

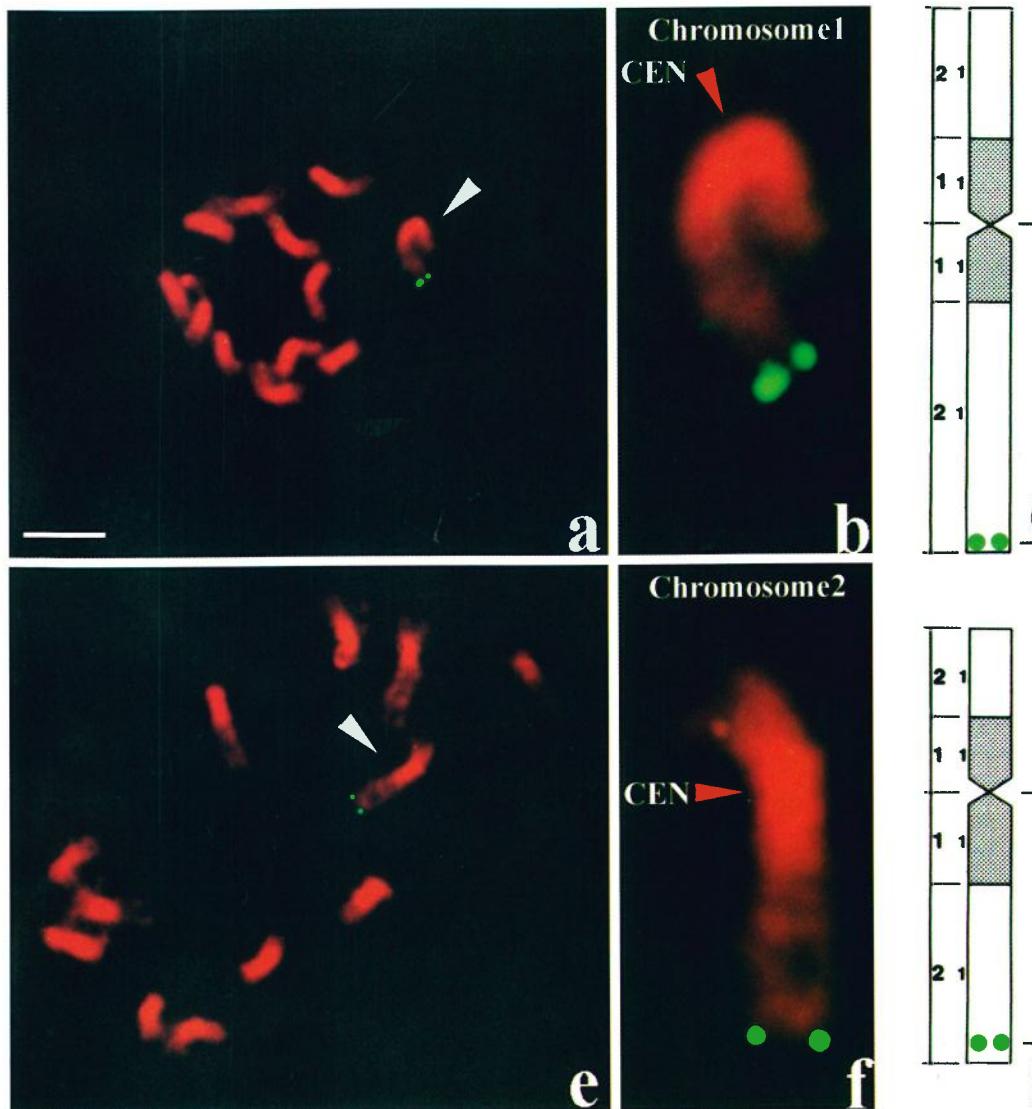
&lt;生 研 機 構&gt;

ブレインテクノニュース

## 第 72 号

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

MARCH 15, 1999



YAC および BAC クローンの FISH によるイネ染色体上での可視化。a) 半数体染色体上での YAC クローンを用いた FISH 像、第 1 染色体上にマッピングされる（矢印）。b) 第 1 染色体の拡大像 CEN は動原体を示す。c) 定量的染色体地図へのマッピング d) 遺伝子地図上へのマッピング。e-f) BAC クローンを用いた結果、第 2 染色体上にマッピングされる。バーは 5 μm を示す。

(本文16ページ参照)

## 総 説

上野川修一

食品とアレルギー………… 1

## 国内情報

栗崎純一・水町功子・高田能久

畜産食品の低アレルゲン化………… 5

阿部浩人・椿 和文

アレルゲンフリー米の開発………… 9

坪内紘三

絹から皮膚保護材の開発………… 13

近江戸伸子・福井希一

DNA・遺伝子を染色体・ゲノム上で可視化する FISH 法………… 16

## 地域の先端研究

金井政人

気泡を多量に含んだ豆腐の製造法開発………… 19

## 文献情報

菌根菌と根粒菌の共生機構における類似性………… 22

ウシ体細胞の核移植によるクローン個体の作出………… 23

酵母レトロトランスポゾン (Ty-elements) の戦略………… 23

観賞だけではありません；金魚の脳ミソで記憶のメカニズムを解明

——金魚逃避行動へ及ぼす聴覚刺激の影響と抑制性長期増強の関係………… 24

花粉管の伸長に必須な脂質………… 25

## 海外便り

木村淳夫

澱粉粒の酵素分解に見い出された生成物の“固定化現象”

——米国アイオワ州立大学での 2 年間………… 27

## 特別情報

フランス国家「教育・学術功労勲章（コマンドゥール）受章に寄せて

——原田宏先生とフランス………… 30

**総 説**

# 食品とアレルギー

東京大学大学院農学生命科学研究科

上野川 修一

アレルギー患者の増加は著しい。その原因には食生活の変化や環境の変化があげられている。このような状況下で食品を原因とするアレルギーも増え続けている。また食品のなかでも卵や牛乳など栄養価の高い食品でアレルギーを起こすことが多い。食品アレルギーが、それ以外の花粉アレルギーやダニアレルギーと異なるところは、経口的に摂取されるため腸管の免疫系と相互作用する点である。この腸管免疫系はわれわれにとって極めて重要なアレルギーを抑制する役割を果たしている。これを経口免疫寛容と呼んでいる。この経口免疫寛容が破綻すると食品アレルギーが起こるとされている。

## 1. はじめに—アレルギーはなぜ増え続けているのか

アレルギーとはわれわれのからだの防衛機能である免疫系が異常に過敏状態に陥り、われわれ自身のからだを攻撃することにより起こる疾患である。アトピー性皮膚炎、喘息、下痢などが主な症状である。

このアレルギー患者の増加は最近になって極めて著しい。全人口の3割がアレルギーに罹患しているとされている。このアレルギー患者の急激な増加については、次のようなことが原因と推定されている。

まず食生活の西欧化である。われわれ日本人はこの四半世紀に食生活のパターンを大きく変えている。タンパク質の摂取量の増大はわれわれを病原菌による感染から防御する能力すなわち免疫のはたらきを強化したが、免疫のはたらきの強化はアレルギーの発症も容易にしてしまった。アレルギーとは免疫のはたらきそのものであるためである。すなわちアレルギーは本来、寄生虫などを排除する免疫機構と考えられているのである。

つぎに、環境の変化である。特に大気中の排気ガス由来の物質はわれわれのからだがアレルギーを起こしやすい方向に作用している。また、それ以外の環境物質もわれわれのからだにアレルギーを起こしやすい免疫学的環境

に移行させていると推定されている。

また精神的ストレスを与えやすい生活環境もアレルギーの発症の増加に役割を果たしている。

いずれの原因もわれわれがより快適な文明生活を得るために努力してきた行為の副産物とも言うべきものである。従ってわれわれがさらに高度な文明のもとでの生活を望めば、よりアレルギーは増え続ける可能性がある。その意味ではアレルギーは一種の文明病でありそれだけに問題は深刻であると言わざるを得ない。

## 2. 食品アレルギーも増え続けている

アレルギーのうち食品成分を原因として発症するアレルギーを食品アレルギー、食物アレルギー、食事アレルギーなどと呼んでいる。四半世紀以上前にはアレルギーと言えばダニや花粉をアレルギー原因物質（すなわちアレルゲン）とするものがほとんどであり食品成分をアレルゲンとする患者はそれほど多くはなかった。しかもほとんどが乳幼児に限られており、多くの場合6才を越えると治っていたのである。

最近厚生省などでは、食品アレルギーで悩む人々が増えていること、急増するアトピー性皮膚炎の原因の背景に食品アレルギーがあること、給食によってアレルギーを発症する

KAMINOGAWA Shuichi

## 2 総 説

学童が多発していることなど、この食品アレルギーが社会的に問題となっていることを受けて、詳細な調査を開始している。その結果食品アレルギーを疑われるものは乳幼児の10%におよんでいること、さらに驚くべきことには食品アレルギーは乳幼児に限って発症すると考えられていたものが、成人にも及び乳幼児とほぼ同じ割合で発症していることが明らかになってきたのである。こうなると食品アレルギーはアレルギーの中の主役に躍りでた感さえある。言うまでもないことであるが、食品アレルギーはダニや花粉アレルギーなどとは異なりわれわれの生命を維持するために体内に取り入れなければならないものすなわち食べ物が起こしてしまう疾患だけにより事情は深刻といえるだろう。

### 3. アレルギーを起こす食品について

不思議なことにアレルギーを起こす食品はある特定なものに偏っている(図1)。わが国においては卵や、牛乳によるアレルギーが極めて多い。双方で全食品アレルギーの50%を楽に越える。

卵や牛乳の成分のうちタンパク質がアレル

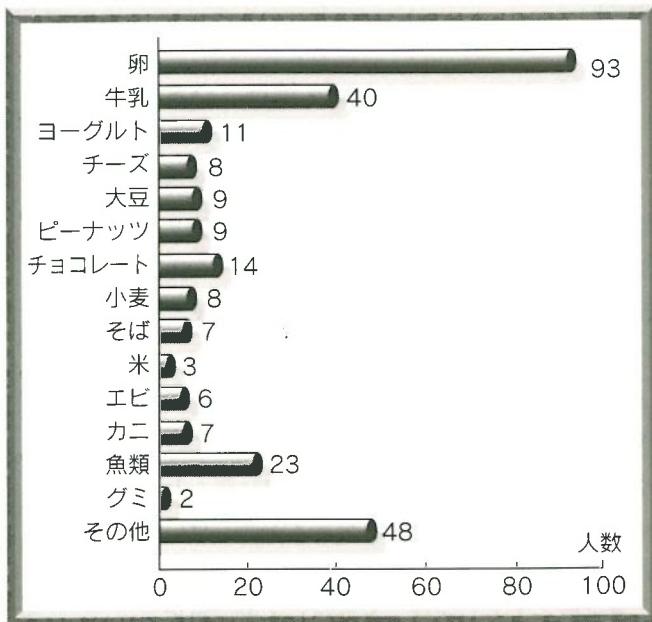


図1 「食べて、1時間以内に皮膚の症状の出現、体調の悪化を認めた食べものは何ですか?」に対する回答  
(即時型アレルギー陽性児168名の複数回答)  
厚生省「食べ物と健康に関する検討委員会」報告書より

ゲンとなっている。たとえば卵ではオバルブミン、オボムコイドなど、牛乳では $\beta$ -ラクトグロブリン、 $\alpha_{SI}$ -カゼインなどが主要なアレルゲンである。

外国ではわが国とやや異なった傾向を示す国もある(表1)。わが国においてなぜ卵や牛乳でアレルギーを起こす人が多いのかは未だ解明されていない。食べる量、アレルゲンの構造、アレルゲンと反応する生体側の免疫・アレルギー的素因など様々なものが複合して関係した結果であろうかと考えられる。しかし、いわゆる高栄養価、すなわち優れた栄養価を誇る食品群に偏っているのは興味深いことである。

また将来において現在の主要なアレルゲンに加え、他の食品によるアレルギーが増加するのかどうかは食品関係者にとって気になるところである。著者は現在の食環境や生活環境が変わらなければ食品アレルギーが増加するとともにアレルゲンも多様化している。すなわち現在それほどアレルギーの原因となっていない食品も立派なアレルゲンになる可能性があると考えている。

### 4. 食品アレルギー発症を防ぐ腸管免疫系

摂取されたアレルゲンは腸管に達するがここで、腸管特有の免疫系と相互作用をする。腸管の免疫系には通常2つの機能が備わっている(図2)。ひとつは病原細菌の侵入を防ぐために腸管に特有の抗体である免疫グロブリンA(IgA)をつくることである。このIgAはわれわれのからだ全体に存在する免疫グロブリン群の約6割を占めており、腸管をはじめとした乳、唾液などからだと外界との境界領域に分泌され外界からの敵と戦っている。

もうひとつの重要なはたらきが食品アレルギーを抑制するはたらきである。このはたらきは経口免疫寛容(oral tolerance:オーラルトレランス)と呼ばれている。実はこの経口免疫寛容はわれわれが生きていく上で極めて重要な意味をもっている。われわれにとって食べるという行為はその生命の維持

表1 いろいろな国のアレルゲン  
(単位: %)

	米国 (A)	米国 (B)	スイス	スウェーデン	イスラエル
卵	21	54	5	3	—
牛乳	13	28	10	1	—
ピーナッツ	39	28	—	—	31
クルミ	8	—	—	5	—
カシュー	6	—	—	—	—
ヘーゼルナッツ	—	—	—	10	—
アーモンド	—	—	—	—	39
大豆	—	12	—	—	—
魚	5	9	—	—	—
甲殻類	—	—	6	6	—
リンゴ	—	—	—	8	—
モモ	—	—	—	—	75
オレンジ	—	—	—	—	9
セロリ	—	—	45	—	—
ニンジン	—	—	14	—	6
小麦	—	10	—	—	—

