあるうえに緑地の砂漠化のために、耕地の拡大による増産は困難となってきた。また、灌漑施設や化学肥料・農薬などの単収増加技術の活用にもコストや環境保全の点で限界がある。したがって、この食糧問題の克服には、食糧・食品の質的（利用性、生理機能性）・集積的（集積量、集積部位）形質を格段に向上させる方途の開発が望まれる。このような観点から京都大学食糧科学研究所鬼頭誠（現名誉教授）を中心に、同研究所吉川正明、村田幸作、三上文三、農林水産省農業生物資源研究所田部井豊、名古屋大学大学院生命農学研究科松田幹、および筆者らが研究チームを結成し、平成8年度に発足した、生研機構による「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」として「生理機能調節性タンパク質集積作物の開発と利用に関する総合的基盤研究」を推進している。本プロジェクトでは、多くの優れた特性を持つダイズタンパク質を高度に発現・集積するイネ「マメヒカリ」を開発するという研究をメインテーマの一つとして取り挙げている。

### 2. ダイズタンパク質

ダイズは約40%のタンパク質を含み、豆腐、油揚げ、凍り豆腐などの種々の伝統的な加工食品の製造に用いられる。また、そのタンパク質は、ハム、ソーセージや冷凍・チルド食品などの品質改良材として、さらには肉用食品の製造にも利用されている。このように種々のテクスチャー、形態を持つ食品あるいは食品素材をダイズから作ることが可能である。これは、ダイズのタンパク質が、それらの製造に必要な組織形成性、加熱ゲル化性、乳化性、保水性などの加工特性を備えていることに基づいている<sup>1)</sup>。さらに、ダイズタンパク質は、毎日コンスタントに食すると血清コレステロール値を低下させるという機能を持っており、食源性疾患の増大や高齢化社会の到来に対処するのに適した食品素材である。また、ダイズタンパク質は、含硫アミノ酸を、コメタンパク質はリシンを制限アミノ酸としているが、互いに補完的である。

ダイズの貯蔵タンパク質は、塩溶液可溶性のグロブリンが主体である。その主要成分は、グリシニンと $\beta$ -コングリシニンであり、それぞれが全種子タンパク質の約40%と30%を占めている。一般に、グリシニンの方が栄養性、加工特性において優れている。また、グリシニンが上述の血清コレステロール値低下機能を担っていると考えられている<sup>2,3)</sup>。

グリシニンは6量体構造を持ち、その構成サブユニットは、I型（3種）とII型（2種）

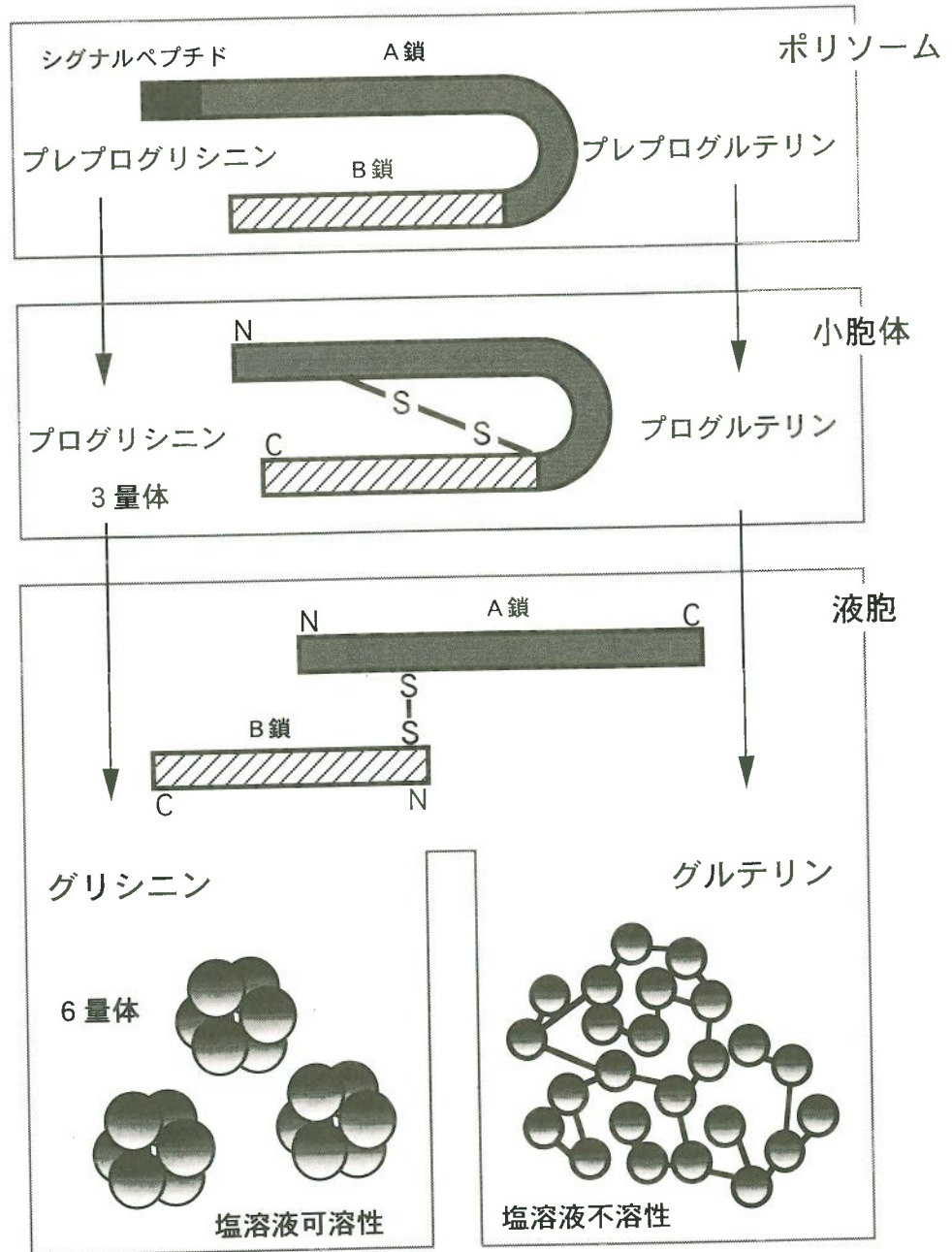


図1 グリシニンおよびグルテリンの生合成・輸送・集積過程  
N、N末端；C、C末端；S-S、ジスルフィド結合

に分類される<sup>4)</sup>。各サブユニットは、等電点が酸性であるA鎖と塩基性であるB鎖が1個のジスルフィド結合で会合した構造を基本構造としている。これらは、ポリソーム上でシグナルペプチド、A鎖、B鎖と続く1本鎖のプレプログリシニンとして生合成され、小胞体へ移行するときにシグナルペプチド部のプロセッシングを受けてプログリシニンとなる。これは、小胞体中では3量体として存在する。

引き続き、小胞体から液胞へと輸送され、A鎖とB鎖の間でプロセッシングを受けて成熟型となり、6量体に分子集合する。そして、高密度に集積してプロテインボディーを形成する(図1)。

### 3. コメタンパク質

コメは、全世界で年間約5.5億トン生産さ



れ、そのほとんどが主食として直接食される。コメのタンパク質は、コムギやダイズのタンパク質とは異なり、加工特性を持たない。このため、長期備蓄により食味の低下したコメの有効利用を図ることが困難である。また、ダイズタンパク質が持つような健康維持・増進機能も報告されていない。

コメの貯蔵タンパク質は、70%アルコールに可溶性のプロラミンと希酸/希アルカリに可溶性のグルテリンが主体であり、特に、グルテリンが80%程を占めている<sup>4)</sup>。グルテリンにはA型とB型のサブユニットが3種ずつ同定されている。各サブユニットは、グリシニンと同じ基本構造を持ち、そして同様の生合成、プロセッシング、輸送過程を経て、液胞に高密度に集積してプロテインボディを形成する(図1)。しかし、グリシニンとは異なり、サブユニット間ジスルフィド結合や疎水の相互作用によって巨大分子化している。小胞体内、そして小胞体から液胞への輸送過程における分子集合状態は不明である。

グリシニンが塩溶液可溶性で優れた加工特性を示すのに対し、グルテリンは巨大分子を形成しているために塩溶液不溶性であり、また、コムギタンパク質が作るドウも形成しないために有意な加工特性を示さない。このように、両タンパク質の特性は全く異なるが、上述のように基本構造や生合成過程が共通しており、しかも、1次構造に32~37%の相同性がある。これらのことから両タンパク質は共通祖先に由来すると考えられている。したがって、優れた加工特性を持ち、血清コレステロール値低下機能を備え、栄養性がコメタンパク質と補完的であるダイズグリシニンを、コメの特性を損なうことなく発現・集積させることが可能であると期待される。

#### 4. 「マメヒカリ」の開発

貯蔵タンパク質は、種子の登熟期に、ダイズでは子葉および胚部で、コメでは胚乳部で大量に生合成される。このような生合成時期、生合成部位、生合成量を決定しているのは、

それらの遺伝子である。本研究では、ダイズグリシニンをコメグルテリンと協奏的に胚乳部で集積させる必要があるため、グルテリン遺伝子のプロモーターを用いることが望ましいと考えられる。グルテリン遺伝子のうち、GluB-1遺伝子のプロモーター(GluB-1プロモーター)は、約1.3kbという比較的短い長さで、グルテリンB-1の時期、部位特異的な大量発現に十分であることを見出ししていた。短い方が遺伝子操作が容易であるため、このGluB-1プロモーターを用いることにした。

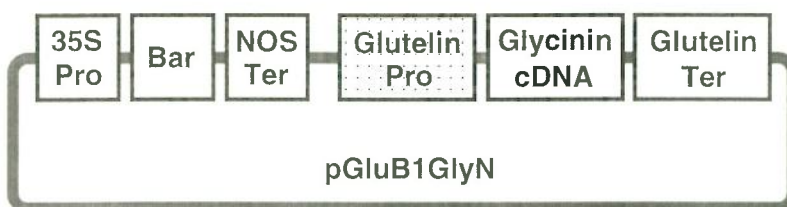


図2 グリシニン遺伝子導入用プラスミドの構築  
Pro、プロモーター；Ter、ターミネーター；Bar、ピアラフォス耐性遺伝子；Nos、ノバリンシンテース遺伝子

イネ(品種:松山三井)のプロトプラストに図2に示したプラスミドをエレクトロポレーション法によって導入し、Bar遺伝子によるピアラフォス耐性個体を選抜・再生した。そのうち、PCR法によってグリシニン遺伝子の存在を確認できた65個体に関して、種子におけるグリシニンの集積レベルを調べた。最も高い集積レベルが観察された系統の最初の自家受精種子( $T_0$ 植物体の種子)50粒に関して集積レベルを調べた。その結果、全種子タンパク質当たり最大5%という、異種タンパク質の集積としては比較的高いレベルが得られた。集積レベルの度数分布を求めたところ、集積レベルの高いもの、中ぐらいのもの、低いもの、集積していないものが、それぞれおよそ4分の1ずつの割合であった。2倍体植物( $2n$ )であるイネの胚乳部は重複受精によって $3n$ となっている。したがって、グリシニン遺伝子の単一コピーもしくは複数コピーが良く連鎖したゲノム領域に挿入されていると考えられる。 $T_0$ 植物体の種子のうち集積レベルの高いものは、グリシニン遺伝子がホモになっていると考えられる。そこで、半粒