に絶対的に必要なことである。しかしこの食べられるものは本来われわれにとっては異物であり、その免疫系の排除の対象となっているのである。免疫系は自己は排除しないが非自己由来の成分（抗原）はこれを認識し排除するように設計されているのである。食物が非自己成分であることは言うまでもない。ところが食物を排除してしまってはわれわれは生きてゆくことはできない。そこで腸管免疫系は例外を認め食品成分は排除しない機構をつくりあげている。食物摂取によって起こ

る食物排除のための免疫反応すなわちアレルギーを抑制する機構—経口免疫寛容—を配備しているのである。従って経口免疫寛容が充分に誘導されないと食品アレルギーの発症が容易になる。現在この経口免疫寛容の誘導機構に関する研究は急激に進み、これに関与する免疫細胞や免疫分子の本体に性質が明らかにされつつある。以上の点の詳細についてはすでに発表された総説を参考にされたい<sup>1,2,3,4</sup>。

## 5. 食品アレルギー発症のメカニズム

経口免疫寛容が充分に機能せず、さらに生体がアレルギーを起こしやすい素因（アトピー遺伝子）を持っていた場合に食品アレルギーが発症する。その発症には抗原提示細胞、T細胞、B細胞、マスト（肥満）細胞、好酸球など免疫系の細胞が関与する。それぞれの役割についてふれたい。

食品アレルゲンはまず抗原提示細胞に取り込まれ分解される。分解によって生じた食品アレルゲン分子の中のアレルギーを誘起する領域は、抗原提示細胞内でつくられている免疫認識制御タンパク質であるMHCクラスII分子、と結合し複合体を形成する。

この複合体は抗原提示細胞の表面に移行する。つぎにこの複合体を認識、結合できる分子を細胞表面にもったT細胞（リンパ球の一種）が近づき、抗原提示細胞からの情報を受

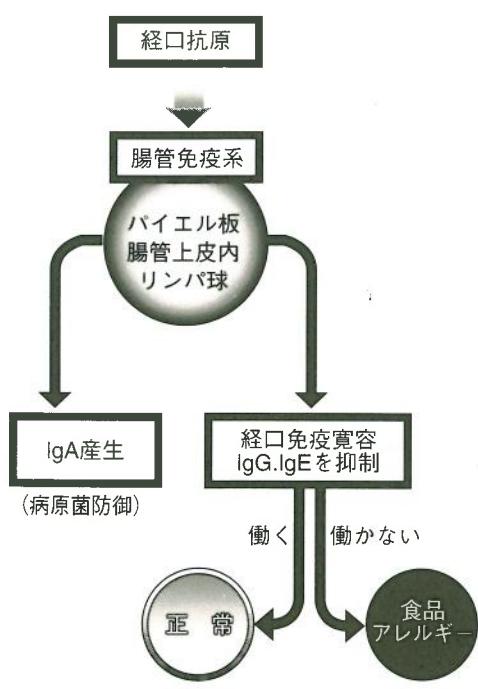


図2 腸管免疫とは

#### 4 総 説

けどる。

アレルギー情報を受け取ったT細胞は今度はB細胞と相互作用し、B細胞を免疫グロブリンE(IgE)産生細胞に変化させる。IgEは抗体群の中で最も量的には少ないが、アレルギー誘起能力を持ったタンパク質である。

B細胞によって作られたIgEは、マスト細胞の表面にある受容体と結合する。不思議なことにこのIgE受容体はマスト細胞の表面だけ存在する。

IgEの結合によりマスト細胞からは様々な炎症誘起物質が放出される。またさらにこのマスト細胞から放出されたある種のタンパク質(インターロイキン)は好酸球を活性化する。この好酸球も炎症を誘起する。

マスト細胞による炎症は皮膚、気管支、消化管などで起こる。それぞれアトピー性皮膚炎、喘息、下痢である。発症部位が特定されているのは、マスト細胞がその部位(体の表面近く)に集まって存在しているからである。以上の点についてすでに発表された総説を参考にされたい<sup>1,5)</sup>。

食品アレルギーの場合、口から摂取されたアレルゲンによって、なぜ遠く離れた皮膚や気管支などで炎症が起こるか不思議なこととされてきた。現在もそのしくみが全て明らかとなっている訳ではないが、口から入ったアレルゲン分子のアレルギー情報をたとえば皮膚まで伝達する精巧なしくみのあることがようやく明らかになりつつある。

#### 6. おわりに

食品アレルギーは当初医学的な問題として扱われてきた。治療が優先したのである。しかし、その発症のしくみ、特にアレルゲンの発症における役割が明らかになるにつれ、食品科学、栄養科学的な立場からも重要な問題と認識されるに到っている。アレルギーの原因となる物質やアレルギーを発症しやすくする化学物質が、食物、栄養素として体内に入り、それらがアレルギー発症に大きな影響を与えていたと考えられるに到っているからである。と同時に食品アレルギー患者を減らすには食品のコントロールによる予防が必要であるとの認識が深まったためであろう。いずれにせよ、今後、食品科学、栄養学の立場から研究しなければならないアレルギー関連の問題が増えることは明らかである。この方面からの研究の発展を期待したい。

#### 文 献

- 1) Kaminogawa.S : Food allergy, oral tolerance and immunomodulation-their molecular and cellular mechanism, *Biosci. Biotech. Biochem.* 60, 1749-1756 (1996).
- 2) Kaminogawa.S, Hachimura.S, Adachi-Nakajima.H, et al: Food allergen and mucosal immune system, *Allergology International* (in press).
- 3) Weiner, H.L. *Immuno. Today* 18, 335-343 (1997).
- 4) Stephan Storobel, Allan McL. Mowat : *Immune responses to dietary oral tolerance*, 19 (4), 173-181 (1998).
- 5) 戸塚謙・上野川修一：アレルギーの分子機構、蛋白質 核酸 酵素 42, 1055-1062 (1997).

**国内情報**

## 畜産食品の低アレルゲン化

農林水産省 畜産試験場・\*日本ハム(株)中央研究所

栗崎 純一・水町 功子・\*高畠 能久

アレルゲンタンパク質を多量に含む牛乳や鶏卵の低アレルゲン化では、生体のもつ経口免疫寛容機構を利用した食品開発が有効であるとの観点から、免疫寛容誘導活性をもつペプチドを動物実験系で明らかにした。一方、食肉を用いた低アレルゲン化食品については、食肉加工品製造に用いられるつなぎ成分のもつアレルゲン性や食肉の種類によるアレルゲン性の差異を明らかにし、それらの成果を利用してアレルギーを起こしにくい加工品を開発した。

る<sup>1)</sup>。

### 1. はじめに

畜産物およびその加工品は、栄養的にも嗜好性の面でも優れているが、食物アレルギーの原因となることも良く知られている。なかでも、鶏卵や牛乳は、栄養要求の度合いが高い小児での発症頻度が高く大きな問題となっている。これらの食品に含まれるアレルゲンタンパク質は主要成分であり、それら食品の意義そのものもある。従って、一般的に最も良く用いられる低アレルゲン化処理である、アレルゲンの除去を適用することは難しい。例えば、アレルゲン除去を目的としたアレルゲンタンパク質の酵素分解では、加熱による凝固性、泡立ち性、乳化性など、成分タンパク質のもつ食品学的機能特性が大部分失われ、食品加工素材としての価値が無くなる場合が多いからである。低アレルゲン性育児用調製乳や限定された患者のための特定成分を除去した製品は可能であり、各種開発されているが、牛乳、鶏卵タンパク質の優れた特性と経済性を利用したおびただしい数の加工食品についての低アレルゲン化は重要とはいえる、現在の技術では困難な問題となっている。そこで、われわれは、経口免疫寛容現象を利用した、アレルゲンに対する反応を抑える方法の開発をめざし、実験動物を用いた基礎研究を行っており、その成果の一部をここで紹介す

KURISAKI Jun-ichi, MIZUMACHI Koko,  
TAKAHATA Yoshihisa

一方、畜産物の中で、食肉・食肉加工品に対するアレルギーはそれほど注目されていない。従って、発症頻度について十分なデータはないが、一般的には鶏卵や牛乳に比べるとかなり低いと考えられている。しかし、近年、アレルギーに悩む人は増加の傾向にあるとの調査報告<sup>2)</sup>や、食肉に対するアレルギー発症頻度は、豆類、穀類、水産物に対するアレルギーより高いとの報告<sup>3)</sup>もあり、軽視できない問題と思われる。また、食肉以外の成分を含んだ食肉加工品によってアレルギーが発症した場合、医師の厳密な診断なしに、食肉成分によって引き起こされた食肉アレルギーと考えてしまう消費者もいる。さらに、牛乳や鶏卵にアレルギーを呈する患者は、症状により牛肉や鶏肉の摂取も控えるよう指導される場合もあり、食肉・食肉加工品に対するアレルギーについて科学的研究が必要となっている。そこでわれわれは、食肉・食肉加工品に対するアレルギーの原因成分を明らかにし、それらを低アレルゲン化することを目的として研究を進めており、その成果の一部を利用した製品を開発したのでここに紹介する。

### 2. 経口免疫寛容誘導のための基礎 知見

食品成分は、生体にとって異物であるにもかかわらず、経口摂取により抗体の産生低下やT細胞増殖応答抑制など、免疫応答が抑制される。このような現象は経口免疫寛容とよ

## 6 国内情報

ばれ、最近、臓器移植の場合の拒絶反応の予防や自己免疫疾患の治療にその機構を利用するところが期待されている。例えば、疾病の原因となる移植抗原や自己抗原をあらかじめ服用させて、それらに対する有害な免疫反応を抑える方法が考えられている。しかし、食物アレルギーの場合は、アレルゲンの経口摂取そのものが症状を引き起こすことから、アレルゲンを免疫寛容源に用いることは出来ない。そこでわれわれは、アレルゲンタンパク質の一部分に相当するペプチドを利用して、元のタンパク質に対する免疫応答を抑制する方法の開発をめざした。これまでに、T細胞が認識するタンパク質の特定部位（T細胞エピトープ）を含むペプチドには、寛容誘導活性が認められた報告がある<sup>4)</sup>。そこで、牛乳の代表的アレルゲンタンパク質、 $\beta$ -ラクトグロブリンのT細胞エピトープに関するわれわれの知見<sup>5)</sup>を利用して、マウス（BALB/c）を用いた実験動物モデル系で免疫寛容誘導ペプチドを探査した。

具体的には、 $\beta$ -ラクトグロブリンのBALB/cマウスにおける主要なT細胞エピトープ領域、42-56残基目、62-76残基目および139-154残基目に相当するペプチドを合成し、それらの経口投与実験を行い、その後に $\beta$ -ラクトグロブリンで免疫した。その結果、 $\beta$ -ラクトグロブリンに特異的なT細胞は、ペプチドを投与しない群では増殖応答を示すが、いずれのペプチドの投与によっても、増殖応答が顕著に抑制された。しかし、抗体産生応答は139-154残基目のペプチド投与によってのみ顕著に抑制された。

以上のように、特定領域の部分ペプチドにより経口免疫寛容を有効に誘導することができた。同様の成果は、卵白アレルゲンのオボムコイドについても得られつつある。このような経口免疫寛容誘導ペプチドの利用技術は、食物アレルギーの予防・治療にも応用可能であり、T細胞認識領域のペプチドをあらかじめ投与しておけば、アレルゲンタンパク質に特別な低アレルゲン化処理をせずに摂取しても、有害な過剰応答を抑制することが可能で

あることを示している。ただし、その前提として、アレルギー患者の認識するT細胞エピトープ領域の解明や有効なペプチドの設計を行う必要があり、今後の問題として残されている。

### 3. つなぎはアレルゲンになる

食肉加工品には原材料としての肉、塩類、糖類、香辛料、調味料のほか、経済性、加工特性や物性向上のため、各種の異種タンパク質およびその水解物、いわゆる「つなぎ」が、結着剤あるいは增量剤として使用されることも多い。それらは、大豆やその他の植物性タンパク質、牛乳、鶏卵、魚肉タンパク質であり、いずれも食物アレルゲンを含んでいる。従つて、つなぎに含まれるそれぞれのタンパク質にアレルギーをもつ場合には、食肉自体に含まれるタンパク質にアレルギーを起さない人でも、食肉加工品に対してはアレルギーを発症する危険性がある。実際、米国では、大手食肉加工メーカー製造のソーセージにより、つなぎのカゼイン水解物を原因とした重篤なアレルギー2件の発症が報告されている<sup>6)</sup>。このような食肉加工品に対するアレルギーを発症した場合の心理的效果は大きく、食肉そのものが原因でない場合であっても、患者やその周辺の消費者は食肉や食肉に関連するすべての食品を当人は避けた方が安全だと感じることが多い。また、小児で発症頻度の高い鶏卵、牛乳アレルギー患者が、それらの原因タ

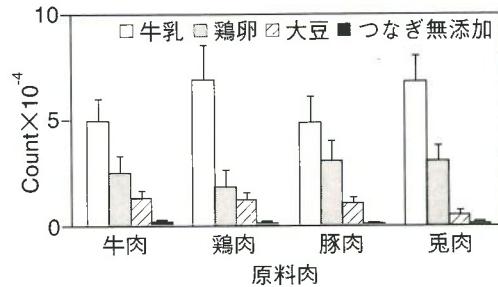


図1 つなぎ添加または無添加のモデルソーセージ抽出物と牛乳・卵アレルギー患者血清中のIgE抗体との反応

14名のアレルギー患者を用いた。食肉には牛、鶏、豚肉の3種を、つなぎとしては牛乳、鶏卵および大豆タンパク質を使用した。IgE抗体値の測定は化学発光ELISAによった。