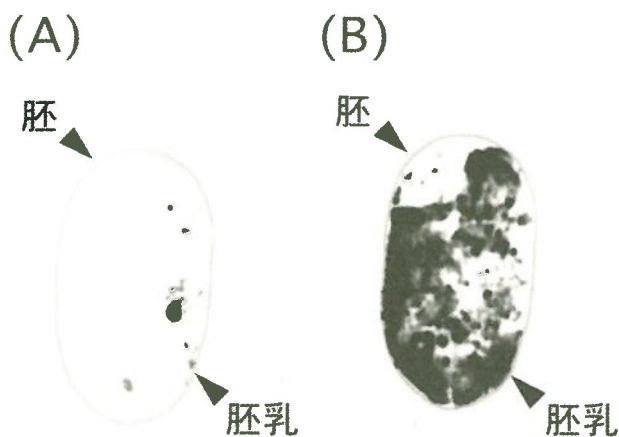


図3 ティッシュプリント法によるグリシニン集積部位の同定  
(A)非形質転換体：(B)形質転換体

分析法により集積レベルの高い $T_0$ 植物体の種子に由来する次世代 ( $T_1$ ) を育成し、その種子10粒の集積レベルを調べたところ、全てで高い集積レベルが観察された。すなわち、グリシニン遺伝子の固定された高発現系統を育成できた。一方、グリシニンの発現の部位特異性をティッシュプリント法で調べたところ、胚乳部特異的な発現が観察された (図3)。また、組織免疫化学的な電子顕微鏡観察の結果、グリシニンはグルテリンと同様にプロテインボディーⅡにソーティングされていることが解った。また、成熟型へのプロセッシングや6量体への分子集合も、完全ではないが、ダイズにおけるのと同様に起こるということが確認できた。したがって、グリシニンを高度に発現・集積するイネ「マメヒカリ」を実用品種化する基盤を確立することができたと言える。

### 5. 今後の展開

ダイズグロブリンを毎日、一日当たり6g以上摂取すると血清コレステロール値の低下機能を期待できる<sup>5)</sup>。グリシニンはダイズグロブリンの約40%を占めているので、一日当たり2.4gのグリシニンが、その機能発現に必要なである。コメは乾燥重量当たり約7%のタンパク質を含んでいるので、今回作出した

「マメヒカリ」は100g当たりグリシニンを約350mg含んでいることになる。したがって、この「マメヒカリ」を一日当たり686g摂取することにより血清コレステロール値低下機能を期待できる。日本では、1人1日当たり200-250gのコメを食しているのので、「マメヒカリ」だけで、その機能発現を望むためには、グリシニンの集積レベルを現在の3倍程度高める必要がある。一方、「マメヒカリ」がダイズのような食品加工特性を示すためには、グリシニンの集積レベルを少なくとも4-5倍高める必要があると考えている。したがって、集積レベルを高めることが実用品種化のために不可欠である。そこで、1) グリシニンのサブユニット種によってコメにおける集積適性が異なる、あるいは効率的な集積に他のサブユニットの共存が必要である可能性；2) 形質転換体の作出効率の高いアグロバクテリウム法による形質転換；3) グルテリン含量の低いコメではグリシニンの発現レベルが増大する可能性、などを検討している。実用品種化のために越えねばならないもう1つのハードルは、安全性とアレルギー性の検証である。人間が古来より食してきたダイズの遺伝子をコメに導入しており、また、グリシニンにはアレルギー性が報告されていないので、安全性やアレルギー性に心配はほとんどないと期待される。しかし、これらの点は徹底的に検証される必要がある。生研機構プロジェクトの一環として、安全性を村田幸作が、アレルギー性を松田幹が検証している。

### 文 献

- 1) Utsumi, S. et al., (1997) in Food Proteins and Their Applications, pp. 257-291, Marcel Dekker, New York.
- 2) 菅野道廣 (1996) 食品工業, 39: 59-68.
- 3) 内海 成 (1997) 食品工業, 40: 68-79.
- 4) Utsumi, S. (1992) Adv. Food Nutr. Res. 36: 89-208.
- 5) 井村 隆 他 (1996) Ther. Res. 17: 573-578.

## 国内情報

納豆の糸から納豆樹脂の  
開発とその利用

九州大学農学部附属遺伝子資源開発研究センター

原 敏夫

納豆の糸に放射線（コバルト60、ガンマ線）を照射して生成する納豆樹脂。水を吸収し、膨潤した透明なハイドロゲル。保水能力は抜群。納豆のネバネバたった1グラムで5 lの水が蓄えられる。市販の紙オムツや生理用品の5倍の吸水力。ガンマ線照射量と納豆の糸の濃度の組合わせでいろいろな性状を持つ納豆樹脂が得られる。放射線照射で適度の橋架けを受け、納豆の糸の間で三次元構造を取り、できたすき間に水分子が閉じ込められて吸水力が生じる。

## 1. はじめに

納豆の糸がネバネバするのはポリグルタミン酸というポリアミノ酸のしわざである。われわれ日本人にとっては馴染みの食べ物にも拘わらず、納豆の糸の構造、生合成経路、及びその機能ともまだ明らかではない。GPCカラムを用いてカルボキシル基数から算出すると、このポリグルタミン酸の平均分子量は百万以上にも達する。ところがこのアミノ酸ポリマー、ちょっと変わっていて、自然界に存在するアミノ酸はL型なのに、納豆のネバネバの中にはなんとD型のグルタミン酸が含まれている。しかも納豆の熟成につれて、このD型のグルタミン酸の割合が80%以上にまで増えていく。

納豆の糸を巡るもう一つ不思議なことは、一般に地球上のタンパク質はL型の二十種類あまりのアミノ酸がアルファー結合しているのに、納豆の糸をつくるグルタミン酸とグルタミン酸の間のつながり方は大変珍しいガンマー結合をしたヘリックス構造をとっている。納豆が糸を引くヒミツはここいらにありそうだ。

## 2. 納豆の糸から吸水性樹脂の合成

納豆の糸（ポリグルタミン酸、再生産可能

HARA Toshio

なバイオポリマー）に放射線（コバルト60、ガンマ線）を照射すると納豆樹脂（図1左手前）ができる。この納豆樹脂は、水を吸収すると、膨潤して透明なハイドロゲル（図1ビーカーの中）になる。納豆樹脂の合成はガンマ線の照射線量密度に依存し、納豆の糸の成分であるポリグルタミン酸濃度10%、ガンマ線照射線量20kGyのとき5千倍の吸水率に達する。また、照射線量の増加に伴い吸水率は減少し、100kGy以上では200倍程度で一定になる。吸水率の減少は架橋点密度の増加により、網目構造が密になるためと考えられている。そのためゲル強度は増加し、1%寒天とほぼ同じゲル強度となる。納豆樹脂の生成メカニズムは、ガンマ線照射により水分子から開裂、生成したOHラジカルがポリグルタミン酸に移動し、このポリグルタミン酸同志でランダムに架橋が形成されることに起因する。

放射線照射で適度の橋架けを受け、納豆の糸の間で三次元構造を取り、できたすき間に水分子が閉じ込められて吸水力が生じる。吸水力はグルタミン酸のアルファー位のカルボキシル基数に依存するようだ。吸水材あるいは水を含んだゲル状態は私達の生活にきわめて身近なものといえる。例えば、豆腐、コンニャク、ゼリーなどはたくさん水を含んだゲル状の食品として昔から馴染み深い。納豆の糸は安全で、食品、医薬、化粧品などの分野で増粘剤、除放射性担体材料、保湿剤などへの応用が期待できる。



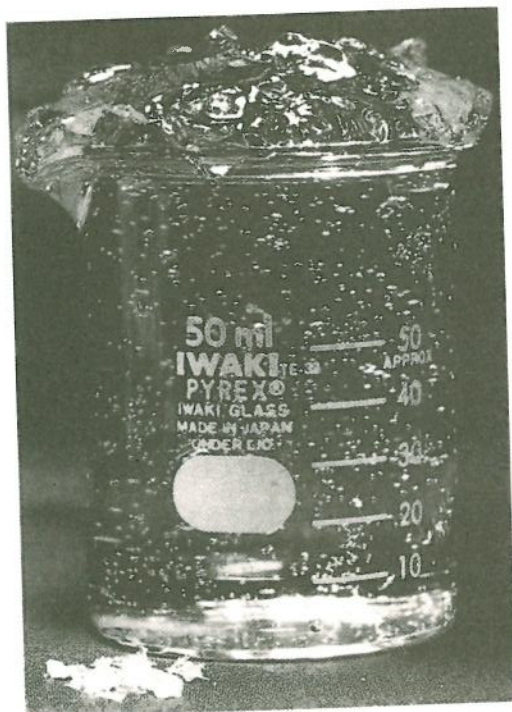


図1 納豆の糸の成分、ポリグルタミン酸に放射線照射して合成された納豆樹脂（左手前）と吸水後のハイドロゲル（ビーカーの中）

納豆樹脂は、100%天然素材からなる生分解性、吸水性及び可塑性を特徴とするきわめて新規性の高いエコマテリアルである。現在、可塑性を利用して「食べられる容器」の試作にも成功し、コンパウンド材としての用途開発を目指している。一般廃棄物に占める包装容器は容積比で60%に達し、特に、食料品容器はその50%以上を占める。エコ対応型包装資材の開発は廃棄物の大幅な低減へと繋がること期待されている。

納豆の糸にガンマ線を照射してできる納豆樹脂は自重の5千倍の水を吸収する。しかも、土中の微生物により炭酸ガスと水に分解される地球にやさしい「ニュー・グリーンプラスチック」である。

### 3. グリーン・リサイクルシステム

近年、高吸水性樹脂は、紙オムツなどの用途のみならず、体液吸収材などの医療分野、建設分野、鮮度保持剤などの食料分野、緑化や土質改良剤などの農業・園芸分野など多くの分野に利用されている。高吸水性樹脂とは、

イオン性基を持つ電解質ポリマーを架橋したもので、自重の数百から千倍の水を吸収する保水剤である。このような高吸水性樹脂のうち、セルロースとアクリルアミドをグラフト重合したアクリル酸系の高吸水性樹脂は、千倍以上の吸水能を有し、安価であるため広く用いられている。

しかし、生分解性が劣り、焼却処分されており新たな環境汚染源として危惧されている。

納豆菌が生産するポリグルタミン酸は重合度が5千以上の生分解性ポリアミノ酸で、培養液1リットル中に50グラム発酵生産できる。納豆として古くから摂取されており、安全性は折り紙つきといえる。納豆のネバネバからできる驚異的な吸水作用があるエコ対応型納豆樹脂は、いったん水を含むと蒸発しにくく、乾燥地帯の給水に適する。

ガンマ線照射による納豆樹脂の合成コストは高く、実用化に向けてガンマ線照射に替わる架橋方法を開発し、コスト低減を図る必要がある。現在、電子線照射による納豆樹脂の量産技術を確立し、エポキシ樹脂などの架橋剤を用いた水系での合成技術も完成した。ところで、納豆樹脂は、アクリル酸系高吸水性樹脂同様、塩濃度の影響を大きく受ける（表1）。これは、親水基であるカルボキシル基が架橋体の網目構造の中に固定電荷として存在することを意味する。しかし、表1に示すように生理食塩水では蒸留水の20分の1以下の吸水率になる（自重の160倍）が、塩溶液に対する吸水性能も市販の高吸水性樹脂を大きく上回ることが明らかになった。また、納豆樹脂分解微生物の分離とその分解酵素の精製もすでに終わった。

このような高吸水性樹脂の特性を生かした環境リサイクルシステムとして「グリーン・リサイクルシステム」を考案した（図2）<sup>2)</sup>。納豆樹脂を利用して「シード・ヘドロ・ペレット」をつくり、砂漠や乾燥地帯に埋め、給水すれば穀類などの作物がすくすく育ち、実るというわけだ。収穫された大豆から納豆をつくり、新たな「シード・ヘドロ・ペレット」にするほか、加工して食糧にし、アレルギー