ンパク質を含んだ食肉加工品によって発症すれば、食肉でも発症する不安に駆られる可能性があり、食肉・食肉加工品の消費に少なからず悪影響がある。

そこで、われわれは、異種タンパク質つなぎとして添加または無添加モデルソーセージを牛、豚、鶏および兎肉を原材料として作製し、その水溶性抽出物と、牛乳または鶏卵アレルギー患者血清 IgE 抗体との反応性を調べた（図 1）<sup>7)</sup>。その結果、つなぎタンパク質を含むソーセージからの抽出物に患者 IgE 抗体は高い反応性を示した。それとともに、つなぎタンパク質を含まないものに対しては反応性がほとんど認められないとわかった。このことは一見自明のようであるが、牛乳、鶏卵、大豆のアレルゲンタンパク質が、加工品製造上のプロセスでの加熱変性や他成分との相互作用によってもアレルゲン性を保持することを示している。また、牛乳に感受性があれば牛肉を、あるいは、鶏卵の場合には鶏肉を避ける必要がある、との考えは必ずしも成り立たないことがわかった。ただし、食物アレルギー患者によっては多数の食物アレルゲンに感受性がある場合があり、また、食肉には一部に牛乳や鶏卵と共通するアレルゲンタンパク質が含まれることから、牛乳・鶏卵アレルギー患者に、食肉は安全であるとは決して言えない。従って、安全か否かの判断は、患者本人や保護者の日常的な観察のみに頼らず、専門医の診断に基づくことが最も重要である。

以上のことから、大部分の消費者につなぎが問題となることはないが、つなぎ成分に感受性の食物アレルギー患者にとっては、それら異種タンパク質を含まない食肉加工品が必要とされる。この種の製品として、つなぎを含まない高級ハム、ソーセージなどがメーカーから市販されている。ただし、これらの製品の製造に当たっては、つなぎタンパク質の混入を避けるため、一般品とは製造ラインを区別することが重要である。

#### 4. アレルゲン性の低い食肉の種類

食肉アレルギーとは、文字通り食肉成分をアレルゲンとして引き起こされる食物アレルギーを指し、牛肉、豚肉、鶏肉アレルギー等がある。その発症機構は他の食物アレルギーと同様で、アレルゲンに対する特異的な抗体や免疫担当細胞が関与する免疫反応であり、主として IgE 抗体が関与する即時型アレルギーと特異的 T 細胞が関与する遅延型アレルギーによるものと考えられているが、即時型と遅延型の割合については定かでない。肉は動物種に関わらず、人によってはすべてアレルギーを引き起こす可能性があるが、肉種別発症頻度に関しては、食肉アレルギーの頻度と同様に十分なデータはない。国内では、馬場は、来院のアレルギー患児を対象とした場合、鶏肉、牛肉、豚肉、鹿肉に対する発症頻度として、それぞれ全症例中（341 例）の 7, 3.8, 3.2, 0.6% の値を得ている<sup>3)</sup>。経験的には、ある特定の肉種に過敏であっても、別の肉種では全く症状がないことがある。従って、患者によって感受性が異なる可能性もあり、肉種別のアレルゲン性の強弱について、さらに十分科学的なデータを集積すべきではないかと思われる。

そこで、われわれは、牛、豚、鶏肉に加えて、家兎肉や七面鳥肉を用いたモデルソーセージを作製し、その水溶性抽出物と食肉アレルギー患者血清中の IgE 抗体との反応性を調べた（図 2）<sup>7)</sup>。その結果、家兎肉や七面鳥肉に対する IgE 抗体価が顕著に低かった。原因としては、これまでそれら食肉を摂食する機会が少なく、患者が感作（免疫刺激）され

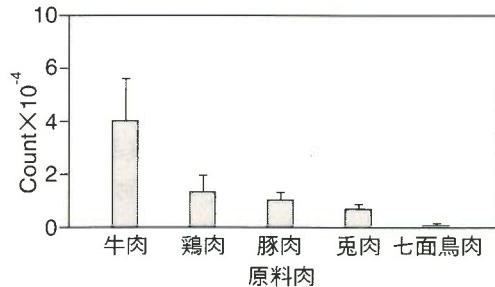


図 2 つなぎ無添加のモデルソーセージ抽出物と食肉アレルギー患者血清中の IgE 抗体との反応

12 名の食肉アレルギー患者を用いた。食肉には牛、鶏、豚肉、家兎、七面鳥肉の 5 種を使用した。IgE 抗体価の測定は化学発光 ELISA によった



写真 開発したソーセージ 左からそれぞれ豚、兎および七面鳥を原料肉とした製品

ていないことが大きな理由と考えられる。しかし、継続的な摂取によっても症状を起こさない可能性もあり、これらの食肉を用いた低アレルゲン性食肉加工品が期待された。

### 5. アレルギーを起こしにくいソーセージ

以上のように、食肉加工品のつなぎ成分がアレルゲンとなる可能性があること、および原材料の食肉の種類を変えれば患者によっては反応しない可能性があることが明らかになった。そこで、つなぎ成分を全く含まず、中程度のIgE抗体結合性を示した豚肉、さらに低い兎肉および、最も結合性が低かった七面鳥肉を原材料としたソーセージを開発した(写真)。専門臨床医の指導のもとでの食物アレルギー患児における試食も好評で、有効性を示す臨床データも蓄積されつつある。これらの製品は、現在通信販売等で市販されている。

### 6. おわりに

畜産物は栄養生理学的にも、食品加工上も機能性に富んだ食品素材として、多くの食品、加工食品に用いられている。従って、畜産食

品の低アレルゲン化はますます重要な課題となっている。今後、牛乳および鶏卵のアレルゲンタンパク質については、本稿で述べた免疫寛容誘導ペプチドに関する研究のさらなる深化を図るとともに、遺伝子工学的な低アレルゲン性タンパク質の分子設計も行っていく必要があると考えている。また、食肉については、現在アレルゲンタンパク質の同定を進めしており、それらの低アレルゲン化技術の開発および新たな低アレルゲン化食肉加工品の開発を行っていきたいと考えている。

### 文献

- 1) Mizumachi, K. et al. (1999) *Proc. Intern. Mucosal Immunol.* (in press)
- 2) 厚生省(1991) 1991年保健福祉動向調査
- 3) 馬場 実(1993):からだの科学, 170: 89-93
- 4) Hoyne, G.F. et al. (1994) *Immunology*, 83: 190-195
- 5) Tsuji, N.M. et al. (1993) *Immunol. Lett.*, 37: 215-221
- 6) Gern, J.E. et al. (1991) *New Eng. J. Med.*, 324: 976-976
- 7) Yamada, R. et al. (1997) *Proc. 43rd Intern. Congr. Meat Sci. Technol.*, 766-767

国内情報

## アレルゲンフリー米の開発

(株)アレルゲンフリー・テクノロジー研究所  
阿部 浩人・椿 和文

筆者らはアレルゲンフリー米の開発を目的にアレルゲン分子の解析を行い、米に15種類のアレルゲン分子が存在することを明らかにした。米粒のアルカリ処理により塩可溶性アレルゲンを除去できることを見い出し、アルカリ処理技術を確立した。また、従来品種よりも同処理に適した稻系統AFT-14の作出に成功した。アルカリ処理アレルゲンフリー米は臨床試験の結果9割以上の患者に有効と判定された。

### 1. はじめに

(株)アレルゲンフリー・テクノロジー研究所(略称AFT研究所)はアレルゲンフリー米や大豆など特定の機能を有する農作物の開発並びにこれらの利用を研究課題として、1993年3月に生物系特定産業技術研究推進機構(生研機構)と民間4社(旭電化工業(株), キッコーマン(株), 明治製菓(株)および全国農業協同組合連合会(JA全農))の共同出資により設立され、これから述べるアレルゲンフリー米の開発に取り組んでいる。

アレルゲンフリー米あるいは低アレルギー米とは、アレルギーを引き起こす原因物質であるアレルゲン分子が米粒において低減化または除去されている米を指し、米を摂取することでアトピー性皮膚炎等のアレルギー症状の増悪に悩む患者に、その代替食として望まれている食品である。アレルギーを誘発する原因物質を同定し、米粒から容易にそのアレルゲン分子を除去する技術の開発が本研究のポイントである。AFT研究所では、臨床的な有効性の向上、低減化評価法の確立、食品としての食味改善を重要課題に挙げ、アレルゲン分子の同定、低減化評価等に関する基礎研究及びアレルゲン低減化においては育種及び加工処理の両面で技術開発研究に取り組んできた。その結果、比較的簡便な方法でアレルゲン分子を低減化させる加工処理技術を確立

ABE Hiroto, TSUBAKI Kazufumi

すると共に、在来品種よりも処理しやすい米の作出に成功した。本稿ではこれらの成果をまとめて述べる。

### 2. 米のアレルゲン分子

米アレルゲン分子の除去あるいは低減化を設計する場合、除去すべきアレルゲン分子を解析・同定することは重要である。米アレルゲンに関する研究は、1979年柴崎らによるグロブリン・グルテリン画分のアレルゲンに関する研究<sup>1)</sup>に始まり、その他、米のアルブミン画分に含まれる分子量16kDaの蛋白質分子が米の主要アレルゲンとした報告がある<sup>2,3)</sup>。筆者らは、農水省農業生物資源研究所放射線育種場(以下放射線育種場)にて見いだされた87KG-970稻系統<sup>4)</sup>(16kDaのアレルゲン蛋白質がほぼ完全欠失した系統)を解析し、コシヒカリと同等のIgE結合性を有することを見いだした<sup>5)</sup>。そこで、16kDaのアレルゲン分子以外に米粒より低減化すべきアレルゲン分子が存在すると考え、37名の患者血清を用いてイムノプロット法によりIgE抗体と結合する蛋白質成分を解析した。その結果を図1に示した。患者血清中のIgE抗体は16kDaの蛋白質分子を含め14種類の蛋白質バンドと反応した。また、ほとんどの米アレルギー患者血清は米の塩可溶性画分の中で複数のバンド(5種類以上)と反応した。以上のデータから、アレルゲンフリー米の作出において、これら全てのアレルゲン分子をターゲットとし米粒

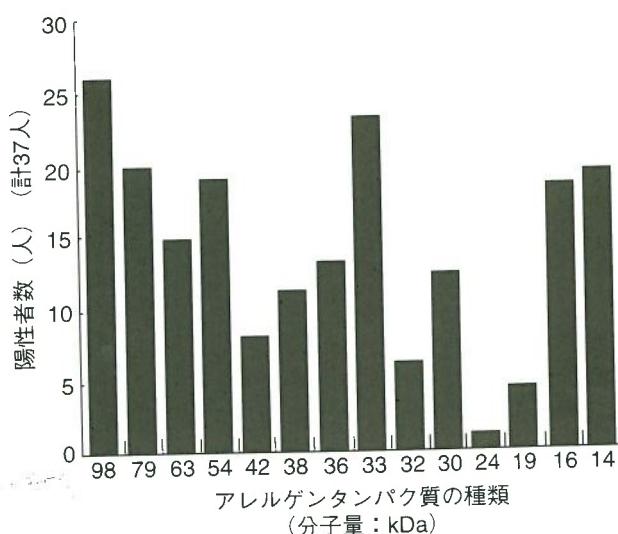


図1 米に含まれるアレルゲン蛋白質分子

より低減化するには従来育種ではほぼ不可能であると考えられた。そこで著者らは、アレルゲンフリー米の開発戦略として、加工処理技術による包括的なアレルゲン分子の低減化と、これに適した加工処理好適米を育種技術で作出する方策を試みた。

### 3. アルカリ処理によるアレルゲンの低減化

米の塩可溶性蛋白質の低減化に効果のある溶媒のスクリーニングを実施した。種々の酸・アルカリ・塩類の100mM溶液を調製し、一定時間処理し、水洗後処理米を得た。凍結乾燥して粉碎後、塩可溶性蛋白質を抽出し、その結果を水で処理した米粒と比較したところ、塩可溶性蛋白質の低減化率は酸類が50%前後、アルカリでは80%であり、特にアルカリ性水溶液処理にて効果が著しかった。そこで処理条件について種々検討したところ、米粒からの塩可溶性蛋白質の除去程度は、アルカリ量・濃度、温度、反応時間に影響されることがわかった<sup>6)</sup>。

### 4. アルカリ処理米の調製とその評価

市販のコシヒカリを用い、アルカリ量・濃度、温度、反応時間を検討し、至適条件を設

定後、アルカリ処理技術の有効性を検証する目的でアルカリ処理米「AFTRI」を調製した。AFT-R1の評価は、1) 蛋白質の低減化分析、2) IgE抗体結合試験やヒスタミン遊離などの試験管内アレルギー試験、3) 経口投与による臨床試験の3段階にて行った。その1例を示せば、ケルダール法による全蛋白質量を測定したところ、アルカリ処理によって米の蛋白質の34%が除去された。また、AFT-R1は原料米に含まれる塩可溶性蛋白質の95%以上が除去されており、また、アルカリ処理によって塩可溶性蛋白質のみならず米に含まれる塩不溶性蛋白質も16%が低減化されていた。一方、患者血清を用いたIgE結合性試験の結果、AFT-R1のIgE抗体の結合活性は、原料米に比較して5000分の1以下に低減化し、ヒスタミン遊離試験では、コシヒカリでヒスタミン遊離が認められた患者においてAFT-R1抽出物では全例が陰性であった<sup>7)</sup>。試験管内アレルギー検査においてコシヒカリと比較してAFT-R1のアレルギー活性に顕著な低下が認められたことから、次に米アレルギーの関与が臨床的に確認されたアトピー性皮膚炎患者15例を対象にAFT-R1の臨床試験を横浜市立大学医学部附属浦舟病院皮膚科池澤善郎部長のもとで実施した。その結果、14名(93%)に有用性が確認された。なお、症状の誘発が認められた1例についてはAFT-R1に残存する60kDa分子との反応を検出し、この分子は米の澱粉合成酵素であるADP(UDP)グルコーススター・グルコシルトランスフェラーゼ(EC2.4.1.21)と同定された<sup>8)</sup>。