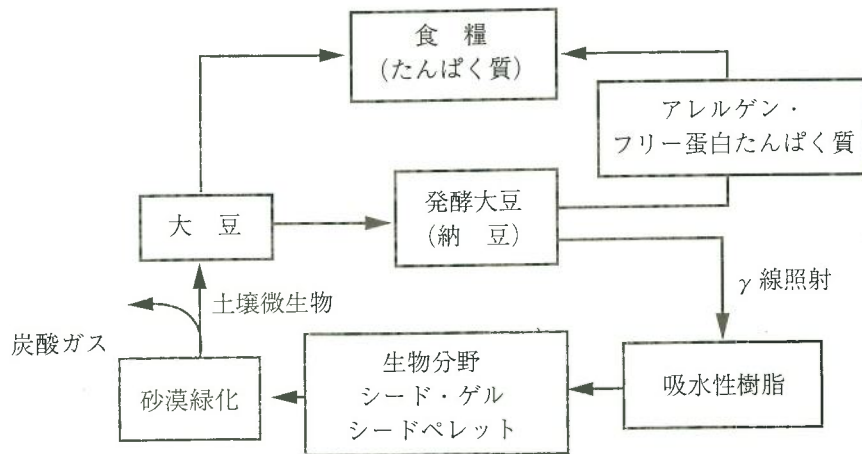


図2 「グリーンリサイクルシステム」概念図

ン・フリーな機能性たんぱく質として摂取する。ちなみにGly m Bd30Kなどの大豆アレルゲンは発酵開始から12時間後には分解されており、納豆では大豆アレルゲン・フリーになっている。

「シード・ヘドロ・ペレット」を使えば、砂漠の緑化と食糧の供給が同時に可能となり、資源の無駄がなくなる。多様化する価値観を持って激動する国際関係の中で、納豆の糸からできる吸水性樹脂を利用した砂漠緑化構想はわが国の国際貢献策の一つと位置付けられよう。このような観点から、本構想を「環境PKO」として捉えることができよう。

#### 4. 終わりに

西暦2001年に海洋投棄が禁止になり、産業廃棄物の陸上での処理が義務付けられる。

昨今のダイオキシンや環境ホルモンなどの環境問題により、焼却、埋立て、投棄場所の確保が困難となり、環境保全と企業活動が調和した社会システムの構築が急務となっている。納豆樹脂の生分解性と高吸水性を活用した「生分解性高吸水剤」を開発し、生ゴミ・ヘドロ・し尿・家畜糞尿や地域産業から排出される産業排水をコンポスト化するような自

表1 納豆樹脂の吸水特性

	放射線照射架橋	エポキシ樹脂架橋
蒸留水	4,600	1,250
0.9% NaCl	162	64
人工海水	75	41
0.2% CaCl <sub>2</sub>	64	64
10% CaCl <sub>2</sub>	41	22

然界が有する自浄力、修復力を利用した環境に負荷を与えない環境調和型処理システムや新規流体輸送システムの構築など納豆樹脂の用途はさらに広がることが予想されている。

二十一世紀のキーワードは「食糧」と「環境」。一見、複雑そうな事象もじっくりと観察してみると、バランス感覚に富む「納豆」の一筋の糸でスーッと意外なほどスッキリときほぐすことができそうに思えてならない。

#### 文 献

- 1) 原 敏夫：納豆は地球を救う，リバティ書房(1994)
- 2) 原 敏夫，他：平成8年度NEDO事業事前調査「グリーン・リサイクルシステム」，(財)バイオインダストリー協会(1997)

## 国内情報

海洋深層水の資源的特性と  
その利用技術の研究

海洋科学技術センター

豊田 孝義

海洋の深層水は、富栄養・低温・清浄という利用価値の高い特性を有しているため、新しい資源として認識され始めている。この深層水を利用する技術の研究を行うために、深度320mの深層水を陸上に汲み上げて種々の実験を行う施設が整備された。この施設において、深層水を水産、有用物質生産といった生物生産分野や、冷房、淡水製造といったエネルギー回収分野に利用する実験が行われ、これらの分野での深層水の有効性が実証された。これらについて紹介する。

## 1. 海洋深層水の資源的特性

高知県の室戸岬周辺海域と富山湾海域における深層水調査の結果を図1に示す。室戸岬周辺海域では、深度が深くなるにしたがって、水温は低く、硝酸塩（植物の生長に必要な栄養塩類の一種）の濃度は高く、海水の清浄性の目安としての溶存有機炭素濃度は低くなる。また、深層水の清浄特性としては、人工汚染物や病原菌が少ないという特徴もある。富山湾海域の場合も同様の傾向がみられるが、深度約300m以深の水温が極めて低く、ほとんど均一な水塊が形成されている。

このように、深層水は、富栄養、低温、清浄であり、これらの性質が安定しているという利用価値の高い特性を有しており、その存在量は膨大であり、また自然の物質循環により再生されるという性質がある。これらにより、深層水は再生可能な新資源として認識され始めている。

## 2. 海洋深層水有効利用実験施設

深層水の利用技術を研究するためには、深層水を陸上に揚水する実験施設が必要となる。そこで、1989年3月、高知県下の室戸に、深度320mの深層水を陸上に1日当り460m<sup>3</sup>汲み上げる実験施設が開発・建設された。研究の進展に伴い、1989年3月に、研究施設の機

能向上のため、2本目の取水管が整備された（取水深度：344m、取水量：1日当り460m<sup>3</sup>）。この施設では、1日当り920m<sup>3</sup>の表層水も取水している。研究施設の全景を図2に示す。

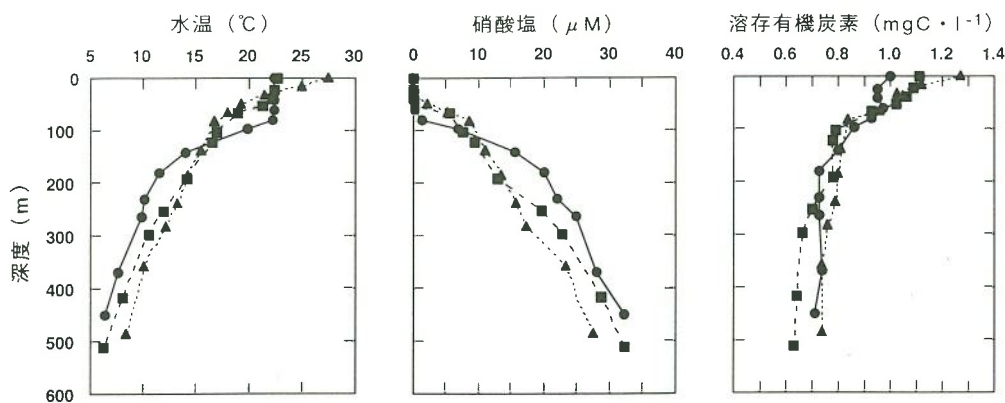
深層水を比較的短い取水管で陸上に汲み上げるためには、急峻な海底地形が必要条件となる。この条件を備えた場所は我が国には多く存在する。海岸線から5km以内で水深200mに達する場所を有する都道県は次の16である。すなわち、北海道、青森県、山形県、新潟県、富山県、石川県、福井県、千葉県、東京都、神奈川県、静岡県、三重県、和歌山県、高知県、鹿児島県、沖縄県<sup>1)</sup>。

## 3. 海洋深層水利用技術の研究

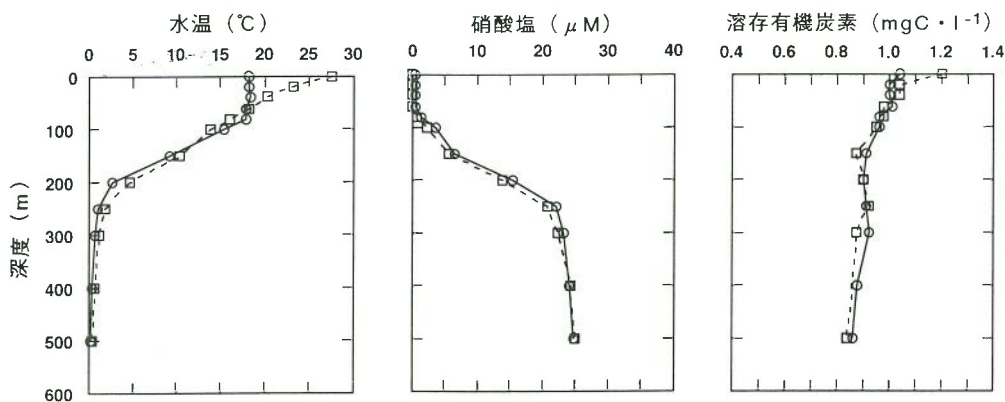
上記の深層水有効利用実験施設で行われた深層水利用技術に関する研究を表1にまとめて示す。これら一連の研究は、深層水の有効性を実証する我が国で初めての取り組みであり、様々な分野への深層水利用の有効性が実証された。これらの成果の大部分は、すでに報告されている<sup>2, 3, 4)</sup>。ここでは、これらの概要を述べる。

## ①海洋深層水の水質に関する研究

取水された深層水について、水温や栄養塩類濃度の長期変動、微量金属類のうちの鉄と銅の無機態・有機態別の濃度の把握、植物プランクトンの増殖を促進する深層細



(A) 室戸岬周辺海域における鉛直分布 (—●—: 1986年11月6日、--■--: 1987年6月26日、---▲---: 1987年8月6日)



(B) 富山湾海域における鉛直分布 (—○—: 1986年11月19日、--□--: 1988年8月12日)

図1 室戸岬周辺海域と富山湾海域における水温、硝酸塩濃度および溶存有機炭素濃度の鉛直分布

菌等について研究が行われた。

## ②生物生産分野への利用の研究

### A. 水産分野

#### a. 植物プランクトン培養

富栄養性と清浄性を利用して水産餌料として有効な複数種の植物プランクトンの培養を行い、深層水が植物プランクトンの培養に有効であることが示された。特に、珪藻類やナンクロロプシスが深層水で良く増殖することがわかった。

#### b. 動物プランクトン培養

深層水で培養した植物プランクトン(ナンクロロプシス)を餌料として動物プランクトン(シオミズツボムシ)を培養すると、魚類の餌料として重要な成分であるEPA等の必須不飽和脂肪酸含有率が高くなるという結果が得られた。

#### c. 海藻培養

水槽内での培養で、マコンブは深層水中で

は天然の状態とほとんど同じ生長を示し、カジメは表層水中より深層水中で早い生長を示した。これらにより、深層水は海藻の培養水として優れていることが示された。

#### d. 冷水性動物飼育

冷水性魚介類として大西洋サケ、ギンザケ、ヒメマスを試験種として用い、陸上水槽内での越冬および周年飼育が可能であることが示された。これにより、温暖な地域においても、深層水を利用すれば種々の冷水性動物の飼育が可能になることが示唆される。

#### e. 深海性動物飼育

深度300m前後に生息するメダイやアカサングの水産分野での長期飼育は、今までは困難であったが、深層水の利用により、メダイは約5年間飼育して卵の成熟を確認し、アカサングは約3年間飼育できた。これらにより、他種の深海性動物についても、深層水利用による飼育の可能が示唆される。

#### f. 飼育への清浄性の利用

表1. 深層水有効利用実験施設で行われた深層水利用技術に関する研究(3)を修正

研究分野	項目	利用する深層水の主な特性			
		富栄養	低温	清浄	その他
①海洋深層水の水質に関する研究	a. 水温と栄養塩類 b. 微量金属類 c. 深層細菌				
②生物生産分野への利用の研究					
A.水産分野	a. 植物プランクトン培養 b. 動物プランクトン培養 c. 海藻培養 d. 冷水性動物飼育 e. 深海性動物飼育 f. 飼育への清浄性の利用 g. 魚病発生阻止	○	○	○	○
B.有用物質生産分野	a. 植物プランクトン培養	○		○	
③エネルギー回収分野への利用の研究	a. 水温制御 b. 冷房 c. 淡水製造		○	○	○*
④その他の分野への利用の検討	a. アトピー性皮膚炎の治療 b. 食品添加物として利用			○	○
⑤深層水利用のための支援技術の研究	a. 取水技術 b. モニタリング技術 c. 放水技術				

\*：高温の表層水も同時に利用

種苗生産では、感染症による減耗が問題になることが多い。そこで、種苗生産が困難とされているイセエビ幼生の飼育に清浄な深層水を用いた結果、生残率が向上し、深層水の清浄性とその利点が示された。清浄な深層水と高精度水温制御(後述3③a)の組み合わせは、現状の種苗生産における感染症の防止のための有力な手段になると思われる。

g. 魚病発生阻止

清浄で水温制御された飼育水を用いて、魚病のワクチン開発に関する基礎研究が行われた。

B. 有用物質生産分野

a. 植物プランクトン培養

医薬品や工業原料の生産を目的にして、カロチン色素を含むドナリエラや、EPA、DHA等の不飽和脂肪酸を含むナンノクロロプシス等の植物プランクトンを大量培養して成分抽出する実験が行われ、この分野での深層水利用の技術的可能性が示された。

③エネルギー回収分野への利用の研究

a. 水温制御

深層水を冷熱源、表層水を温熱源とし、熱交換器により所定の水温の深層水を供給する装置を試作して稼働試験を行った結果、最高で±0.1℃程度の精度が得られた。この方法は加熱・冷却のための電力を必要としないと



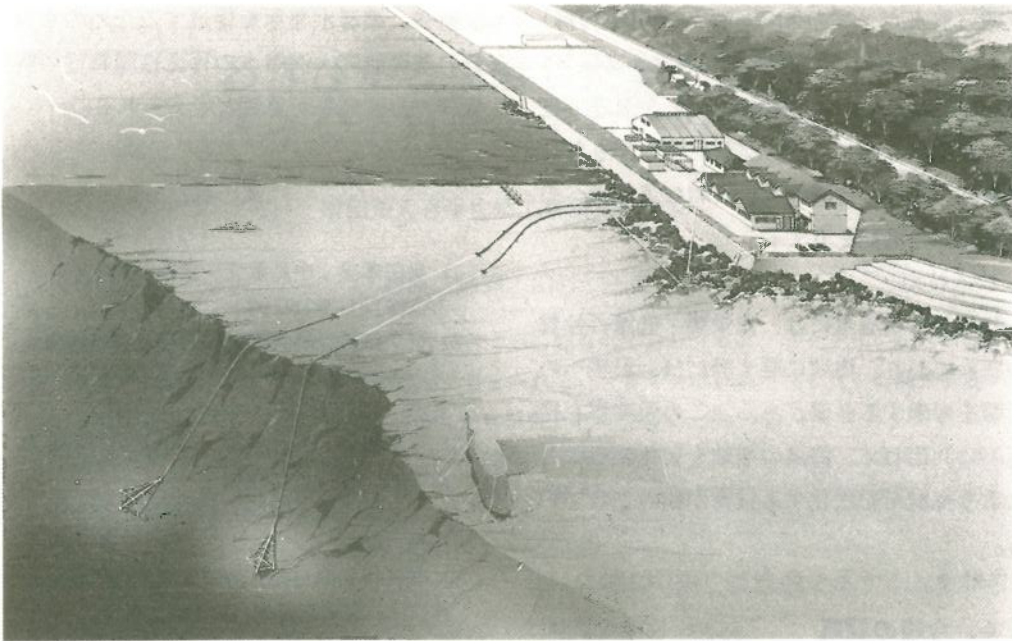


図2 深層水有効利用実験施設（現在の高知県海洋深層水研究所）の全景

いう利点があり、製造コストと10年間の運用コストの合計は、従来法（冷凍機と石油ボイラーを組み合わせた方法）の50%以下と経済的であるので、水産分野への利用が期待される。

#### b. 冷房

深層水（12～14℃）を熱交換器に導いて淡水を冷却し、その淡水を循環ポンプで屋外に設置したプレハブハウスの天井に張り巡らした冷却パイプに供給し、輻射冷房方式で室内の空気を冷やす実験が行われた。結果として、外気温が29～31℃のとき、室温は24～27℃、湿度は60～70%になり、事務作業に必要な条件は満足された。この冷房方式は、人間の居住の他、農業への利用も考えられる。

#### c. 淡水製造

蒸発法と逆浸透膜法の淡水製造方法が検討された。蒸発法では、淡水を効率よく製造するためには、表層水と深層水の水温差が33℃以上必要であることがわかった。また、逆浸透膜法では、深層水には、膜の性能を劣化させる懸濁粒子や溶存酸素の濃度が低いという利点があるが、水温が低いために処理速度が低下することがわかった。

#### ④その他の分野への利用の検討

アトピー性皮膚炎の治療の補助剤として深層水が試用され、400名を越える患者に対して、有効率が66%であった<sup>6)</sup>。

上記3③cの成果に基づき、深層水から製造された淡水や塩を用いた製品開発が、室戸の地元住民を中心に試みられており、清涼飲料水、清酒、醤油、豆腐、ミネラルウォーター、パン、味噌、漬物、水ようかん、アイスクリーム、塩乾物等が試作・市販されている<sup>6)</sup>。

#### ⑤深層水利用のための支援技術の研究

##### a. 取水技術

高知県の室戸に最初に整備された深層水取水装置の仕様は、取水深度：320m、取水量：1日当り460m<sup>3</sup>、取水管の内径：120mm、取水管の長さ：2,650m、取水管の材料：鉄線鎧装硬質ポリエチレン。この管は、リールバージ法によって迅速に海底に敷設できることが特徴となっている。この取水装置は、実験用のパイロットプラント規模として位置づけられる。取水管を太くすることにより、事業規模の施設として利用でき、1日当たり最大3,000m<sup>3</sup>程度の取水が可能である。

##### b. モニタリング技術

実験施設で取水する深層水と表層水の水質（水温、塩分、pH、溶存酸素）、取水装置の

状態（取水ポンプのON/OFF、消費電力等）および実験データ（水槽内の水温、室温等）の合計120チャンネルのデータを、測定・表示・記録するモニタリング装置が試作された。異常時の警報、日報作成、日報の遠隔地への自動送信の機能を有する。

c. 放水技術

利用後の深層水には、富栄養・低温の性質が残っており、海域に戻す際には、環境への影響を考慮する必要がある。この栄養塩を積極的に利用して、海藻の増殖を強化することにより海域を肥沃化する技術が検討されている。

4. 今後の課題

深層水利用技術の実用化を進めるためには、利用後の深層水による海域の肥沃化技術の実

証研究、深層水利用を促進するための水質特性の基礎研究、深層水の再生循環特性の解明に関する研究等が重要と考えられる。

文 献

- 1) 豊田孝義・中島敏光・藤田恒美(1991) JAMSTEC, 9:60-63.
- 2) 科学技術庁研究開発局(1991) 海洋深層資源の有効利用技術の開発に関する研究(第II期) 成果報告書, 405pp.
- 3) 中島敏光・豊田孝義・山口光明(1993) 水産振興, 第302号, 60pp.
- 4) 中島敏光ほか(1994) 月刊海洋, Vol.26, No.3, 200pp.
- 5) 野村伊知郎(1997) 海洋深層水 '97-富山シンポジウム講演記録集, 富山県, 128.
- 6) 久武陸夫(1997) 海洋深層水利用研究会ニュース, Vol. 1, No. 2, p.11.

地域の先端研究

## わさびから単離した新抗菌性 タンパク質遺伝子とその利用

財団法人岩手生物工学研究センター

西原 昌宏、山村 三郎

植物には抗菌活性物質が存在することが古くから知られており、カビ、バクテリアなどの病原菌に対する防御機構の一端を担っていると考えられる。チオニン<sup>1)</sup>は抗菌活性を有する低分子量タンパク質であり、その生理学的特性は古くから解析されつつある。我々はわさびから $\gamma$ -チオニンと呼ばれる新しいタイプの抗菌性タンパク質遺伝子を単離した。ここでは、わさび遺伝子の抗菌タンパク質としての利用の可能性についてこれまで知られているチオニン遺伝子と比較しながら考察を述べたい。

### 1. はじめに

チオニン(thionins)はシステインに富んだ低分子量の塩基性タンパク質で、植物の種子、胚、茎葉などの器官に存在し、様々な微生物に対して抗菌活性を有することが知られている。これらはオオムギ、コムギ、ヤドリギ、アブラナなど幅広い植物種において見つかり、植物が進化のかなり初期の段階で獲得したタンパク質であると考えられる。これら一連のタンパク質にはアミノ酸のシステインが多く含まれるため、ギリシア語でsulphur(硫黄)を示す"thionins"と総称され、研究が進められている。最近の分子生物学の発達とともに数多くの植物種からその遺伝子も単離されている。チオニンは植物種、存在する組織、成熟タンパク質のチャージ、アミノ酸、S-S結合の数によっていくつかのサブグループに分類される。ここではその詳細は省略するが、いずれも、低分子のシステインに富むタンパク質で3つまたは4つのS-S結合を持つという点で一致している。また、多重遺伝子族(Multigene family)を形成している例が多く、多数のアイソザイムを有することが分かっている。チオニンの研究の歴史や種類については総説<sup>1) 2)</sup>を参照にされたい。また、最近、チオニン遺伝子を過剰発現させたトランスジェニック植物がバクテリアやカ

NISHIHARA Masahiro, YAMAMURA Saburo

ビに対して強い抵抗性を示すことが報告されている。

### 2. $\gamma$ -チオニンとは

チオニンの抗菌活性、毒性に関してはバクテリア、糸状菌、動物培養細胞等で調べられており、チオニンの種類により作用スペクトラムはかなり異なることが知られている。比較的最近、糸状菌に対して特に特異的に生育を阻害するタンパク質がコムギやオオムギの内胚乳、アブラナ科植物のダイコン、ナタネの種子から単離された。これらは旧来のチオニンのホモログではなく、新しい種類のチオニンであり、現在まで、タバコ、ジャガイモ、マメ、ヒマワリ、ペチュニア、ピーマン、トウモロコシなど10種類以上の植物種において見つかり、最初に発見された経緯から $\gamma$ (ガンマ)-チオニンと総称されている。 $\gamma$ -チオニンは昆虫のdefensinsと3次元立体構造が類似していることより、plant defensins<sup>3)</sup>とも呼ばれ、植物の病原菌に対する防御の一端を担っていると考えられている。例えば、Terrasら<sup>4,5)</sup>はダイコン種子、葉からそれぞれ2種類ずつの $\gamma$ 型のチオニンを単離し、各種の糸状菌に対する生育阻害効果を報告している。また、形質転換体を用いた実験で、ダイコンの $\gamma$ -チオニンを導入したタバコでは糸状菌の感染に対しての抵抗性

		10	20	↓ 30	40	50
わさびチオニン1	MAKFASIIAL	LFAALVLFSA	FEAPSMVEAQ	KLCEKSSGTW	SGVCGNNNAC	
わさびチオニン2	MAKFASIIAL	LFAALVLFSA	FEAPSMVEAQ	KLCEKSSGTW	SGVCGNNNAC	
ダイコンAFP2	MAKFASIIIVL	LFVALVVFSA	FEEPTMVEAQ	KLCQRPSGTW	SGVCGNNNAC	
ダイコンAFP4	MAKFVSIITL	LFVALVLFSA	FEAPTMVEAQ	KLCERSSGTW	SGVCGNNNAC	
シロイヌナズナ	MAKSATIVTL	FFAALVVFSA	LEAPMVVEAQ	KLCERPSGTW	SGVCGNNSAC	
ナタネ	MAKFASIIITL	LFAALVVFSA	FEAPTMVEA-	KLCERSSGTW	SGVCGNNNAC	
ピーマン	MAGFSKVVAT	IFLMMLLVFA	TDMMAEA---	KICEALSGNF	KGLCLSSRDC	
		60	70	80	90	100
わさびチオニン1	KNQCINLEGA	RHGSCNYIFP	YHRCICYFPC	.....	.....	.....
わさびチオニン2	KHQCINLEGA	RHGSCNYIFP	YHRCICYFPC	.....	.....	.....
ダイコンAFP2	KNQCIRLEKA	RHGSCNYVFP	AHKCICYFPC	.....	.....	.....
ダイコンAFP4	KNQCINLEGA	RHGSCNYIFP	YHRCICYFPC	.....	.....	.....
シロイヌナズナ	KNQCINLEKA	RHGSCNYVFP	AHKCICYFPC	.....	.....	.....
ナタネ	KNQCIRLEGA	QHGSCNYVFP	AHKCICYFPC	.....	.....	.....
ピーマン	GNVCRREGFT	-DGSCIGFRL	--QCFCTKPCA	.....	.....	.....