### 5. 低アレルゲン稻の育種

#### (1) アルカリ処理好適系統の選抜

アルカリ処理技術がアレルゲン分子の低減化に有効であることを示したが、より穏和な処理条件でより有効性の高いアレルゲン低減化米を得るために、蛋白質を除去しやすい系統を選抜、育成することが必要であると考えた。そこで全農の育成系統ならびに放射線育

種場の突然変異系統、一般品種を用いて、同一年度に栽培された約2,000品種、系統の中から、アルカリ処理により蛋白質を低減化し易い品種のスクリーニングを実施した。近赤外分光分析法により110品種、系統を選抜し、さらにケルダール分析法による二次選抜を行なった結果、本処理による蛋白質の低減率(減少した蛋白質量／未処理米の蛋白質量)は供試したほとんどの品種、系統で30%程度であるのに対し、50%以上低減した3系統(AFT-14, AFT-15, AFT-16)を見い出すことができた<sup>9)</sup>。

#### (2) AFT-14, AFT-15, AFT-16の育成経過

アルカリ処理によって塩可溶性蛋白質が著しく低減した3系統の母本は、放射線育種場にて、ニホンマサリを原品種としてエチレンイミンによる突然変異処理を行い、グルテリンが減少した系統として選抜されたNM67であった<sup>10)</sup>。しかし、この系統は矮性、不稔および葉先が枯れる形質を持っていたため、放射線育種場では1988年にNM67を母、ニホンマサリを父として戻し交雑を行い、得られた交配種子について翌年以降系統選抜試験を進めた。

AFT研究所では育成途中のF<sub>5</sub>世代から、1993年より独自で系統選抜を継続し、形質の固定化を図った。1995年には比較的形質が良好な3系統について、それぞれAFT-14, 15, 16の系統名を付け、1996年からは生産力検定ならびに特性検定試験を実施し、昨年AFT-14をアルカリ処理好適米として最終選抜した。

#### (3) AFT-14の栽培特性

AFT-14は一般の栽培品種に比べて明らかな極短稈系統であるため、栽培圃場で混種があるような場合に誰でも容易に判別し、除去することが可能であり、アレルゲンフリー米という特別用途種子の純度維持には好都合と考えられる。本系統は原品種ニホンマサリに比べて稈長は約10cm低く、穂長はやや短く、1穂粒数も少ないが、穂数は多い極短稈穂数型稻である(図2)。神奈川県平塚市にお



図2 AFT-14 の草姿  
左:AFT14 右:ニホンマサリ

ける出穂期および成熟期はニホンマサリよりも1~2日遅く、日本晴より2~3日早い中生の早である。また、玄米収量はニホンマサリや日本晴と同等であり、登熟も良好である。炊飯米の食味は日本晴並かやや劣るという結果が得られている。

#### (4) AFT-14の蛋白質成分の特性

米に含まれる貯蔵蛋白質は溶解性の違いによってアルブミン、グロブリン、グルテリン、プロラミンの4つに分類できる。米に含まれるアレルゲン分子は主にアルブミンとグロブリン画分に存在し、プロラミンは人体内では消化吸収され難い難消化性蛋白質であり、米アレルゲンとしての報告もない。一方、主要蛋白質であるグルテリンは、アレルゲンとなりうることが柴崎らによって報告されており、なるべく低減化されていることが好ましい。

AFT-14は通常、全蛋白質の60~70%を占めるグルテリンが約45%と少なく、逆にプロラミンの割合が多い。アルカリ処理を行うことで塩可溶性画分はほとんど全てが除去されるが、不溶性蛋白質画分(グルテリンやプロラン画分)はその一部が低減化されるにすぎず、より多くの米アレルギー患者に有効なアレルゲンフリー米を調製するという観点か

ら品種本来のグルテリン含有量が少ないAFT-14の利用はきわめて有効と考えられる。

## 6. 製品化に向けた今後の取り組み

米粒からアレルゲン分子を低減化する加工処理を施すことで、その炊飯米の食感は、柔らかく、粘りや味の低下、さらに米粒の色調の変化等が認められる。そのため、加工処理条件の緩和、あるいは加水量等を含めた炊飯条件の確立は、食味の向上に向けて今後解決すべき課題である。しかし、今回作出されたAFT-14は、コシヒカリを原料とした場合に比べ、より穏やかな加工処理条件で十分なアレルゲン低減化をなし得る品種であり、そう遠くない時期に課題は解決できるものと確信している。

米の消費量が年々低下する一方、冷凍米飯、無菌包装米飯、レトルト米飯などの加工米飯が消費者に好まれ、その生産量が伸びている。アレルゲンフリー米もこのような形態が消費者（患者）に望まれていると考え、当研究所では常温でも長期保存可能で、容易に個別で食することができる無菌包装米飯を中心に製品化検討を進め、現在試作製造を行っている。また、これらの試作品（名称「AFTライス」：（図3））を用いた臨床評価試験も同時に進行中である。

## 参考文献

- 1) Shibasaki M. et al (1979) Allergenicity and lymphocyte stimulasting property of rice protein. *J.Allergy Clin. Immunol.* 260: 259-265
- 2) Matsuda T. et al (1988) Purification and



図3 臨床評価に供試されている「AFTライス」

properties of an allergenic protein in rice grain. *Agric.Biochem.* 52, 1465-1470

- 3) Urisu A. et al (1991) 16-kilodalton rice protein is one of the major allergens in rice grain extract and responsible for cross-allergenicity between cereal grains in the poaceae family. *Int.Arch.Allergy Appl.Immunol.* 96, 244-252
- 4) Nishio T. et al. (1993) Mutants having a low content of 16-kDa allergenic protein in the rice (*Oryza,sativa,L.*) *Theor.Appl.Genet.* 86, 317-321
- 5) 嶋田禎祐他(1995) 米アレルゲンとその低減化研究 「低アレルギー食品の開発と展望」 , シーエムシー出版(東京), 145-151
- 6) 日本国特許庁 公開特許公報 特開平7-115920(1995)
- 7) 池澤善郎他(1998) ヒスタミン遊離試験を用いたアレルゲン低減化米の評価, アレルギー 47, 512
- 8) 池澤善郎他(1999) アレルゲン低減化米(AFT-R1)の有用性と塩不溶性米アレルゲン分子の解析, アレルギー 48, 40-49
- 9) 粉川聰(1998) 低アレルゲン米の育成, 第37回ガンマーフィールド・シンポジウム講演要旨 4-6
- 10) 飯田修一(1991) 低蛋白米育種におけるグルテリン, プロラミン構成比が異なる突然変異体の利用 育種学雑誌 41別冊 1, 204

## 国内情報

# 絹から皮膚保護材の開発

農林水産省 蚕糸・昆虫農業技術研究所  
坪内 紘三

衣料素材として使われる時の絹の快適性は、繊維でなくても利用できると考えられる。着用時の快適性は絹と皮膚との適合性のためと考え、絹によるヒト皮膚細胞の培養および創傷被覆材としての研究開発を進めている。動物実験では利用可能であるとの結果を得ている。

## 1. はじめに

絹糸は、天然繊維の中で唯一の長繊維である。これまでその光沢や風合いの特長と着用時の快適感から衣料素材として利用されることがほとんどであった。ところが近年、絹糸は昆虫の生産するバイオ素材として注目されるようになってきた<sup>1)</sup>。バイオ素材としては、コラーゲンがすでに広範囲に利用されている。コラーゲンは生体の中に存在し、微細な高次構造を形成して生体の形態を維持する性質がある。一方、絹は手術用の糸として古くから使われ、生体に適合しやすいと言われているが、コラーゲンと全く異なったアミノ酸組成を示す高純度の結晶性蛋白質であることから、コラーゲンの利用とは異なった考え方で絹を利用することが期待されている。これまで絹の構造や物性に関する基礎研究を基に絹糸から粉末、膜、塊状物、多孔質体等様々な形態の素材作出が試みられている。しかし、これらの素材が生体適合性であるから常に生体に適合するものではない。絹糸のように結晶性蛋白質繊維のバイオ素材化には、加工して得られた素材の構造および物性を利用目標に適した状態に変え、さらに制御する等の研究開発が必要とされている。

## 2. 絹の特徴または機能と利用目標

まず、絹の利用目標をある程度明確にして  
T SUBOUCHI KOZO

おくための考え方方が必要である。図1に繭が蚕の蛹を保護している状態を示した。野性の蚕の中にはこの状態で越冬するものもいる。越冬期間中には太陽光線、風雨、煙や菌等から繭層内の蛹を保護しなければならないため、繭はこのように多くの機能を有して蛹を保護しているはずである。これらの機能はまだ充分に明らかになっていないが、蛹にとって極めて快適な環境である。コラーゲンは生体の内にあって生体を維持しているのに対し、絹は生体の外にあって生体を防御する性質を持っていると考えられ、コラーゲンとのこの特徴の違いが利用できる。これについては、図1の中で最も重要な機能は絹と皮膚との適合と考えられる。したがって、絹糸を粉末やフィルムの形に変え、皮膚ケア素材として利用できると考えている。

絹の皮膚適合性に関しては *in vitro* と *in vivo* の検討が必要である。*in vitro* としてはヒト表皮細胞を絹の上で培養した。*in vivo* としてはマウスを用い、皮膚欠損部への治癒効果を検討した。

## 3. *In vitro* 一絹と皮膚細胞

### (1) フィルム化

絹糸のフィルム化は次のように行う。繭糸を精練（弱アルカリ水溶液で煮沸）してセルシンを除き、絹糸（フィブロイン繊維）とし、この絹糸を中性塩（例えば、CaCl<sub>2</sub>）水溶液に溶解し、透析、脱塩してフィブロイン水溶液を作る。次に、フィブロイン水溶液をプラス

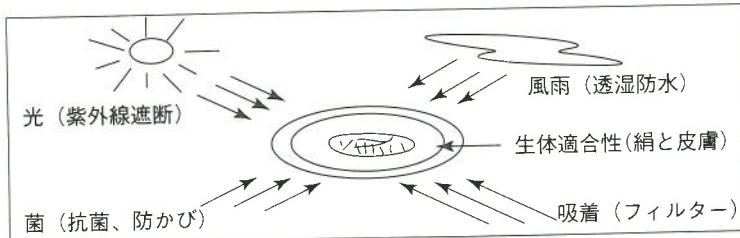


図1 蘭内の蛹に対する蘭層の生体防御機能

チック等の平板上に流し、室温で乾燥して絹フィルムを作る。このフィルムは一般にアモルファスであり、水溶性を示す。しかし、乾燥時間が長くなると<sup>2)</sup>  $\alpha$ 型に結晶化する<sup>3)</sup>。

フィブロインの分子形態としては非結晶と結晶およびその中間形態がある。また、結晶形態には $\alpha$ 型と $\beta$ 型があり<sup>3)</sup>、 $\alpha$ 型（分子はラセン状）は吐糸状態のカイコ体内の絹（液状絹）を室温で自然乾燥すれば得られる。 $\beta$ 型は液状絹を急激に引張る、アルコールに浸漬する、50℃程度以上の温度で乾燥する等で得られる。絹の分子形態が重要な理由には非結晶性であるほど絹は水溶性を示すことにある。従って、得られた素材は、例えそれが粉末であっても加工工程が異なれば、その構造や物性が異なるため素材の利用対象も異なってくる。

## (2) 皮膚細胞と絹

皮膚細胞は他の生体組織またこれに代わる物質に付着して増殖し、シート状になる性質があるため、絹フィルムと皮膚細胞との適合性評価は形態観察で可能と考えられる。そこ

で、絹の皮膚適合性について、ヒトの表皮細胞を用いて検討した。

前記のフィブロイン水溶液を用いて、ポリスチレン製の細胞培養容器内に絹フィルムをキャストした。キャストフィルムはアモルファスであるため、吸湿処理して $\alpha$ 型フィルムに、またアルコール処理で $\beta$ 型フィルムにそれぞれ絹を結晶化させ、培養床とした。

細胞培養床としては無処理のポリスチレンのほか、絹フィブロインの $\alpha$ 型と $\beta$ 型フィルムの3種について、それぞれの培養容器に培養液とヒト表皮細胞を入れ培養した。細胞の形態や付着状態の違いを中心に観察した。培養開始から5時間後にはポリスチレンと絹フィルムとの間に細胞の付着や形態に差が現れ、20時間後には図2に示すようにその差はさらに明確となり、絹フィルムに対しては表皮細胞の付着性、伸展性がよく現れた。一方、フィルムの $\alpha$ 型と $\beta$ 型フィルムでは付着細胞の形態に若干差が見られ、 $\beta$ 型フィルムでは細胞間に間隙が見られたが、 $\alpha$ 型フィルムではそれが少なく、表皮細胞培養によく適合していると考えられる。このことは、絹フィルムが表皮細胞培養床としても利用可能であることを示している。

## 5. *In vivo* 一創傷被覆材として

創傷被覆材としては皮膚に刺激性が低く、

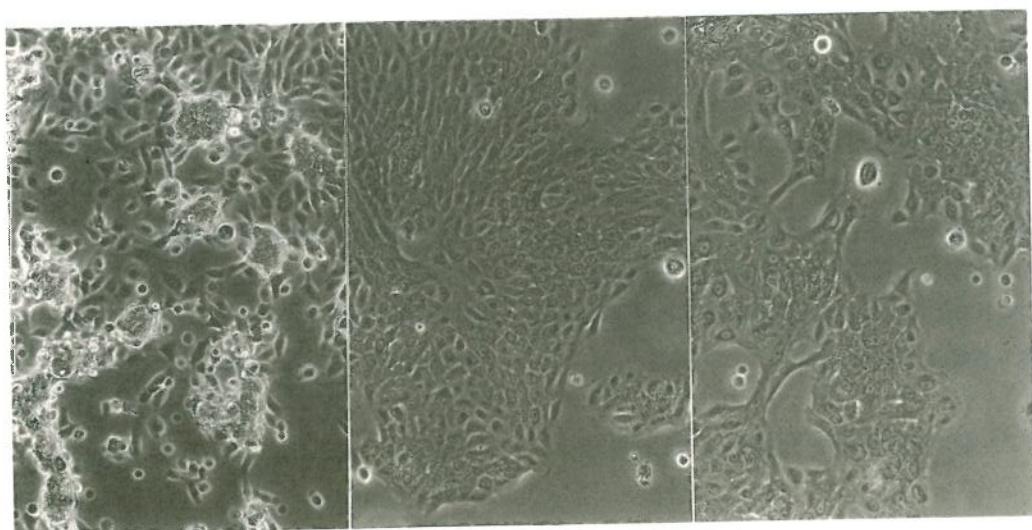


図2 細胞培養容器内における20時間後のヒト表皮細胞の成長形態

柔軟性があり、感染を防止できる等が重要である。これまで創傷被覆材としてさまざまな素材が用いられてきたが、その機能は必ずしも充分とは言えず、より優れた創傷被覆材が望まれていた。従来の創傷被覆材の開発は絹フィルムを水に不溶化（結晶化）処理をしている<sup>4)</sup>が、創傷被覆材の機能から考えてアモルファス絹フィルムの方が結晶化した絹フィルムより効果的と考えた。

そこで、マウスの皮膚を約1cm<sup>2</sup>の大きさで真皮を含めた皮膚を剥離し、抗生素質水溶液を滴下した後に、この創傷面を前記のアモルファス絹フィブロインフィルムで被覆した。フィルムは創傷面の滲出液を吸収し柔軟になり、マウスの体の動きに応じて変形でき、さらに創傷面によく密着した。7日後に創傷部を組織学的に調べたところ、図3のようにフィブロインフィルムは創傷面に密着した状態で固化し、自然治癒における痂皮に類似したものを作成していた。創傷の周辺部からの皮膚の再生は対照（バンドエイド）に比べて良好で、創傷治癒の促進効果がみられた。フィブロインフィルムを創傷面に当てた当初はアモルファスのため、創傷面側の滲出液をよく吸収して一部は溶解状態となるが、一方の側では水分を蒸発させ、これによって次第にフィブロインは $\alpha$ 型に結晶化して、密着性のよい、水に不溶性のフィルム状塊（痂皮化）になったと考えられる。このように絹がアモルファスであるため、創傷面に常に密着して、創傷被覆材として必要な柔軟性の獲得や感染防止に役立っている。

## 6. 結び

絹フィルムが創傷被覆材や表皮細胞培養床として利用可能であることが分かって来た。また、図1の絹と皮膚との適合性のよさを示す結果ともなった。これは、絹がバイオ素材として利用可能であることを示すとともに、医療分野との共同研究の結果でもある。絹糸から各種の分子形態を有する各種の粉末やフィ

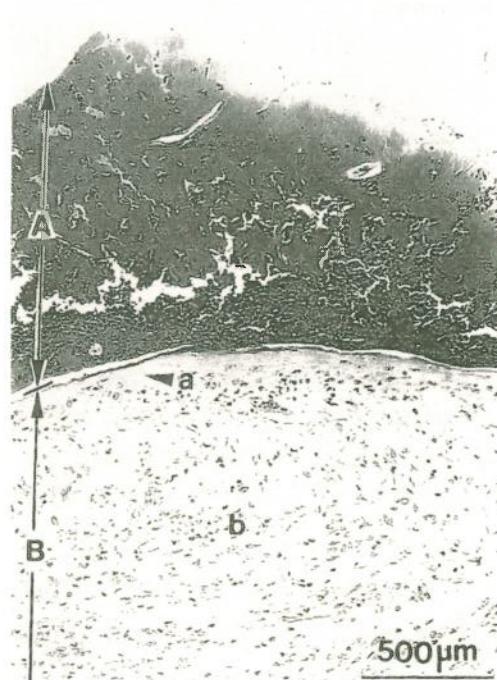


図3 7日後のマウス創傷面の治癒状態

A: フィブロインを含んだ痂皮  
a: 表皮, b: 真皮  
B: 再生しつつある皮膚

ルム等の素材が得られるが、これらの素材の性質が利用目標に適していること、つまり構造や物性が制御されていることが重要である。粉末やフィルムにできればどの場合にも対応できるものではない。

いずれにしても、従来のように絹織物の外観の優れた性質の利用でなく、皮膚との適合性、親和性を利用し、異業種分野との共同研究により、地球環境にやさしい素材、製品の開発が期待され、これを進めている。

本研究は科学技術庁の科学技術振興調整費によるCOE制度の支援を受けて行われている。

## 文献

- 1) 平林潔 (1996) 絹の再発見、(株)高輪出版社
- 2) 片岡紘三、植松市太郎 (1976) 高分子論文集, Vol.33, No. 8, P453-462
- 3) 清水正徳 (1941) 蚕糸試験場報告, 10卷, 7号 P475-494
- 4) 傷口保護材およびその製造方法、特開平1-254164

## 国内情報

## DNA・遺伝子を染色体・ゲノム上で可視化するFISH法

\* 農林水産 省北陸農業試験場 \*\* 大阪大学大学院工学研究科  
近江戸 伸子\*, 福井 希一\*\*

遺伝子・DNAの染色体・ゲノム上の位置を可視化するFISH(蛍光 *in situ*ハイブリダイゼーション)の技術は、広範囲な作物に応用する事が可能であり、かつ遺伝子地図作成において有効な情報を得る手法として威力を発揮する。現在までにイネの単一遺伝子を可視化するFISH法を開発し、いもち病抵抗性遺伝子、白葉枯病抵抗性遺伝子をイネ染色体地図へ位置づけた。またより解像度の高い伸長DNA鎖上でのFISH法の開発により、遺伝子のDNAレベルでの長さが測定可能となり、今後の染色体・ゲノム研究の大きな推進が期待される。

### 1. はじめに

形質の遺伝を理解するためには、ゲノムや遺伝子の存在様式や挙動さらには化学的な修飾を正確にかつなるべく容易に捉えることが重要となる。蛍光 *in situ*ハイブリダイゼーション(FISH)法は、染色体ならびにゲノム上に蛍光色素を用いてDNAならびにRNAを可視化する効果的な方法として発展してきた。その結果、植物染色体の分子細胞生物学的研究は、めざましい発展を遂げた。現在では、数百bpのサイズのDNAの検出も可能となり、多くの有用遺伝子がFISH法により染色体上に位置づけられている。本稿ではイネにおける分子細胞生物学的研究の最近の進展と今後の方向性について述べたい。

### 2. イネにおけるFISH法の確立

モデル植物としてゲノム研究に広く利用されているシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)と同様に、イネ(*Oryza sativa*)はゲノムサイズが、ハプロイドあたり、 $4 \times 10^8$  bpとイネ科作物の中でもっとも小さいという特長を有する。またイネ科の主要な植物では高次に保存されたシンテニーがあることからも、有効な材料として注目されている。一方、細胞学的研究は体細胞分裂中期染色体が、 $1\text{--}2 \mu\text{m}$ と非常に

\*OHMIDO Nobuko, \*\*FUKUI Kiichi

小さいため、立ち遅れていた。1991年に、福井と飯島によって、イネの染色体の完全な識別同定が行なわれ、画像解析法による定量的染色体地図が完成した<sup>1)</sup>。こうした基礎研究の土台の上に遺伝子を位置づけるための方法として、*in situ*ハイブリダイゼーション法の開発が行なわれた。

イネにおいては、1990年に初めて、<sup>125</sup>Iで標識したリボソームRNAを用いて、リボソームRNA遺伝子(45SrDNA)が仁染色体上に検出された<sup>2)</sup>。その後は簡便で、安全なビオチンやディゴキシゲニンなどで標識された核酸を用いて、呈色反応で目的とする遺伝子を検出する方法が確立され、安定した遺伝子の可視化が可能となった<sup>3)</sup>。1994年にはイネにおける蛍光色素を用いたFISH法の適応が確立され、栽培種および野生種の45S rRNA遺伝子座について解析が行なわれた。その結果、ジャポニカ種では1対、インディカ種では2対、野生稻である*O.officinalis*では3対の45SrDNA遺伝子座の数の多型が検出され、リボソーム遺伝子座に種間、亜種間での遺伝子座数の変異があることが明らかになった<sup>4)</sup>。

### 3. イネにおける反復配列のマッピング

イネゲノム中には縦列型反復配列と散在性反復配列が約50%の存在していると言われている。散在性の反復配列の1つとして単離されたRIREIはLong Terminal Repeat(LTR)を

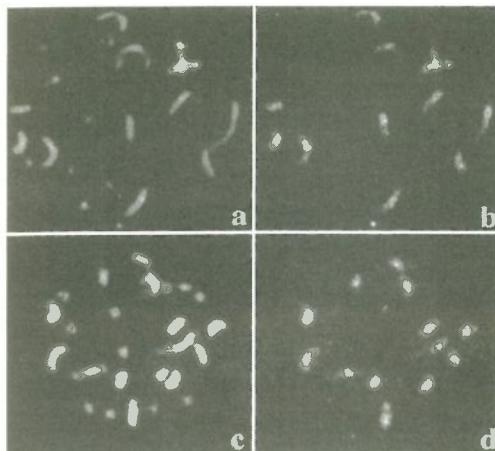


図1 *O. sativa*×*O. australiensis*のF<sub>1</sub>およびB<sub>1</sub>F<sub>1</sub>におけるトランスポゾン様配列(RIREI)の検出。a:F<sub>1</sub>のDAPI染色による体細胞分裂中期染色体像。b:F<sub>1</sub>におけるRIREIによる蛍光シグナル像。c:B<sub>1</sub>F<sub>1</sub>のDAPI染色による体細胞分裂中期染色体像。d:B<sub>1</sub>F<sub>1</sub>におけるRIREIによる蛍光シグナル像。b,dとも*O. australiensis*染色体にRIREIの強いシグナルが検出される。

持つレトロトランスポゾン様の反復配列であり *O. australiensis*に1.2x10<sup>3</sup>コピー、*O. sativa*に180コピー存在する。このRIREIをプローブに用いて *O. australiensis*および *O. sativa*の分裂前中期染色体にFISHを行なったところ、*O. australiensis*のほとんどすべての染色体領域にRIREIのシグナルが検出された<sup>5</sup>。一方 *O. sativa*についてはシグナルは検出されなかった。そこで、*O. australiensis*×*O. sativa*のF<sub>1</sub>雑種において、RIREIを用いたFISH法を試みたところ、*O. australiensis*および *O. sativa*由来の染色体を明瞭に区別することができた(図1)。*O. australiensis*は、トビイロウンカ抵抗性遺伝子を有し、遠縁交雑による抵抗性品種育成の親系統として用いられ、*O. australiensis*がもつ抵抗性に関する染色体断片を交配によって *O. sativa*に組み込んだ系統の育成が行なわれている。その過程で、RIREIを染色体のマーカーに用いることで戻し交雑育種の各世代で両親の染色体がどのように変わっていくかをモニタリングする事が可能となる。*O. australiensis*より抵抗性遺伝子を断片として組み込んだ育成系統について、反復配列を用いてスクリーニングを行なうことによって遺伝子の単離も可能となろう。

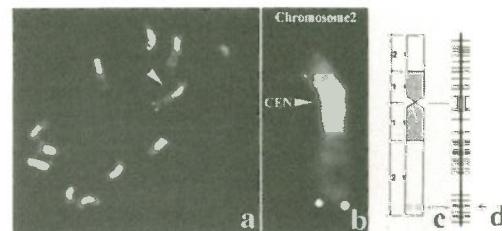


図2 イネ染色体上へのいもち病抵抗性遺伝子(*Pi-b*)を含むBACクローンのマッピング。a:「日本晴」半数体のFISH像。矢印は第2染色体を示す。b:第2染色体の拡大図。CENは動原体部。c:イネ定量的染色体地図上へのマッピング。d:遺伝地図上での動原体部とBACクローンの位置(矢印)。

#### 4. 単一遺伝子のマッピング

現在までに農業上有用な遺伝子を含むDNAクローンや密接に連鎖しているDNAマーカーが単離されている。それらのクローンやマーカーの染色体上の位置についてFISHの利用により直接的に検出することが可能となった。

イネシントメタマバエ抵抗性遺伝子(*Gm2*)を含む酵母人工染色体(YACクローン、320kb)を用いてFISH法を行なった結果、このクローンは第4染色体の長腕の介在部(4q2.1)に、シグナルが検出された<sup>6</sup>。またいもち病抵抗性遺伝子(*Pi-b*)を含むBACクローン(180kb)は第2染色体の長腕の末端部(2q2.1)に位置づけられた(図2および表紙)<sup>7</sup>。さらに白葉枯病抵抗性遺伝子(*Xa-21*)を含むコスマドクローン(35kb)を用いてFISHを行なったところ、そのコスマドクローンは第11染色体の長腕の介在部(11q2.1)に検出された。近年では、FISH法による染色体上の遺伝子の検出感度はきわめて向上し、1kbほどのサイズのRFLPマーカーも検出が可能となった<sup>8</sup>。以上の結果から、目的の遺伝子やマーカーの位置についてイネ染色体上で正確な位置情報を得るための技術が確立した。

#### 5. 高解像FISH法による遺伝子の可視化

染色体上に座乗する2つのDNA配列を異なるシグナルとして区別する空間分解能は、1Mb、間期核においては100kbといわれる。



図3 イネにおける伸長DNAファイバー上のFISHによるテロメア配列の検出。a:DNAファイバー。バーは10 μmを示す。b:日本晴におけるテロメア配列の可視化。c:IR8におけるテロメア配列の可視化。

したがって目的とする2つの配列の間の距離がそれ以下の場合やオーバーラップして存在する場合は、さらに染色体の高次構造を解きほぐして、空間分解能を高めることが必要となる。数kbの近接する複数のDNA配列のマッピングを行なうために、植物の細胞核から単離したDNAファイバー上のFISH(EDFs-FISH)法が開発された<sup>9</sup>。