図1 RT-PCR法により増幅したわさびの $\gamma$ -チオニン遺伝子の推定アミノ酸配列と既知 $\gamma$ -チオニンアミノ酸配列の比較  
矢印 シグナルペプチド切断部位

を持つことが示されている。

我々は食用わさび (*Wasabia japonica*) 真妻系から $\gamma$ 型のチオニン遺伝子の単離を行い、本遺伝子を導入した形質転換タバコを作成し、解析を行っている。以下にその概要について述べる。

### 3. わさびからの $\gamma$ -チオニン遺伝子の単離

材料としては茎頂培養由来の *in vitro* で増殖を行っているわさび (品種真妻系) の茎葉を用いた。Total RNA (1  $\mu$ g) を用いて、既知の $\gamma$ -チオニンのDNA塩基配列をもとに、ディジェネレートしたプライマーを設計し、わさびの茎葉RNAからRT-PCR法により2種類の $\gamma$ -チオニン相同性遺伝子を単離した。両遺伝子の推定アミノ酸配列と既知の植物の $\gamma$ -チオニンアミノ酸配列の比較を図1に示した。

両遺伝子とも80個のアミノ酸をコードしており、コーディング領域を比較するとDNA塩基配列レベルで96%、アミノ酸配列レベルで98%の相同性を示し、アイソザイムであると推定された。また、本遺伝子はダイコンの $\gamma$ -チオニン (AFP 4 (antifungal protein) 遺伝子) とアミノ酸レベルで92%のホモロジーがあり、わさびにおける葉型 $\gamma$ -チオニン遺伝子であると推定された。システイン残基の位置は他の $\gamma$ -チオニン遺伝子と完全に一致し

ており、5'末端に疎水性のシグナルペプチド様配列も認められた。ティッシュブリンティングの観察結果などから $\gamma$ -チオニンは分泌性のタンパク質であり、細胞外に存在すると考えられている。

$\gamma$ -チオニンは、他のチオニンと同様、ジンファミリーを形成していることが知られており、例えば、ダイコンでは種子型2種、葉型2種が報告されている<sup>4)</sup>。そこで我々の単離したわさび遺伝子においても、本遺伝子がゲノム中に複数コピー存在するかどうかの解析を行った。わさび $\gamma$ -チオニン1遺伝子のコーディング領域をプローブにサザンブロット解析を行った結果を図2に示す。高いストリンジエンシーの条件下で洗いをを行った結果、5種類の制限酵素処理をしたいずれのレーンでも、強弱のある複数のバンドが確認された(図2A)。また、ストリンジエンシーを下げた場合は、バンドの本数が増えたことより(図2B)、わさびの遺伝子の場合も相同性のある複数の遺伝子がゲノム中に存在すると推定された。現在、種子型の遺伝子等、他の組織で発現している $\gamma$ -チオニン遺伝子のクローニングに関しても研究を進めているところである。

### 4. わさび $\gamma$ -チオニン遺伝子のタバコへの導入

ダイコンの $\gamma$ -チオニン遺伝子 (AFP 2)



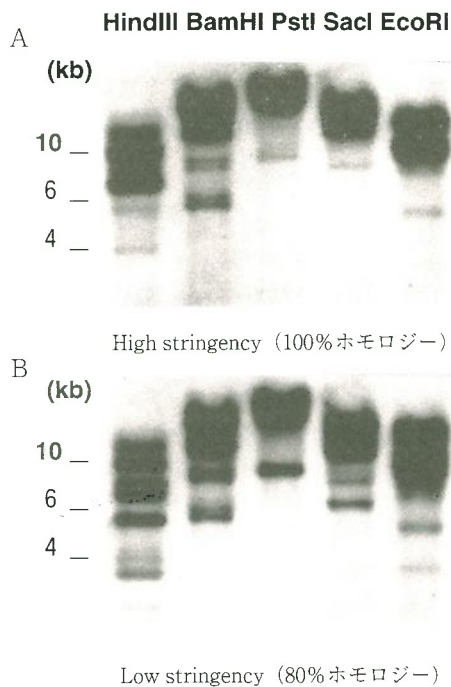


図2 わさびゲノムDNAのサザンプロット解析  
制限酵素でゲノムDNA (10 μg)を消化後、アガロースゲルで電気泳動し、ナイロンメンブランにトランスファー後、わさびγ-チオニン遺伝子1の(コーディング領域を含む334bp)をプローブとしてサザンプロット解析を行った。

を導入した形質転換植物(タバコ)は糸状菌(*Alternaria longipes*)感染に対する抵抗性を有することがTerrasら<sup>5)</sup>により報告されている。そこで我々が単離したわさびの遺伝子に関しても、アグロバクテリウム法によりタバコに導入し、糸状菌病に対する抵抗性が付与されるかどうかの解析を行った。

わさびγ-チオニン1遺伝子をカリフラワーモザイクウイルス35プロモーター制御下においたバイナリーベクター(pEbis WTHyg、図3 A)を構築し、アグロバクテリウム(EHA101)に導入後、常法を用いてタバコ(SR1)に形質転換を行った。形質転換体当代(T1)においてPDA培地で増殖させた灰色カビ病菌(*Botrytis cinerea*)の菌そう接種試験を行った結果、病斑の伸展が抑えられた系統が得られた。その代表的な写真を図3 Bに示す。試みた61系統のうち、病斑の伸展がほとんど見られなかったものが23系統、野

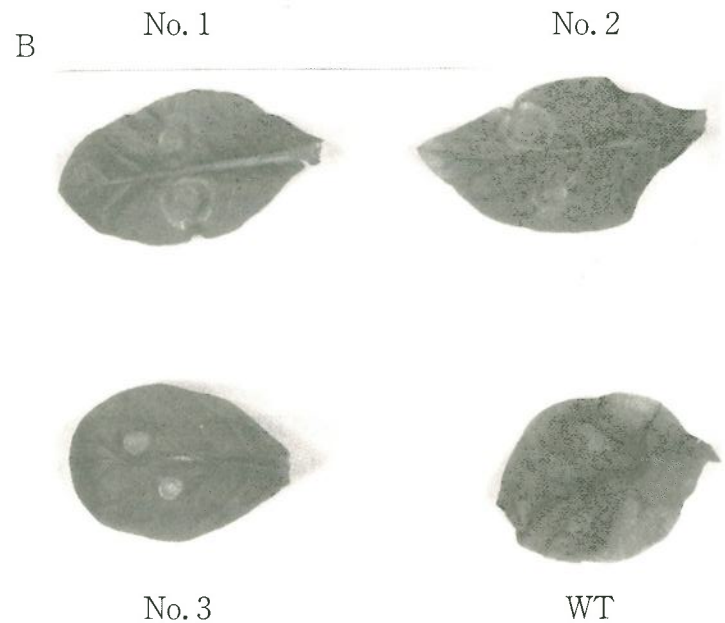
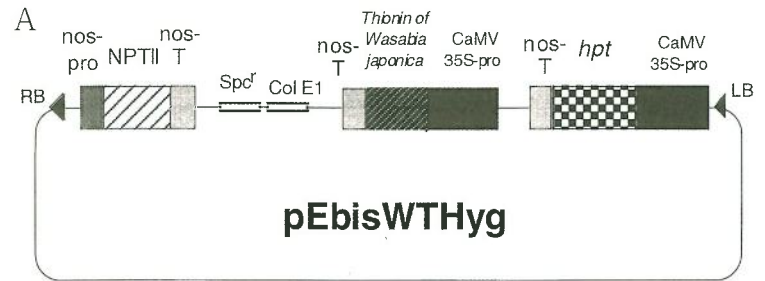


図3 チオニン遺伝子導入タバコ(当代)の灰色カビ病菌接種実験  
(A) わさびγ-チオニン1遺伝子導入用コンストラクト  
(B) 灰色カビ病菌接種葉

*Botrytis cinerea* (PDA培地で育成)の菌そうをコルクボーラ(5mm)で打ち抜き、タバコ葉に置床し、23℃、16hLight/8h Darkで湿度を保ち、3日間培養した。

WT(野生型)では、灰色カビ病接種により病徴が広がっているのに対し、わさびγ-チオニン遺伝子導入系統(No.1~No.3)では病徴の抑制が認められる。

性株より抑制されたものが35系統、野生型と同じであったものが3系統であった。また、本植物の次世代種子を採取し、同様の検討を行ったところ、灰色カビ病菌抵抗性は後代にも遺伝していることが確認された。遺伝子の発現量と抵抗性の相関関係の解析及び他の糸状菌病に対する効果について現在、検討を行っている。

### 5. おわりに

わさびから単離したγ-チオニン遺伝子は

タバコにおいて糸状菌病抵抗性を付与する効果があることが示されたので、現在、イネ、リンゴ、レタス、トルコギキョウなどの有用植物への導入を行っており、種々の植物病原菌（主に糸状菌病）に対する抵抗性について特性評価を進めている。また、 $\gamma$ -チオニン遺伝子導入による糸状菌病抵抗性植物の作出は、従来のキチナーゼ等の耐病性遺伝子と同時に用いることにより、相乗効果も期待され、抵抗性が打破されにくい品種の開発につながる可能性もある。さらに本抗菌タンパク質を大量生産し、農薬や防腐剤等への応用化の可能性も考えられる。

葉で合成されるチオニン、例えばオオムギのタイプ2のチオニンの発現は化学的ストレスやジャスモン酸、病原菌などで誘導されることが分かっている。旧来のチオニンのプロモーターに関する研究はオオムギのHth-1遺伝子、 $\alpha$ -チオニン遺伝子、シロイヌナズナのThi2.1遺伝子などで報告があるが、 $\gamma$ -チオニンにおけるプロモーター研究は現在のところ報告例はない。 $\gamma$ -チオニンもPRタンパク質の一種であり、本遺伝子の発現制御は病原菌ストレスなど様々な因子により行われていると推定される。現在、我々はわさび $\gamma$ -チオニン遺伝子の5'上流領域のクローニングを行い、本配列がPR-タンパク質プロモ

ーターの特徴である様々なシス配列を有するかを確認している。今後、本プロモーターの病原菌、ストレスなどによる誘導の解析も平行して進めていく予定である。

## 文 献

- 1) Florack DEA, Stiekema WJ (1994) Thionins: properties, possible biological roles and mechanisms of action. *Plant Mol. Biol.* 26: 25-37.
- 2) Bohlmann, H(1994) The role of thionins in plant protection. *Crit. Rev. Plant Sci.*13: 1-16.
- 3) Broekaert WF, Terras FRG, Cammue BPA, Osborn RW (1995) Plant defensins: novel antimicrobial peptides as components of the host defense system. *Plant Physiol.*108: 1353-1358.
- 4) Terras FRG, Schoofs HME, De Bolle, MFC, Van Leuven F, Rees SB, Vanderleyden J, Cammue BPA, Broekaert WF (1992) Analysis of two novel classes of plant antifungal proteins from radish (*Raphanus sativus* L.) seeds. *J. Biol. Chem.* 267: 15301-15309.
- 5) Terras FRG, Eggermont K, Kovaleva V, Raikhel NV, Osborn RW, Kester A, Rees SB, Torrekens S, Van Leuven F, Vanderleyden J, Cammue BPA, Broekaert WF (1995) Small cysteine-rich antifungal proteins from radish: their role in host defense. *Plant Cell* 7: 573-588.

## 文献情報

高濃度の炭酸ガスと水分欠乏  
がイネの光合成に与える影響

大気中の炭酸ガスは21世紀中に現在の2倍の濃度に達し、その温室効果により気温は上昇、様々な気象災害が引き起こされる。海面は上昇し、多くの都市は海面に没する。この悲劇的なストーリーは巷間に流布し、炭酸ガス排出権なるものの売買まで取り沙汰されている。このような気象条件の変化が植物に対する影響を知り、将来の生態、農業を予見しようとする試みが、90年代の初頭から始まった。現在、植物関係の雑誌を手にとれば必ずと言っていいほど、“elevated carbon dioxide”というkey wordが目にはいる。

トウモロコシ、サトウキビなどを除けば多くの農作物はC3型の光合成を営むが、このタイプの植物の炭酸ガス飽和点は、現在の大気中の炭酸ガス濃度(350ppm)よりはるかに高く、800-1,000ppm前後である。また、密植された群落中での炭酸ガス濃度は非常に低く、炭酸ガス飢餓の状態で生育していることも珍しくない。大気中の炭酸ガス濃度の上昇は、光合成量の増大をもたらすことは容易に予想できる。事実、多くの報告では予想に違わぬ結果となっている。他方、気温の上昇は現在の耕作地に乾燥化を引き起こす危険性が指摘されているが、言うまでもなく、水分欠乏は光合成、植物の成育に抑制的に働く。では、高炭酸ガス濃度、水分制限という2つの要因が重なった時の植物の反応はどうか。この点を、著者は明らかにしようとしている。

イネ(IR-72)を大気中の炭酸ガス濃度とその倍の濃度下(夜間は大気濃度)で栽培し、出穂日に水の供給を止める。水分不足で葉身が巻始めたら水再供給する。まず、高い炭酸ガス濃度下で栽培した植物体の光合成量(炭酸ガス固定量)は、20~30%高く、デンプンは2倍も含まれている。炭酸ガス固定酵素のRubisco活性は反対に低く、デンプン代謝

関連酵素のSucrose phosphorylaseは差がない。

給水を絶つと炭酸ガス濃度によらず20%程度光合成量は低下するが、高炭酸ガス濃度下の光合成量は大気中の炭酸ガスで十分に給水した植物体のものと遜色ない。給水を絶って17日目にコントロールは葉身を巻始め、急激に光合成量が低下し、ほぼ零になる。高炭酸ガス濃度下では、この症状が表れるのが一日遅れてくる。土壌中の水ポテンシャルもほぼ同様に低下することから、炭酸ガスが植物体内の水分低下に耐性を与えたのではなく、土壌の水分減少を抑制したために症状が表れるのが一日遅れたことが分かる。何故か。

そこで、著者は蒸散量に着目する。高炭酸ガス濃度下で栽培したイネの蒸散量はコントロールに比べ1割程度少なく、また、給水を絶った時の蒸散量の低下がはるかに大きいことが明らかになった。これは、気孔の開度が高濃度の炭酸ガスにより抑制されたためであるとしている。この結果は、乾燥による農作物の減収を高い炭酸ガス濃度がある程度相殺する可能性を示している。

これら一連の結果は、従来の植物生理学の知識から予想されるものであるが、イネを用いて、実際のデータとして示したことに意義があると言えよう。ただ、高濃度の炭酸ガス下で栽培した植物が水分欠乏に強い原因を気孔開度で説明するのであれば、他人の文献を引用しての議論ではなく、気孔開度の測定を実際に行うべきでなかったらうか。

(抄訳 岩井純夫—鹿兒島大農)

(Iwai Sumio)

Elevated CO<sub>2</sub> and water deficit effects on photosynthesis, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, and carbohydrate metabolism in rice.

Joseph C.V.Vu, Jeffery T. Baker, Arja H. Pennanen, Hartwell Allen, Jr, George Bowes and Kenneth J. Boote  
Physiologia Plantarum 103,327-339 (1998)

## 文献情報

ACC合成酵素遺伝子が2種類  
の転写物を生成する

単一の遺伝子から複数種の転写物が生成する現象は、原核生物、真核生物の両方で認められている現象で、異なる転写物からの翻訳産物が、類似した機能や拮抗した機能を持つ場合もあることが知られている。

エンドウ (*Pisum sativum* L.) の黄化した実生では、高濃度のオーキシンを処理すると、エチレン生合成が促進され、茎の伸長が阻害されることが知られている。オーキシンはエチレン生合成を、前駆物質である 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) の合成を誘導することで促進している。エンドウでは、オーキシニン誘導型の ACC 合成酵素遺伝子の cDNA クローンが 2 つ単離されている (Ps-ACS 1, Ps-ACS 2)。Peck and Kende (1998) は、IAA 処理による ACC 合成酵素遺伝子の発現解析 (ノザンプロット解析) のなかで、Ps-ACS1 に特異的なプローブが、全鎖長 ACC 合成酵素をコードする 1.9kb の転写物に加え、1.6kb の転写物にハイブリダイズすることを発見した。

1.6kb の転写物は 1.9kb の転写物よりも蓄積が早いことから、1.9kb 転写物の分解産物ではないことが確認された。5'-RACE 法を用いて、2 つの転写物の 5' 末端側に相当する cDNA クローンをそれぞれ単離して解析した。その結果、2 つの転写物は、同一の遺伝子上にコードされていること、1.6kb 転写物は、1.9kb 転写物の 5' 末端側 380 塩基を欠いたものであることが明らかになった。Ps-ACS1 遺伝子は、ゲノム上でイントロンを 2 つ含んでいることが既に知られている。1.6kb 転写物は、5' 末端が第 2 エキシソンの途中にあり、残りの配列は 1.9kb の転写物と同一であったことから、スプライシングのされ方の違いではなく、プロモーターの違い、つまり転写開始点が異なることにより生じたものであると予想された。2 つの転写物の cDNA について大腸菌と

酵母による発現を試みた。抽出したタンパク質を電気泳動 (SDS-PAGE) により分離したところ、1.9kb から推定される 54kDa、1.6kb から推定される 43kDa のタンパク質の蓄積がそれぞれ確認された。抽出物の ACC 合成酵素活性を測定したところ、1.9kb に相当する cDNA を導入した大腸菌および酵母からは活性が検出されたが、1.6kb に相当する cDNA を導入したものについて、活性はなかった。このことから、1.6kb の転写物は活性のある ACC 合成酵素をコードしていないものと考えられた。

筆者は、1.6kb の転写物にはエチレン生合成に対して何らかの調節的役割があるものと考え 2 つのモデルを提唱している。① 1.6kb 転写物由来の活性を持たない不完全なサイズのタンパク質は、1.9kb 転写物から翻訳された完全な ACC 合成酵素タンパク質とダイマーになることで、全体の活性を低下させている可能性があると考えられる (Poisoned dimer model)。② Ps-ACS 1 には、RNA がステムループ構造をとると推定される領域が存在し、そこに RNA 結合タンパク質が結合する可能性が考えられる。推定ステムループ領域は 1.6kb 転写物、1.9kb 転写物の両方に存在する。もし ACC 合成酵素 mRNA に翻訳リプレッサーとして結合するタンパク質が存在するとしたら、1.6kb の不完全なサイズの mRNA は、このタンパク質に結合することで、完全鎖長の ACC 合成酵素 mRNA の翻訳が阻害されるのを調節している可能性がある (RNA-binding protein model)。

単一の特異的なプローブが 2 種類の転写物を検出する現象は、トマト、カボチャ、カーネーションの ACC 合成酵素遺伝子の発現パターンについてもみられることから、ACC 合成酵素に保存された性質であると考えられる。短いサイズの転写物の役割、また、2 種類の転写物がいずれもオーキシニンに反応して蓄積するにも関わらず、蓄積パターンが時間的に異なる理由については今後解明すべき課題である。(抄訳—小杉祐介—東北大農)

(Kosugi Yusuke)



Peck, S.C. and Kende, H. (1998)

A gene encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) synthase produces two transcripts: elucidation of a conserved response.

Plant J. 14: 573-581

#### 文献情報

### 人類への警鐘

我々は日常生活の中で様々なものを環境中に排出している。また、見当もつかない量の産業廃棄物が生み出され、最終的には無責任に環境中へとバラ蒔かれている。我々人類が環境に排出しているものの中に外因性内分泌攪乱化学物質—いわゆる環境ホルモンといわれる物質が存在するということが今、広く一般に認識されるようになってきた。現時点では、外因性内分泌攪乱化学物質が人体或いは生物にどの程度影響するかについては不明な点が多いが、人々の注目を集めているのには理由がある。それは、この物質の抱える本質的な問題、つまり人間も含めた生物の種の保存、具体的には生殖機能への影響が懸念されているからである。上記のような外因性内分泌攪乱化学物質として環境中に存在している農薬やプラスチックの添加剤等の中に、女性ホルモンと同様の働きをされるとされているものが報告されている。これらは、河川等から沿岸海域に流入し、環境水や餌を通じて魚類や他の水棲生物に濃縮されることが調べられている。環境中に存在する低濃度の外因性内分泌攪乱化学物質が、魚類や他の水棲生物の再生産や成長過程に影響する可能性があり、水棲生物の生態系への影響に対する評価が必要である。こうした外因性内分泌攪乱化学物質による生物への影響をモニターする候補物質として、ビデロゲニンという蛋白質が注目されている。ビデロゲニンは、雌に特異的な蛋白質で、卵黄蛋白の前駆物質として知られている。魚類においては雌の卵黄形成過程に

関与し、卵濾胞細胞で産生されたエストロゲンを介して肝臓における合成が促進される。血液中に分泌されたビデロゲニンは、第2次成長期の卵巣卵に取り込まれ蓄積し、卵黄蛋白となる。近年、欧米において、都市部の河川水や下水排出口付近の雄の魚の血液からビデロゲニンが検出される報告が多くなされている。本報はイギリスの下水排水の流出する河川水を用いて、実験的に水槽中で雄の rainbow trout (ニジマス)、roach (ウグイ) を飼育することにより、排水中の外因性内分泌攪乱化学物質による血液中のビデロゲニンの誘導を調査したものである。その結果、排水中のステロイド $17\beta$ エストラジオール及びエストロンの濃度ぬ、排水中のステロイド性エストロゲン ( $17\beta$ エストラジオール及びエストロン) の濃度に依存して雄のニジマス及びウグイの血液中ビデロゲニン誘導が高まる事が明らかとなった。これら雄魚における現象は、排水中に含まれる人間の尿由来の女性ホルモン (エストロゲン等) によめるデロゲニン誘導が大きな部分を占めていると報告されている。本報で報告された現象は単に“魚”にのみ起こることではないことを我々は十分に認識すべきで、環境保全のあり方についても、単に食品衛生的な視点に留まらず、人間も含めた生物種の保存といった観点から見つめ直す必要がある。

(抄訳 清木興介—マルハ中研)

(SEIKI Kousuke)

#### Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 2. *In Vivo* Responses in Trout and Roach

出典

Environmental Science & Technology (1998)  
Vol.32, No. 11, 1559-1565

海外便り

## 線虫 *Caenorhabditis elegans* の 逆遺伝学的解析

—オランダ・ネザーランド癌研究所での1年間—

農林水産省 蚕糸・昆虫農業技術研究所

加藤 祐輔

### 1. はじめに

ネザーランド癌研究所は、オランダの首都アムステルダム郊外にあります。そこは、築200年以上の古い建物が並ぶ旧市街とはちがって、ごく新しくモダンな雰囲気の地域でした。アントニ・ファン・レーウエンフック（顕微鏡を発明したオランダの学者）の名前を冠した病院のとなり8階建ての癌研究所がありますが、1996年の11月から1年間、科学技術庁の長期在外研究員として、ここに滞在しました。