調製された伸長DNAファイバー上で5SrRNA遺伝子をプローブに用いたFISH(EDFs-FISH)を試みたところ、ジャポニカ型の日本晴およびインディカ型のIR8について、ビーズ状の蛍光の列が観察された<sup>10</sup>。またテロメア配列(TTTAGGG)<sub>n</sub>をプローブに用いたEDFs-FISHによってインディカ型とジャポニカ型のテロメアの長さを測定した(図3)。両者の比較において、5SrDNAとテロメアの両方で、ジャポニカ型に比べてインディカ型でのコピー数の増加の傾向がみられた。これらの事実はイネにおける種の分化において形質発現する遺伝子のみならず、構造の維持に関連しているDNAについてもコピー数の変異が認められ、インディカ型とジャポニカ型は独立した遺伝的バックグラウンドあるいはゲノム構成を長期間にわたって蓄積してきたと考えられる。

以上のように、空間分解能の高い伸長DNA鎖上でのFISH法は、DNA配列の定量的解析を可能にする。またクロモソームウォーキングやコンティグマップ作成においてオーダリングに利用され、物理地図作成のための有効な手法として威力を発揮すると考えられる。

## 6. おわりに

本稿では、FISH法を用いたゲノム・染色体上での遺伝子の可視化法による検出について述べてきた。これら的方法はこの数年間に著しく発展し、どのような植物種にも利用可能で、短時間で確実な結果が得られるという段階まで到達した。現在、研究目的に応じて、これらの方法は広く用いられ、国際イネ研究所などでは実際の育種の現場でも利用されている。今後はさらに、遺伝子の位置のみならず、その遺伝子機能との関連を可視化できるよう一層の研究開発を進めていきたい。

## 文献

- 1) K. Fukui, K. Iijima (1991) *Theor. Appl. Genet.* 81, 589-596.
- 2) K. Fukui (1990) *Rice Biotech. Quart.* 1, 18-19.
- 3) K. Iijima et al. (1991) *Theor. Appl. Genet.* 81, 597-605.
- 4) K. Fukui et al. (1994) *Theor. Appl. Genet.* 87, 893-899.
- 5) S. Uozu et al. (1997) *Plant Mol. Biol.* 35, 791-799.
- 6) K. R. Rajyashri et al. (1998) *Theor. Appl. Genet.* 97, 507-514.
- 7) S. Nakamura et al. (1997) *Mol. Gen. Genet.* 254, 611-620.
- 8) N. Ohmido et al. (1998) *Plant Mol. Biol.* 38, 1043-1052.
- 9) P.F. Fransz et al. (1996) *Plant J.* 9, 421-430.
- 10) N. Ohmido et al. *American Biotech. Lab.* (in press).

## 地域の先端研究

## 気泡を多量に含んだ豆腐の製造法開発

新潟県農業総合研究所食品研究センター

金井 政人

豆乳に熱凝固性多糖「カードラン」と凝固剤及び加工でん粉を加え、これを攪拌して気泡を含有させ、加熱凝固することにより、多量の気泡を含んだ従来の豆腐とは食感の異なる豆腐の製造法を確立した。カードラン濃度により豆腐の食感を自由に調節することができ、軟らかめのババロア風のものから、硬めの卵焼き風のものまで製造可能である。この豆腐は通常の生食用途だけでなく、加工適性が高く、冷凍やレトルト処理に強いので、惣菜分野への利用が期待される。

## 1. はじめに

豆腐は、高タンパク食材として、昔から日本型食生活を支える主要な食品であったが、近年、冷凍食品や調理食品の需要が拡大する中で、年間一人あたりの消費量は、ほぼ横這い状態である<sup>1)</sup>。

一方、豆腐は保存性が低く、食感は平滑で新たな製品化が図りにいという側面も持っている。このため、惣菜食品等への利用が大幅に遅れていた。

それゆえ今後、豆腐の消費量を増大させるためには、惣菜分野等への新規用途拡大を図ることが重要と考えられる。そこで、新たな物性を持った豆腐食品、あるいは惣菜や菓子等に利用できる素材として、豆腐の用途開発の可能性について検討した。

## 2. 気泡を豆腐に含ませる

マシュマロやスponジケーキ等の特有のソフトな食感は、気泡の存在により得られる。この原理を利用し、豆腐に気泡を含ませることができれば、新たな食感の食材として、様々な調理に利用できるようになるものと考えられる。

豆腐に気泡を含ませる試みは未だなされていない。そこで種々検討したところ、豆乳に増粘多糖であるキサンタンガムと、加熱凝固

性を有する乾燥卵白を加え攪拌することにより、混合物に気泡が取り込まれ、加熱すると豆乳は気泡が含まれたまま凝固した。しかし、卵白の風味が強すぎ、豆腐の風味は希薄であった。

## 3. 気泡を多量に含ませた豆腐（以下、気泡豆腐）の凝固法

卵白の欠点を改善するため、卵の代わりに熱凝固性を有する物質を文献等から検索し、逐一検討した。その結果、「カードラン」が最も有効であると知った。

カードランは、微生物(*Agrobacterium biovar 1*)が生産する多糖類であり、D-グルコース残基が400～500個、β-グルコシド結合した直鎖のβ-1, 3グルカンである。また、水に分散した液を80℃以上に加熱すると凝固する、いわゆる熱凝固性があり、60℃付近に加熱後40℃以下に冷却するとκ-カーラギーナンゲルに似た熱可逆性のゲルを形成する。またカードランゲルには耐熱性や耐冷凍性もある<sup>2)</sup>。

カードランを豆乳に混合し、豆乳分散液を攪拌したのち加熱すると、豆乳は気泡が含まれたまま凝固し、しかも豆腐の風味も十分に感じられた。さらに調製条件を検討し、基本的な気泡豆腐の調製方法を、図1のように確立した。

即ち、豆乳（固形分10%程度）にカードランとグルコノデルタラクトン（GDL）主体の

KANAI Masato

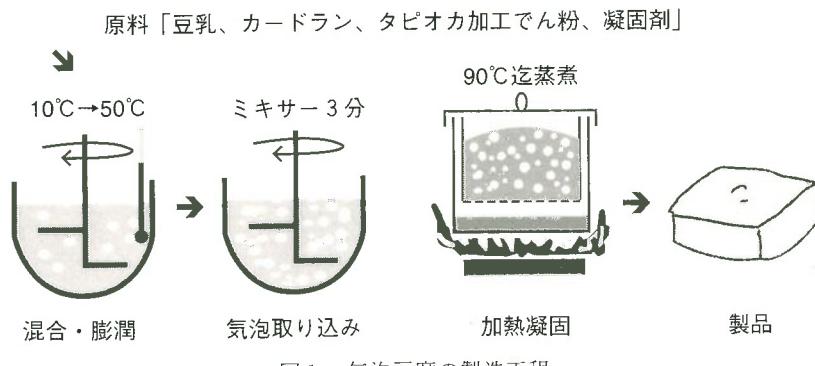


図1 気泡豆腐の製造工程

凝固剤を加え、加熱した豆乳を混合してカードランを膨潤させる。次に冷却した豆乳と加工でん粉を加え、激しく攪拌混合することにより気泡を取り込む。これを型枠に充填して蒸煮加熱して凝固させる。

#### (1) カードラン濃度の検討

カードランは、豆乳に対し1%添加では豆乳が凝固しなかった。1.5%では凝固するものの未だ軟らかすぎた。同4%では混合物の粘性が高くなり過ぎ、豆腐も硬く食味不良であった。これらの結果より、カードランの適正な濃度は2~3.5%と判断した。

#### (2) カードランの膨潤温度の検討

物性の良い豆腐を作るためには、カードラン分散液を一度加熱し膨潤させることがポイントであることが判明した。そこで物性良好な豆腐を作るために種々検討した結果、カードランの膨潤温度は、約50°Cが適度であった。

### 4. 気泡豆腐の離水防止法

カードランを利活用することで気泡豆腐の製造は可能になったものの、気泡の異常膨張並びに加熱後の離水等、新たな問題が生じた。この加熱後の離水防止と、気泡の異常膨張を抑え、ある程度豆腐の形状を保持させるためには、でん粉の利用が適していた。でん粉の種類を種々検討したところ、保水力や膨潤性が強い馬鈴薯でん粉やタピオカでん粉が適していたが、その中でも特に耐老化性に優れるエーテル化加工処理したタピオカでん粉が優れていた。最適添加量は3~4%であった。

### 5. 気泡混入条件

#### (1) 攪拌混合条件の検討

気泡を含ませるための攪拌混合時間を検討した。500mlの少量試験では、家庭用フードカッター(3200rpm)を使用した場合、攪拌1分間では十分量の気泡が含まれず、3分間以上の攪拌で十分に気泡が取り込まれた。実用場面では、大型カッターミキサーによる数分間の攪拌で、目的が達成されると思われる。

#### (2) 加熱条件の検討

最適加熱凝固温度について検討した。品温80°C未満の加熱では、豆腐の硬さが足りず、逆に沸騰点以上の長時間加熱では、気泡が膨張・飛散し、冷えた時に豆腐組織が不良となった。これらの結果より、最適加熱温度は90°C達温と判定した。

### 6. 最適調製方法

以上のように、気泡豆腐の最適調製条件が判明したので、約100kgの製造を想定して製法を例示する。

まず、豆乳(10°C以下)20kgに豆腐用凝固剤200g、カードラン2~3.5kgを混合する。ここに、別途加熱した豆乳50kgを加えて混合し、約50°Cになるよう調製してカードランを膨潤させる。次に冷却(10°C以下)した豆乳24kgとタピオカ加工でん粉3kgを加え室温まで冷却する。これをカッターミキサー等で3分間程度攪拌混合し、気泡を含ませた後、型

分間程度攪拌混合し、気泡を含ませた後、型枠に充填して、品温が90℃に達するまで加熱し、凝固させる。

## 7. 気泡豆腐の特性

### (1) 物性

気泡豆腐の物性は、カードラン濃度に左右される。カードランゲルの性質により<sup>2)</sup>、濃度が高まるに従い豆腐の硬さは増加する。他方、粘性が高くなるので、含まれる気泡量は逆に減少する(図2参照)。

例えば、カードラン配合量を2%程度にすると食感はババロア風になり、3%では卵焼き風の食感になる。

### (2) 利用特性

気泡豆腐は、従来の豆腐のような水切り作業が不用であり、すぐ調理できるという利点も持ち、カードランゲルの適度な弾力と、気泡による軟らかさがミックスされて食感や食味に特徴のある豆腐調理食品となる。

配合比率を変え、軟らかめに調製したものは、ごま豆腐やババロア風食感の豆腐に利用できると考えられる。他方、硬めに調製して保型性を良くしたものは、通常の冷や奴などの生食用途及び加熱調理用途に適している。

生食用途では、例えばサラダあるいはワサ

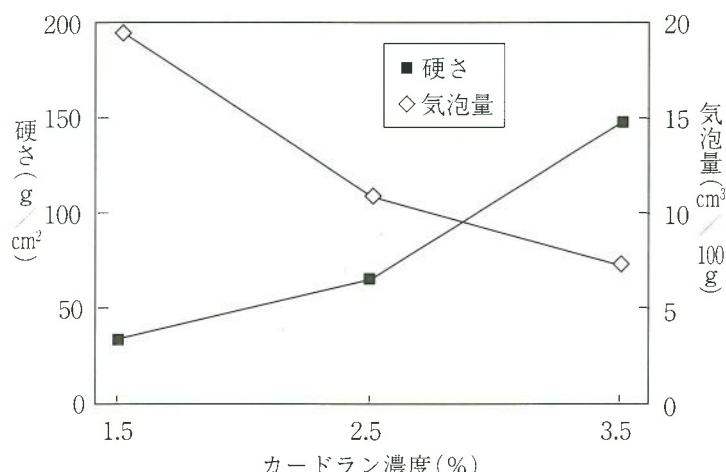


図2 カードラン濃度と硬さ、気泡量の関係

ビ醤油をつけた刺身豆腐(写真)に利用できる。加熱調理品としては、揚げ出し豆腐や田楽豆腐、ステーキ風焼き豆腐などに幅広く利用することができる。

一方、カードランゲルには、冷凍耐性やレトルト耐性がある<sup>2)</sup>。このため、製品の気泡豆腐にもこれらの特性が付与され、冷凍及び解凍後の物性変化もほんのわずかである。このため、電子レンジ解凍に対応した冷凍調理済み食品、並びにレトルトパウチ食品にも適応できる。

## 8. おわりに

当該製法による気泡豆腐は、冷凍やレトルト処理が可能であり保存性に優れ、加工調理適性も高かった。このため惣菜など多様な用途が期待された。但し、原料や工程については、種々の用途別に最適条件を更に検討する必要があると考えている。

## 文献

- 1) 渡辺篤二:やさしい豆腐の科学, (株)フードジャーナル社(1996)
- 2) 奈良潔:カードランの利用と食品への利用, 食品工業, 34(14), 31(1991)



写真 刺身豆腐

## 文献情報

## 菌根菌と根粒菌の共生機構における類似性

植物の根に共生するものに、アーバスキュラ菌根菌（AM菌）と根粒菌がある。AM菌は、接合菌亜門、グロムス目に属する菌類である。一種類の菌が複数の植物種と菌根を形成するなど宿主範囲が広く、約80%の植物種と菌根を形成する。一方、植物に根粒を形成する一群の土壤細菌 (*Rhizobium, Bradyrhizobium, Azorhizobium*など) を、根粒菌と呼ぶ。根粒菌の宿主はマメ科植物に限られており、植物との共生によって初めて窒素固定能を示す。また、根粒菌はnodファクターと呼ばれるシグナル物質を生成し、植物の根の表皮細胞の分裂促進や根粒原基の形成を促す。このように、AM菌と根粒菌の共生の形態は、大きく異なっている。