### 2. プラスターク研究室

私のオランダへ渡る前の仕事は、線虫をモデルにして生得免疫を研究することでした。免疫は大ざっぱに分けると、獲得免疫と生得免疫の2つに分けることができます。非常に多様な免疫グロブリンや類した受容体、リンパ球のクローン選択によって成り立つ獲得免疫は、高等な脊椎動物にしか見られません。しかし、その他にヒトから下等な無脊椎動物まで、すべての動物には食細胞による貪食、活性酸素や抗微生物ペプチドの産生などの、より特異性の低い原始的な免疫「生得免疫」が備わっていると考えられています。動物界に普遍性のある生物現象なら、モデル生物で研究できないか、というのが *C.elegans* で生得免疫の研究を始めた意図でした。

*C.elegans* は土の中で自活する線虫の一種で、細菌を食べて生きています。25年位前からショウジョウバエやシロイヌナズナなどと

KATO Yuusuke

同様に「モデル生物」として選ばれ、多くの実験室で用いられるようになりました。雌雄同体で自家受精で増殖し、1世代約3日、まれに生ずる雄を使って交配もできるという、遺伝学の実験には非常に都合のいい動物です。近年、さらに注目を集めるようになったのは、その100Mbpほどのゲノムの全塩基配列がまもなく決定され1998年中に公表される予定であること、平行して逆遺伝学的な解析のための実験手法がどんどん開発されてきたことが、大きな理由です。

分子生物学の仕事をやられている方なら、データベース上から自分の興味のある遺伝子と高い相同性をもった *C.elegans* の遺伝子が見つかることは多々あるでしょう。そのような *C.elegans* の遺伝子を見つけたら、ノックアウトしたり人為的に過剰に発現させた時、どのような異常が起きるか検定することができます。レポーターに融合させた組み換え遺伝子を導入して発現が観察される時期や細胞を特定したりすることもできます。このように、「遺伝子の配列情報から、遺伝学的な手法を介して、その機能を明らかにする」という研究手法を「逆遺伝学的な解析」と言います。1996年当時、自分で精製・構造決定した線虫の生得免疫に重要だと思われる分子のほか、モチーフの解析やホモロジー検索によって、かなりの数の生得免疫に関係すると思われる遺伝子を *C.elegans* のゲノム配列中に見いだしていました。自然、私は逆遺伝学的な解析を自分の研究の一つの柱にしようと思いました。

私が所属していた、ネザーランド癌研究所のプラスターク博士の研究室は、*C.elegans*

の逆遺伝学的解析に用いる実験手法の開発で知られていました。もともと、トランスポゾンの研究を主にしていたのが、目的遺伝子の近くに入り込んだトランスポゾンが再びジャンプするとき、近傍の配列に欠失を引き起こすことが見出され、それを利用して遺伝子ノックアウトを行う手法を開発したのが発端です。それ以来、逆遺伝学的解析の実験手法の開発と、それを応用した研究に比重を置くようになったわけです。

私は密な人間関係を築ける小規模なラボで仕事できることを期待していたのですが、前年からプラスターク博士がアムステルダム自由大学の教授を兼任し、予算もやや潤沢になったとかで20人近いポストドクや大学院生などがベンチいっぱいひしめいていました。研究グループは、トランスポゾン、逆遺伝学的解析、化学受容の神経生理、HIVのインテグラーゼの4つに分かれていました。私は、成り行き上、逆遺伝学的解析と化学受容の2つのグループに属していました。

### 3. 全3量体型Gタンパク質の逆遺伝学的解析プロジェクト

研究室でもっともエネルギーを注いでいたのは、*C.elegans*のゲノム中に見いだされた全ての3量体型Gタンパク質を逆遺伝学的に解析するプロジェクトで、私もこの中に入りました。3量体型Gタンパク質は、受容体（典型的には7回膜貫通型）から種々の効果分子（cAMPやIP3などを産生・分解）する酵素へのアテニュエーターや増幅器として働く分子です。 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ の3つのサブユニットからなり、主に $\alpha$ によって性格が決まります。ほ乳類でも複数の $\alpha$ サブユニットが知られていますが、*C.elegans*では面白いことにほ乳類で知られているよりかなり多数のパラエティをもった $\alpha$ サブユニットが見いだされました。その多くは味覚・嗅覚の受容細胞に発現していることもレポーター融合遺伝子の導入実験で明らかになりました。ノックアウトの実験でも、特定の化学受容が失われる表現型が得られたこともありましたが、同時に

存在する他のGタンパク質をアテニュエートするなどもっと複雑な調節機能が見いだされることもありました。*C.elegans*の場合、わずか12対の化学受容細胞で味覚・嗅覚さらに浸透圧、温度感覚を担当しており、一つの受容細胞は複数の味物質・におい物質を受容していることが知られています。おそらく、このような少数の受容細胞であらゆる化学物質やその他を受容し、適切な行動に結びつけるために、受容細胞自体で複雑な情報の統合の統合が行われており、そのために多種のGタンパク質を介して様々な細胞内情報伝達分子がクロストークしているのだろうと予想していますが、実験で証明する段階にいたるのに、もう1,2年は時間が必要と思われます。

先に述べたように、多くの $\alpha$ サブユニットは味覚、嗅覚などの感覚受容に関わっているように見受けられます。しかし、ノックアウトや過剰発現しても、そのような味嗅覚に影響が見いだせないものも多数ありました。そのタイプの $\alpha$ サブユニットが重要な役目を持っていない、他の $\alpha$ サブユニットと役目が重複している（冗長性がある）こともまず考えられますが、現在検定する方法のない表現型をもっている可能性（研究されていない味・におい物質の受容や、統合段階の機能）も高いと思われました。

*C.elegans*でも多くの味物質・におい物質に対する反応が研究されています。*C.elegans*は非常に小さい生き物（全長1mm位）で、細胞のサイズも小さいため、微小電極などを使った通常の電気生理の実験は非常に難しく、現状では行動を代わりに指標として研究されています。例えば、NaClを与えると*C.elegans*は好んでその周りに集まってきます（化学走性）。そのようにして*C.elegans*を誘引する物質、忌避する物質が分類されているのですが、私にはやけに記載されている物質の数が少ないように思えました（現在の生得免疫の研究以前、味覚の研究をしていたことがあった）。偶然、従来より感度の高い化学走性の検定法を、隣に座っていた別のポストドクが発明していたので、その方法でいくつか心当たりの物質を検

定し、新しい誘引・忌避物質を見いだすことができました。さらに、既に得られている $\alpha$ サブユニットの変異株を用いて、それら新しい誘引・忌避物質に対する行動を検定しました。

実は、それらに対する行動に異常が見つけれなかったのですが、その途中で偶然ある種の $\alpha$ サブユニットの変異株が味覚の“慣れ”に異常があることが示唆されました。“慣れ”とは、直前に与えられた味・におい物質に反応しなくなる現象をいいます。これは、以前の経験が神経の以降の反応に影響することを意味しますので、神経の“可塑性”に関係する現象である可能性があります。面白い流れになったと思いましたが、途中で帰国の日を迎えました。

#### 4. *C.elegans*の逆遺伝学的解析の現状とこれから

私の滞在中にも、遺伝子ノックアウトの実験手法の開発は進んでおり、化学変異源によってランダムな欠失変異を誘導したライブラリーからスクリーニングする方法が、すぐ隣のベンチで新しく開発されました。前述のトランスポゾンを用いた方法より格段に変異体分離に要する時間が短く、今後は主流になるでしょう。さらに帰国後、2本鎖RNAの微量注射による遺伝子ノックアウト法(RNAi法)が発表され、現在大変な流行を見せています。

帰国後、私は再び生得免疫の研究を再開しました。免疫系は常に外界の微生物との競争進化にさらされるので、関係する遺伝子は高度に多重化し、早い分子進化を余儀なくされる傾向があります。このような冗長性の高い

システムの逆遺伝学的解析には、難しさが供なうでしょう。冗長性を克服するには、ゲノム中の類似した遺伝子を残らず拾い集めることができること、迅速に複数の遺伝子をノックアウトできることが条件になると思います。現状では、*C.elegans*が唯一、その条件を満たせるモデル生物ではないかと思っています。

#### 5. 雑感

オランダでは研究所のみならず、一般の人でも英語が達者なので、コミュニケーションでは困りませんでした。アムステルダムでは、周囲にほとんど日本人がいない環境で過ごしましたが、娘(当時5歳)が公立の小学校に入ったため、その友達を通じてオランダ人家族とつきあいがあったので、家族も孤独にはなりません。オランダ人は本質的には警戒心が強く、初対面の人には厳しいところがありましたが、いったんうち解けるととても親密で帰りの空港では涙さえ流してくれたのが強く印象に残っています。

ヨーロッパの研究機関、大学を見るにつけ、そのシンボルや長い伝統を大事にする習慣はいいなあ、と思います。ネザーランド癌研究所でもレーウエンフックの肖像が旗にデザインされ、便箋、セミナーの告知、新聞、あらゆるところにシンボルとして登場します。非常にわかりやすいシンボルで象徴され、数百年かけて同じ名前でも信用を培う態度は、とてもいい。日本の研究機関も今後とも再編を繰り返すのですが、この伝統とシンボル、それに伴う信用という要素を、十分重く見てほしいと思います。



## 特別情報

# イネ・ゲノムの全貌解明と 有用遺伝子の単離・特許化

## —農林水産省第2期イネ・ゲノム研究の紹介—

農林水産省 農林水産技術会議事務局

大杉 立

農林水産省では、これまでの第1期イネ・ゲノム研究の成果を受けて、平成10年度より10年計画で第2期イネ・ゲノム研究を実施する。本研究は、イネ・ゲノムの全塩基配列の解読（コア研究）、遺伝子の機能解明・単離（サテライト研究）及びDNAマーカーを用いた効率的選抜技術の開発（ネットワーク研究）からなり、イネ・ゲノムの全貌を明らかにするとともに、得られる有用遺伝子等の積極的な特許化を図り、産業化に繋げることを目指す。

### 1 はじめに

穀物を中心とする食糧の国際需給は中長期的に見ると、地球の温暖化及び砂漠化の進行等の地球環境問題、開発途上国における人工の爆発的増加等多くの不安定要因を抱えている。今後、世界規模での食糧の安定的確保を図るためには、生物の持つ遺伝子情報及び遺伝子機能を解明し、遺伝子組換え技術を活用して新しい機能を備えた植物種を創出することが急務となっている。

このような情勢の中で、イネ・ゲノムの構造と機能の解明を目標として平成3年より7年間にわたって第1期のイネゲノム研究を実施した。この中で約2,300個のDNAマーカーを位置づけた遺伝地図の作成、イネの全DNAを配列順に整列化して全ての染色体で65%以上をカバーした物理地図の作成、約40,000個のcDNAを確保し、その部分塩基配列を解析したcDNAカタログの作成等、当初の計画を上回る成果を挙げ、第2期へ向けての研究基盤を確立した。

平成10年度から第2期イネ・ゲノム計画をスタートさせ、10年計画で以下の3プロジェクトを実施している。

- (1) 「イネ・ゲノムの効率的塩基配列解析技術の開発と全塩基配列の解明」(コア研究)
- (2) 「イネ・ゲノムの有用遺伝子の単離及び

機能解明と利用技術の開発」(サテライト研究)

(3) 「DNAマーカーを用いた効率的選抜育種技術の開発」(ネットワーク研究)

また、今年4月に農林水産技術会議事務局に農林水産ゲノム研究推進室を設置した。その第一の目的は第2期イネ・ゲノム研究が全体として有機的に連携して効率的に実施されるように支援するとともに、研究成果の特許化、産業化及び国際協力への的確な対応等を検討・推進することである。

本稿では、第2期イネゲノム研究の内容、推進態勢等について紹介する。

### 2 研究の内容

#### (1) 全塩基配列の解読（コア研究）

第1期のイネ・ゲノム研究の成果をもとにして約4億5千万の全塩基配列を解読する。これまで65%整列化した物理地図を100%にするために、得られている発現遺伝子(cDNA)をDNAマーカーとして多数染色体上に位置づけた高精度遺伝地図を作成する。同時に、解読を効率化するためにより短いDNA断片(100kb程度)をクローニングしたライブラリー(PACクローンライブラリー)を作成し、それらを整列化した物理地図を作成する。これらをもとに、最新鋭の解析装置によって全塩基配列の解析を行う。更に、得られた配列情報から遺伝

子領域の推定等を大型コンピュータを駆使して行い、サテライト研究及びネットワーク研究に受け渡していく。

研究は農業生物資源研究所と(株)農林水産先端技術研究所の全面的な連携のもとで実施される。一方、イネゲノムとコムギ、トウモロコシ等の他のイネ科穀物ゲノムの類似性が高いことが明らかにされたこと等から、イネゲノム解析を国際的な連携のもとに推進しようという気運が高まり、昨年9月に日本、米国、EC、中国、韓国の研究者によって構成される国際イネゲノムワーキンググループが設置された。今年2月、つくば市において第1回のワーキンググループの会合が行われ、対象品種として日本晴、最初に手がける染色体として日本は第1と第6染色体、情報の早期公開等が合意された。特に、塩基配列情報の公開に関しては、既に国際協力の枠組みで推進されているヒトゲノム、アラビドプシスゲノムの公開原則に従うこととし、可能なかぎり早期に公開することが我が国研究者から提案され了承された。これらの合意事項はこれまでの第1期イネ・ゲノム研究の実績を踏まえて、我が国が主導的に提案している。研究者間ではこのような国際連携が合意されているが、現在、イネ・ゲノムの全塩基配列解読に関する予算を確保しているのは我が国のみであり、国際貢献をしつつ引き続きイニシアティブと発言権を確保していくためにも塩基配列情報の公開を積極的に進めていく予定である(国際イネゲノムワーキンググループの活動については、イネゲノムプロジェクトのホームページwww.dna.affrc.go.jp:82を参照されたい)。

## (2) 遺伝子の機能解明・単離(サテライト研究)

このような国際協力による推進および情報の早期公開は、塩基配列情報それ自体は人類共通の財産であり、知的所有権の対象とはならないという考え方に基づいて行われている。しかしながら、塩基配列情報から特徴のある機能を持った遺伝子を特定した場合その遺伝

子は特許の対象になる。このため、遺伝子の機能解明と単離に関する研究は特許化による国益の確保等の観点から熾烈な国際競争に曝されている。第2期イネ・ゲノム研究においては、このような国際状況を踏まえて、遺伝子機能の解明・単離に関するプロジェクトを積極的に展開する。

### 1) 地図情報に基づいた遺伝子の単離(マップベースクローニング)

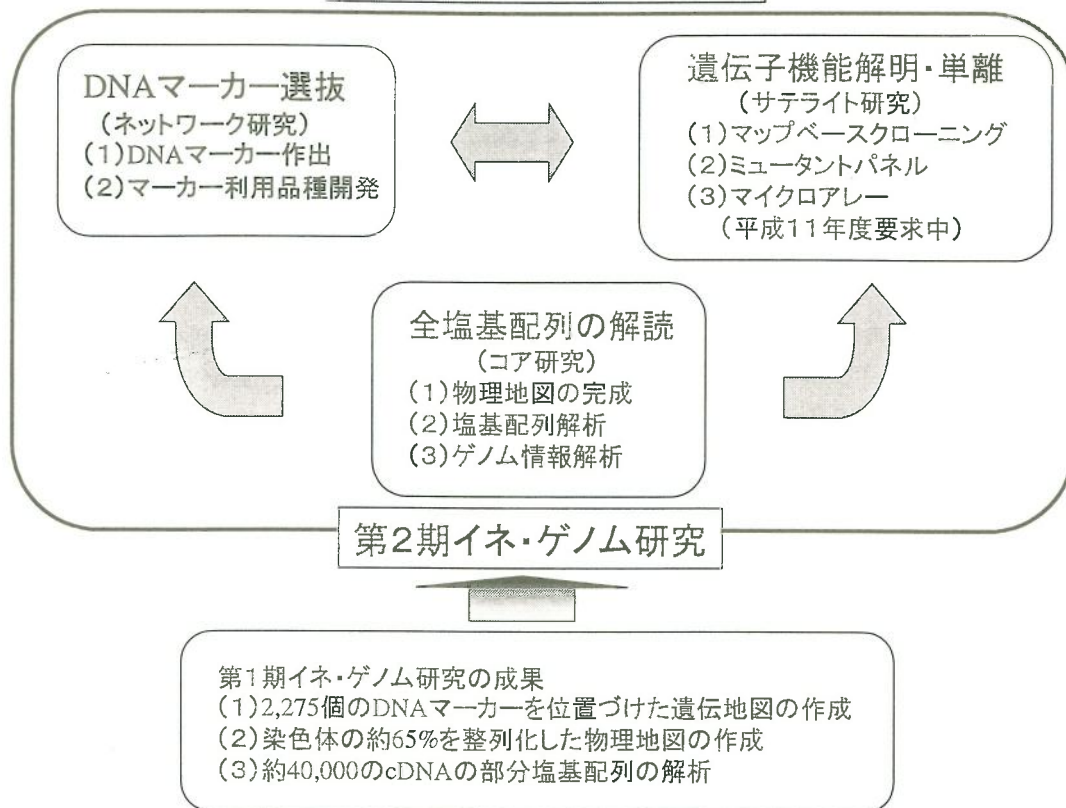
第1期イネ・ゲノム研究では、多数のDNAマーカーを位置づけた遺伝地図とDNA断片を整列化した物理地図が作成された。これらの地図情報とこれまでの遺伝・育種研究の成果として染色体上に位置づけられているいもち病抵抗性、わい性等の多くの農業上重要な遺伝子座(1個の主動遺伝子座)を結びつけ、近傍のDNAマーカーを目印として重要形質の遺伝子座の実体としての遺伝子の単離を図る。また、これまで解析がほとんど行われてこなかった出穂期、収量性等に関する量的形質遺伝子座(QTL)の遺伝解析を行い、同様に地図情報と結びつけて標的遺伝子を単離する。研究態勢は農水省研究機関が5機関(8課題)、委託機関が9機関(11課題)の合計14機関(19課題)である。

### 2) ミュータントパネルを用いた遺伝子機能の解明と単離

第1期イネ・ゲノム研究の成果として、イネのゲノム上を動く遺伝子(トランスポゾン)が発見され、それを利用して多数の遺伝子破壊系統(ミュータントパネル)が作成された。これはトランスポゾンが移動して特定の遺伝子の内部に挿入された結果、その遺伝子が破壊され機能しなくなったイネの系統である。これらのミュータントパネルを利用して、草丈、補発芽等の表現型の変化に着目してその原因遺伝子を特定する。また、既に知られている遺伝子の破壊されている系統を見つけだし、それら遺伝子の破壊がどのような形態あるいは代謝変化をもたらしているかを明らかにする。更に、全塩基配列解読で得られる未知の遺伝子情報を用いて、その遺伝子が破壊

画期的な新作物・新品種の開発(良食味、高品質、高収量、環境耐性作物)

有用遺伝子の特許化、バイオテク利用



された系統を解析することで未知遺伝子の機能解明を行う。研究態勢は農水省研究機関が3機関(9課題)、委託機関が4機関(4課題)の合計7機関(13課題)である。

この他、マイクロアレー技術を用いた遺伝子機能の解明と単離に関するプロジェクトを平成11年度予算要求中である。第1期のイネ・ゲノム研究で単離された約4万個の発現遺伝子(cDNA)のうち、約75%は未知の遺伝子である。これらを規則正しく固定した小さな基板(マイクロアレー)を作成し、これに環境ストレス下等で抽出したmRNAを結合させて、特定環境下で発現する遺伝子群を単離して機能解明を行う。本技術の特徴は発現調節に関連するものも含めて遺伝子を多数同時に単離出来るため、特定環境下での遺伝子発現の全貌に迫れることである。また、コア研究の全塩基配列解読で得られる膨大な未知遺伝子情報とマイクロアレー技術を併用することで、特に、

乾燥、高・低温耐性等のストレス耐性遺伝子等の多数の遺伝子の機能解明が進展することが期待されている。農水省研究機関の他、大学、民間の研究機関への委託を検討中である。特に、多数の民間研究機関の参加を期待しており、マイクロアレー技術を紹介する機会等を通じて参加を呼びかけていきたい。

(3) DNAマーカーを用いた効率的選抜技術の開発(ネットワーク研究)

DNAマーカー育種は、DNAマーカーを選抜の目印として用い、交配して得られる集団から、希望する形質を持った系統を効率的かつ確実に選抜し、育種期間を短縮する方法として注目されている。特に、幼苗で検定できる、また、病原菌等を培養して生物検定する必要が無いことが大きな特徴である。第2期では、イネ、ムギ等のイネ科作物について新たなDNAマーカーの作出とともに、既開発されたマーカーを利用していもち病真性及

び圃場抵抗性、トピイロウカ抵抗性、耐冷性等の効率的選抜技術の開発と利用を図る。また、ハクサイ、カンキツ等のイネ科作物以外の作目については、多型を示すDNAマーカーの開発とそれを位置づけた物理地図の作成を行い、重要形質との連鎖解析を通じて利用可能なDNAマーカーの開発を行う。研究態勢は農水省研究機関が10機関（16課題）、委託機関が15機関の合計25機関（31課題）である。

### 3 オールジャパン態勢による研究推進

これらの遺伝子機能解明・単離によって得られる有用な遺伝子、また、DNAマーカー選抜の過程で得られる重要形質と密接に関連するDNAマーカーについては積極的に特許化を図り、知的所有権の確保を目指して行きたい。

前述したように、全塩基配列解読は国際協力で進められるが、得られた塩基配列情報から有用な遺伝子の単離・特許化を図る部分は国際競争のもとで行われる。第2期イ

ネ・ゲノム研究においては、後者の部分を国の研究機関のみならず、公立研究機関、大学、民間の協力を得てオールジャパン態勢で実施する。世界的に見て、このような態勢は現在のところ我が国が最も充実していると考えているが、今後の国際動向を踏まえながら柔軟に研究態勢の見直し・強化を図って行きたい。

また、消費者の意向を踏まえつつ、バイオテクノロジーを利用して新作物・新品種を開発していくことは今後極めて重要と考えられることから、第2期イネ・ゲノム研究によって得られる有用な遺伝子等の成果を産業化に結びつけていくことが必要である。海外においては、モンサントの他、デュポン、ダウ・ケミカル等の大手化学会社も農産物バイオ事業の強化を図っているが、我が国では欧米に比べてバイオテクノロジーを活用した産業基盤が十分とは言えない。このため、農林水産省としても農産物・バイオ産業の育成に関して支援していくこととしているが、関係民間企業のイネ・ゲノム研究への理解と積極的な参加を期待したい。



#### 編集後記

本号では、製造技術の画期的な発展により、用途が無限に広がると言われているトレハロースについて、林原研究所の斉藤さんに総説を書いていただきました。顕著な低コスト化が実現すると、利用する上でためらわれていた多くの用途が一斉に開けてくるのは驚くばかりです。他の工業分野ではよく聞かされる画期的な技術開発に匹敵するものが、バイオ・生物分野でもなされたことに勇気づけられます。

農林水産分野の広い領域について、偏ることなく最新の技術情報を掲載することは、限られた誌面では困難なことです。本誌の編集方針も節目ごとに見直しがされ、少しずつ変

化してきました。70号も1つの区切りの号です。次号からの誌面を多少改善してゆきたいと考えています。分野のバランスは一年間の中でとるようにすること、従って1つの号には同一分野の記事が複数載ってもよいとすること。本誌の裏表紙は現在白紙ですが、ここに生研機構からのお知らせ等の欄を常設することなどが検討されています。記事の内容はもとより、情報誌としての体裁も改善してゆく必要があります。より親しみ易く、役に立つBRAINテクノニュースにしてゆくことを不断の課題として取りくみたいと考えています。  
(松田 記)

## ブレインテクノニュース (第70号)

平成10年11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