ところが、AM菌と根粒菌が両方共生できないマメ科植物の変異体が、ウマゴヤシ、アルファルファ、エンドウマメなどで見つかった。これらの変異体は、単一遺伝子座に変異が起きていたことから、AM菌と根粒菌の共生過程に、共通な機構が存在している可能性が考えられた。そのため、根粒形成時に発現する植物の遺伝子が、AM菌の感染時にどのような反応を示すのか疑問が生じた。

本論文では、根粒形成初期に発現する *PsENOD5* 遺伝子と *PsENOD12A* 遺伝子が、AM菌を接種した時にどのように反応するか、RT-PCR法を用いて解析した。エンドウマメ (*Pisum sativum* cv. Sparkle) に AM 菌 (*Gigaspora margarita*) を接種したところ、*PsENOD5* 遺伝子と *PsENOD12A* 遺伝子が菌根形成初期に誘導された。これらの遺伝子は、Nod ファクターを処理した時と同じような発現パターンを示し、また病原菌 *Fusarium oxysporum* の感染によっては誘導されなかった。よって、これらの遺伝子の発現は、共生における植物と菌の相互作用に特異的であると考えられた。

さらに、AM菌と根粒菌が両方共生できないエンドウマメの変異体 Sparkle-R25 を用いて、*PsENOD5* 遺伝子と *PsENOD12A* 遺伝子の発現の解析を試みた。Sparkle-R25は単一遺伝子座に変異が起きており、通常 Nod ファクターによって誘導される根毛のカーリングが起こらない。よって、Nod ファクターの認識に異常があると考えられている。また、AM菌は、付着器は形成するものの、その後植物体内に侵入できない。このSparkle-R25にAM菌を接種したところ、*PsENOD5* 遺伝子と *PsENOD12A* 遺伝子の発現は誘導されなかつた。また、Nod ファクターを処理したときも、同様に誘導されなかつた。これらのことから、AM菌の共生機構が、少なくとも一部分、根粒菌の共生機構と共通していると考えられた。

化石の観察から、AM菌は少なくとも4億年前には植物と共生しており、根粒菌が共生するかなり前から植物と共生していたと考えられている。また、Nod ファクターが、糸状菌の細胞壁に多く含まれるキチンに類似した構造を持っていることから、根粒菌がすでに確立されていた糸状菌と植物の共生機構を利用し、現在の形に進化した可能性が考えられる。実際、キチンペントマーを植物に処理したところ、根粒形成初期に発現する *ENOD40* 遺伝子の発現が誘導されたとの報告もある。しかし、似たような機構で認識されているのであれば、このシグナルはどのようにして異なる反応を引き起こすのであろうか。多分、ある部分のシグナル経路を共有するもののAM菌と根粒菌の認識メカニズムは異なっているのだろうと、筆者らは述べている。

また、*PsENOD5* 遺伝子と *PsENOD12A* 遺伝子は、塩基配列から細胞壁タンパクではないかと推測されているが、詳しい機能については不明である。これらの遺伝子の機能が明らかになれば、さらに共生機構の解明が進むと期待される。

(抄訳 大木健広－東北大農学研究科)

(OHKI Takehiro)

*Endomycorrhizae and rhizobial Nod factors both require SYM8 to induce the expression*

of the early nodulin genes PsENOD5 and PsENOD12A

Albrecht C., Geurts R., Lapeyrie F. and Bisseling T.

*Plant J.* 15(5): 605-614 (1998)

#### 文献情報

### ウシ体細胞の核移植による クローン個体の作出

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やウシで報告され、マウスでは、体細胞の核移植によるクローン個体の作出に成功している。ウシでは、トランシスジェニック・クローンウシの作出に成功しているが、これには胎子線維芽細胞由来の培養細胞を用いている。Katoらは、数代経代培養した卵丘細胞と卵管上皮細胞を用いてウシの体細胞クローンの作出に成功した。

ドナー細胞核は、1頭の黒毛和種から採取した卵丘細胞と卵管上皮細胞を用い、移植する前に3-4日血清飢餓状態にし、G0-G1期に停止させた上で使用した。除核した卵母細胞に核移植したところ、融合率は卵丘細胞で47%，卵管上皮細胞で63%であった。卵丘細胞で37個、卵管上皮細胞で88個を8-9日間培養したところ、それぞれ18個、20個が胚盤胞に発生した。このうち10個の胚盤胞を発情開始から7または8日の代理母ウシに非外科的に胚移植した。卵丘細胞を移植した胚では6個を3頭に、卵管上皮細胞を移植した胚では4個を2頭に移植した。6頭の代理母ウシのうち5頭が妊娠した。卵丘細胞移植胚を胚移植した代理母ウシで妊娠した3頭のうち2頭で、同じく卵管上皮細胞移植胚では2頭のうち1頭が複数の受胎をしていた。10個の胚盤胞を移植し、8頭の雌のクローンウシが生まれ、卵丘細胞由来は5頭、卵管上皮細胞由来は3頭であった。7頭は正常分娩であったが、卵管上皮細胞由来の1頭は帝王切開による分娩であった。妊娠期間は242-287日であり、新生子体重は17.3-32.0kgであった。黒毛

和種の雌胎子の平均妊娠期間は286.6±0.9日、平均新生子体重は27.0±0.8kgであり、妊娠期間は短い傾向がみられた。卵管上皮細胞由来の2頭は242日で生まれ、早産であった。8頭のうち4頭は0-3日で死亡したが、異常は見られなかった。マイクロサテライトDNAを検討した結果、ドナー細胞と一致しており、代理母ウシのものとは異なっていた。

成長した家畜の体細胞の核移植は、遺伝的に同一な多くの個体を得るのに最も効果的である。着床前胚や胎児線維芽細胞由来の培養細胞では、クローン個体の能力は予測するしかないが、成長した動物の体細胞の核移植では、乳や肉の生産に適した個体の細胞を用いることが出来る。特に卵丘細胞は、比較的簡単に個体を傷つけることなく取り出すことが出来る。今後は他の体細胞のクローンへの可能性や細胞の再プログラミングについてより詳細な研究が展開されていくであろう。

(抄訳 松本浩道-東北大農)

(MATSUMOTO Hiromichi)

Eight calves cloned from somatic cells of a single adult

Yoko Kato, Tetsuya Tani, Yusuke Sotomaru, Kazuo Kurokawa, Jun-ya Kato, Hiroshi Doguchi, Hiroshi Yasue, Yukio Tsunoda

*Science*, 282: 2095-2098, 11 December, 1998

Bid for better beef gives japan a leg up on cattle

Dennis Normile

*Science*, 282: 1975-1976, 11 December, 1998

#### 文献情報

### 酵母レトロトранスポゾン (Ty-elements) の戦略

レトロトランスポゾンは普遍的に真核生物の染色体に存在するゲノムの寄生遺伝子である。個々のホストを破壊しながら水平に伝播する感染性のレトロウイルスと違い、レトロトランスポゾンではそのホストに永久に住み付き、そして垂直的に子孫を繁栄させなくてはならない。

酵母, ショウジョウバエ, 哺乳類そして植物のゲノム構造の解析より, ゲノムサイズと情報のコーディング量, そしてトランスポゾンの豊富さには厳密な関係があることが明らかとなった。酵母のようなORF(オープンリーディングフレーム)が密に詰まっているゲノムではトランスポゾンの配列が比較的少なく, 一方, 哺乳類のようにゲノムの複雑度が増し細胞の蛋白質をコードする遺伝子の割合が減少するにつれ, レトロトランスポゾンの量が増えてくる。哺乳類ではそれが担うL1やAlu配列に代表されるトランスポゾンの量は全ゲノム重量の30%に相当すると見積もられ, 人間ではビッグマック・ハンバーガーと同じ重さのトランスポゾンを担っていることになる。

一方トランスポゾンは特に酵母のような無駄の少ないゲノムの新しい部位に入り込む場合には非常な注意を要するであろう。なぜならその失敗は即, その因子自身そしてその子孫の破滅を運命づけることになるからである。

現在, 酵母レトロトランスポゾン(Tyエレメント)がいかにして破滅的な挿入イベントを回避しているかの機構が明らかになりつつある。酵母Tyエレメントはホストゲノムの破壊を避けるため, 少なくとも3つ(Ty1, Ty3, Ty5エレメントに関して研究されている)の異なるタイプの戦略を取っているようである。Ty1とTy3はRNA polymerase III (pol III)により転写される遺伝子の直ぐ上流のゲノム部位をそれぞれ別の機構によりターゲットとしており, そしてTy5は酵母ゲノムの転写に関して"silent"な部位をターゲットにしている。これらどちらの戦略も酵母ゲノムの必須でない遺伝子の希薄な部位をねらいとすることに基づく。

Ty3はtRNA遺伝子やその他pol IIIによって転写される遺伝子を驚くべき正確さで標的にする。酵母ゲノムの中のほとんどすべてのTy3は, pol III転写開始点の数ベース以内に挿入されている。Ty1も同じくpol IIIにより転写される遺伝子をターゲットとするが, パターンは大いに異なり, その挿入部位は転写

開始点の約75~700bp上流に広がっている。酵母ゲノムの中で, pol III転写遺伝子の上流は典型的な遺伝子フリーの部位(たぶんpol II転写に対するpol III転写遺伝子の有害な効果による)である。

このように, 挿入の失敗は, 自分自身そしてその子孫の破滅を運命づけることになる酵母のトランスポゾンTyでは, 染色体の新たな部分へ挿入する場合, 宿主の健全さを害することのない「安全な居場所」を厳密に選んでいるのである。

(抄訳 家藤治幸一国税庁醸造研究所)  
(IEFUJI Haruyuki)

**Yeast Retrotransposons: Finding a Nice Quiet Neighborhood**  
Jef D. Boeke *et. al.*  
*Cell*, 93: 1087-1089 (1998)

### 文献情報

**鑑賞だけではありません;金魚の脳ミソで記憶のメカニズムを解明  
金魚逃避行動へ及ぼす聴覚刺激の影響と抑制性長期増強の関係**

脳は多数のニューロンが非常に複雑に繋がりあう神経回路網で, 高度な情報処理を担っている。ニューロンは樹状突起(dendrite)と細胞体(soma)より構成されるが, ニューロン表面にあるシナプスを通して送られてくる入力信号が統合され, その結果生じる活動電位(active potential)が軸索(axon)に沿って出力信号として軸索終末に向けて送られ次のニューロンへ信号が伝えられる。シナプスでの信号伝達はいつも一定の反応ではなく, 神経活動に依存してその効率が動的に変化することによって情報処理が柔軟に行われている。

1973年に, 高頻度の電気刺激(テタヌス刺激)によってシナプス間の伝達効率が高まり, 長期間伝達が維持される長期増強(long-term potentiation; LTP)が報告され, その後, LTPが学習や記憶の基礎となっているという仮説

の下、多くの研究が行われてきた。しかし、学習や記憶に LTP が関係しているという直接的な証明はなされていなかった。それは、ニューロン 1 個あたりのシナプス数が数千にも及び、そこで行われる情報処理が余りに複雑だったからである。ところが、昨年七月、大阪大学の松井先生らのグループは、金魚に聴覚刺激を予め与えておくと音からの逃避反射率が低下するという行動変化が観察されるが、その際、延髄のマウスナー細胞 (Mauthner cell; M 細胞) という神経細胞で LTP が引き起こされている事を示し、LTP が記憶を誘導している事を世界で初めて証明した。魚の中枢神経系が哺乳動物と比較して扱い易く、金魚の聴覚刺激から逃避行動に到る神経回路構成が明らかであった事に着目し、電気生理学の研究材料として金魚を選択した点が特筆される。

音に対する魚の逃避行動は 1963 年に Rogers らによって調べられ、聴覚細胞 (hair cell) が接続する神経細胞 VII の興奮が M 細胞經由で尾部の筋肉に送られる事が解っていた (※) が、その後、1970 年代に、M 細胞に興奮を制御する抑制性シナプスが接続している事が確認された。そして、今回、金魚に 500 Hz の音を 4 秒おきに 4 分間反復して聞かせておくと、それだけでは M 細胞の発火を引き起こせない弱い (閾値以下の) 電気刺激によって、M 細胞に抑制性の活動電位増幅 (LTP) が引き起こされ、この活動電位が音を聞かせた 40 分後まで徐々に増強され、5 時間後まで維持された。即ち、音を反復する事によって、金魚が音を長期間記憶した事を意味する。LTP を誘導できる周波数は 300 ~ 800 Hz であったが、それ以外の音域 80 ~ 100 Hz 或いは 1 ~ 8 kHz では LTP は観察されなかった。

実際、この周波数の音が行動変化を誘導できるかどうか、逃避反射率を以下の様に調べた。金魚の左頭部から少し離れた水域に、重さ 18 g のプラスチック製ボールを 15 cm の高さより自由落下させ、ボール着水後の金魚の逃避反射をビデオカメラを用いて追跡した。その結果、音を聞かせないコントロール群の金魚の逃避率が 76 ± 7 % であったのに対し、

周波数 500 Hz の音を 40 分前に聞かせた魚の逃避率は 39 ± 8 % と有意に低下した。一方、80 Hz、或いは 2 kHz の音域では逃避反射の低下を観察できなかった。即ち、M 細胞での LTP 誘導と同じ周波数の音によって、逃避反射を回避できた訳であり、先述の神経回路構成 (※) を考慮すると、M 細胞での LTP が行動を直接制御したという結論が得られることになる。長い間決着がつかなかった LTP と記憶、学習の関係を、サルやラットではなく、何と金魚の脳ミソで巧みに証明した研究だった。観賞すべき部分は姿・カタチじゃなく、頭の中身でした . . . . .

(抄訳 玉井 忠和 - マルハ (株) 中研)  
(TAMAI Tadakazu)

#### Inhibitory long - term potentiation underlies auditory conditioning of goldfish escape behaviour

Yoichi Oda, Keisuke Kawasaki, Masahiro Morita, Henri Korn and Haruko Matsui  
*Nature*, 394: 182 - 185( 1998)

#### 文献情報

### 花粉管の伸長に必須な脂質

顕花植物の受精は花粉が柱頭につくこと、受粉によって始まる。花粉は柱頭上で発芽後柱頭内に侵入、ひたすら胚珠を目指し花柱内を貫通していく。花粉管の花柱内の案内役としては、Ca の濃度勾配、電位差等が知られている。では、花柱上では発芽した花粉柱頭内に導く道標は何なのか。

よく知られているように、柱頭にはユリやナス科植物のように表面が滲出液で潤っている "wet stigma" とブラシカのように液を滲出しない "dry stigma" がある。滲出液が花粉管の伸長に一定の役割を果たしていることは既に多くの報告で指摘してきたが、滲出液は糖、脂質、アミノ酸等からなる混合物で、有効成分の特定にはいたってない。タバコ属、ペチュニア属などナス科植物では脂質が約 80%

をも占め、脂質が何らかの役割を演じていると予想されてきた。ところが、構成脂肪酸は植物種により異なり例えは、タバコではC14:0のmyristic acid,C18:0のoleic acidが主成分であり(Crest, 1986), ペチチュニアでは二分の一がlinoleic acid(C18:2)で占められており、特定の脂質が有効であると考えづらいともしてきた。

著者らはRNA分解酵素であるbarnaseを柱頭特異的に発現させ、柱頭(?)に液を滲出しなくなったタバコを材料にして花粉発芽、花粉管伸長を観察した。組換え体の柱頭では花粉は発芽しないが、正常なタバコおよびペチュニアの滲出液、精製オリーブオイルを柱頭に塗布すると花粉は発芽受精する。また、花粉外膜に脂質を保持する *Brassica napus*, *B.oleracea*, *Arabidopsis* の花粉は組換え体の柱頭上で発芽し、花柱内を伸長することを見いたした。この一連の実験から脂質が関与していると考え、その有効成分を特定しようとする。遊離脂肪酸、saturated triacylglyceride, glycerolに結合する全ての脂肪酸がoleic acidであるtriolein、同じく linolenic acid(C18:3)からのみなるtrilinoleninでは効果がなく、全ての脂肪酸がlinoleic acidから構成されるtrilinoleinを塗布したときのみ正常な花粉の発芽、花粉管の伸長、受精が起こった。同じC18:2でもtrans体では花粉管の伸長が阻害される。この結果からtrilinoleinが植物の花粉管発芽伸長に必須な成分と結論づける。

また、脂質滲出型の柱頭では脂質を多く含む液の下に薄い水の膜が存在し、この二重構造が花粉の発芽伸長に関与していることは既に指摘されていたが(Konar, 1966)、浸出液あるいはtrilinolein中に分散された花粉が、油液中に封じこまれた水滴に向かって一方向に

花粉管を伸ばすことを観察し、水が花粉管を柱頭内に誘導する物質であると考えている。この部分は、同時期に *Plant Physiology* 誌上に発表された論文により詳細に述べてある。

この論文は、特定の化学物質が花粉管の発芽伸長方向を制御していることを明確に示したものであり、*Nature*の表紙を飾ったのもその点を評価されてのことであろう。その点は筆者も十分に評価するものであるが、気になる点について述べておくことにする。

それは、triacylglycerideの單分子種のみを想定して実験を進めている点である。glycerolの1, 2, 3位のOHに結合する脂肪酸はいくつもの組み合わせが考えられ、単一の脂肪酸からのみなるtriacylglycerideは果たしてどの程度存在するのだろうか。次に、この実験に用いているペチュニア、タバコ滲出液の脂肪酸組成の違いである。ペチュニアではlinoleic acidが全脂肪酸の47%を占めるが、タバコではわずか6%に過ぎない。trilinoleninの量が両種で大きく異なる可能性があるにも関わらず、両種の浸出液の作用が同じであるのはどう説明するのか。極微量あればいいのか。次の報告が待たれる。

(抄訳 岩井 純夫—鹿児島大農)

(Iwai Sumio)

Lipid are required for directional pollen-tube growth.

Mieke Wolters-Arts, W. Mary Lush & Celestina Marani

*Nature*, 392, 318-321(1998)

Directional guidance of *Nicotiana alata* pollen tubes in vitro and on the stigma

W. Mary Lush, Franz Grieser, & Mieke Wolters-Arts

*Plant Physiol.* 118, 733-741(1998)

海外便り

## 澱粉粒の酵素分解に見い出された 生成物の"固定化現象"

—米国アイオワ州立大学での2年間—

北海道大学 農学部  
木村 淳夫

### 1. はじめに

1993年9月より2年間、米国アイオワ州立大学(Iowa State University、ISUと略称されている)に海外出張する機会を得た。アメリカンインディの言葉で美しい土地と称されるアイオワはミシシッピとミズリーの両大河に挟まれる平坦な州である。そこには豊かな黒土層が広がり、地元の人(アイオアン)は、世界で2番目にランクされる沃土と言っている(1番はウクライナとのこと)。全米における最も肥沃な土壤の約25%がこの州にある。夏冬の寒暖差が大きい内陸性の気候ではあるが、夏は東京並みの高気温・高湿度となり、農業に適した環境にある。広大な黒土層には、トウモロコシや大豆が栽培され、不作な年は"両作物の世界相場"を震撼させるとさえ言われている。牛のみならず米国では珍しい養豚業も行われ、良質の豚肉産地としても有名である。このようにアメリカを代表する農業州であるため、ISUでは農畜産物に関する研究活動が盛んである。ISUが所在するエイムズは人口約50,000人の静かな大学町である。州都デモイン(車でシカゴから約7時間、真西に走らせた所にある)に近く、約7割の住民がISUとなんらかの関連を持っている。私が訪れた1993年は世界的に異常気象が猛威をふるい、日本ではコメ収穫量の激減が記憶に新しい。一方、アメリカ中央部も大洪水に襲われ、Great Lakesが六大湖になった年でもある(冗談好きな友人は、北上したフロリダのワニに注意せよと忠告してくれた)。水が引き、"ワ

ニが退散した"9月に初めて訪れたエイムズの美しい町並みは今でも印象的である。

### 2. 澱粉粒の酵素的分解

研究の機会を与えて下さったロビット教授は、多糖・オリゴ糖とそれらの合成・修飾酵素について精力的な研究を進め、その $\alpha$ -グルカンに対する世界的な業績から" $\alpha$ -man"と尊称する研究者もいる(御自身はラボメンバー共々、"sweet men"と呼んでおられた)。私が行った研究は、各種の植物に貯えられる澱粉粒の酵素的分解である。熱処理で糊化させた澱粉は容易に酵素分解できるが、未加熱の澱粉粒(生澱粉)は酵素作用に対して抵抗性を示す。しかし、ある種の酵素は澱粉粒を消化できる。そのような酵素は分子中に澱粉吸着に関与する構造(ドメイン)を有し、分解に必須であることが知られている。

7種の重要な作物から精製された澱粉粒に、糸状菌のグルコアミラーゼ( $\alpha$ -グルカンの $\alpha$ -1,4-グルコシド結合に高い水解活性を示し、 $\beta$ -グルースを遊離させるエキソ型酵素;この酵素は澱粉吸着ドメインを有する)を作用させると、完全に分解されるもの、最大15%しか分解できず抵抗性を示すもの、両者の中間のタイプと、大きく3グループに分類できることが認められた<sup>1)</sup>。アミロース・アミロペクチンの含量比や糊化開始点温度の高低は、この分類に影響を与えない。澱粉粒は不溶性であるため、酵素反応中は懸濁あるいは沈殿状態であるが、反応液の上清にはグルースのみが存在し、低分子のオリゴ糖は認められなかった。酵素分解中における澱粉粒の個

KIMURA Atsuo

数や粒径の変化をフローサイトメトリーで解析すると、粒径の減少とともに、反応初期に個数の一過的な増加が認められた。従って、澱粉粒の消化はダイナミックな粒子開裂を伴うことが判明した。

### 3. 生成物固定化現象

前述した7種類の澱粉粒をグルコアミラーゼで処理した後、反応液を遠心分離し、沈殿画分を得た。この画分には分解途中の澱粉粒が存在する。次に、酵素反応の生成物であるグルコースを沈殿物について定量し、粒内存在量を求めた。得られた値は全生成物量の約10%から35%に相当するものであった。この結果は、生成したグルコースが粒外に直ちに移行せず、澱粉粒内に留まることを意味している。

蛋白質や核酸などの生体高分子は、水素結合や疎水相互作用などの非共有結合により緻密な立体構造を形成する。制限酵素で切断された核酸は一本鎖にならず、水素結合による二本鎖のヌクレオチドを与えることは実験室でよく経験することである。また、未変性の

蛋白質の主鎖をプロテアーゼで消化しても、立体構造を保持した状態の分解物が得られることが知られている。これらのこととは、生体高分子の構造構築に非共有結合が極めて重要であることを意味している。緻密な立体構造を有する澱粉粒についても同様な現象が報告されている。平均重合度が3,000以上の澱粉粒をアルコール中で酸加水分解し、平均重合度を約60にした標品が調製された。この澱粉は無処理のものと全く変わらない粒形を示した<sup>1-3)</sup>。従って、酵素作用によってアミロースやアミロペクチンから遊離されたグルコースが、非共有結合でそのまま澱粉粒の立体構造中に留まることが想像できる。

一方、長鎖のオリゴ糖は、グルコースより非共有結合が大きいと予想できる。イソアミラーゼはアミロペクチンの分岐構造を切断し、最も高分子のオリゴ糖を与える。このような観点から、生成物の粒内保持量をイソアミラーゼについて測定した。本酵素の澱粉粒に対する分解率は5-12%と低いが、約3割から6割の生成物が粒内に残存することが認められ<sup>4)</sup>、ようやく生成物の固定化現象に対する確証を得た。



写真 アイオワ州立大学のキャンパス風景  
(1994年4月の大学祭)

しかしながら、この実験ではイソアミラーゼの澱粉粒に対する作用が低く、分解率を向上させる必要がある。その解決を澱粉粒の構造改変に求めた<sup>5)</sup>。すなわち、各種起源の澱粉粒を糊化開始点温度で処理し、膨潤澱粉を調製した。結晶領域の部分的な消失はあるが、粒構造は保持されていることを確かめた。このような膨潤澱粉にイソアミラーゼを作用させると、分解率は飛躍的に改善され、20-60%となつた<sup>4)</sup>。生成物の粒内保持量は、澱粉粒の内部構造の破壊により若干低下するが、2割から4割の保持が観察された。

次に、澱粉粒内への固定化量を高めることにした（実験にはイソアミラーゼと膨潤澱粉を用いた）。まず、反応液の疎水性について検討した。イソアミラーゼを膨潤澱粉に吸着後、最大80%濃度までエタノールを加え、そのまま酵素反応を行つた。分解率は僅かな低下を示したが、生成物保持量はエタノール添加量に応じて上昇し、70%濃度以上の場合には生成物の全量が粒内に固定化された<sup>4)</sup>。次に、反応温度の影響を調べた。0、20、45℃の各温度で酵素反応を行うと、低温領域において粒内存在量の増加が認められた。疎水環境ならびに低温域での固定化量の上昇を考慮すると、生成物と粒内構造間における水素結合が本現象に深く関わると想像された。また、粒内で酵素反応が生じていることから、酵素分子が澱粉粒内部に移行すると考えられた。

マルトオリゴ糖は、その優れた物質的特性

から食品素材としての高い需要があり、我が国において生産量が大きいオリゴ糖の一つである。このような重要なマルトオリゴ糖が澱粉粒とともに沈殿するのであれば、その回収は容易かつ省エネルギーに行われる。このような観点から本現象の活用を検討している。

#### 4. おわりに

滞在中、研究以外の面で多くことを学びました。国の文化・歴史・経済・国民性の違いなど、数え上げたら切れがありません。このような貴重な研究・滞米の機会を与えて下さいました多くの先生方や御協力頂けました皆様に深く御礼申し上げます。

（昨年8月、ISUを再び訪れた。アメリカ経済の好調さを反映し、エイムズもショッピングモール増設や宅地造成などの開発が急ピッチで進んでいる。ホーソンコートやパンメルコートも改築され、新住宅が建築中である。）

#### 文献

- 1) A. Kimura and J. F. Robyt, *Carbohydr. Res.*, 277, 87-107, 1995.
- 2) W.-P. Ma and J. F. Robyt, *Carbohydr. Res.*, 166, 283-297, 1987.
- 3) J. D. Fox and J. F. Robyt, *Carbohydr. Res.*, 227, 163-170, 1992.
- 4) A. Kimura and J. F. Robyt, *Carbohydr. Res.*, 287, 255-261, 1996.
- 5) A. Kimura and J. F. Robyt, *Carbohydr. Res.*, 288, 233-240, 1996.

## 特別情報

## フランス国家「教育・学術功労勲章（コマンドゥール）」受章に寄せて

— 原田宏先生（生研機構特別参与）とフランス —

前筑波大学副学長の原田宏先生は、現在、山形県農業研究研修センターの総長をされると同時に、生研機構では特別参与として基礎的研究業務のご指導をいただいております。このたび、フランスにおけるこれまでの科学技術研究の推進と、永年にわたる日仏の科学技術の交流への貢献に対し、昨年9月10日にフランス政府から教育・学術功労勲章の最高位「コマンドゥール」を授与されました。原田先生からお伺いした話などを基に、先生とフランスとの交流についてご紹介させていただきます。

編集部

### 米国からフランスへ

米国コーネル大学修士課程を修了後、1958年から79年にかけ2回、合計19年間にわたりフランスで活躍されました。先生のお好きな箴言「禍福はあざなえる縄のごとし、人間万事塞翁が馬」のたとえのとおり、初めからフランスを目指したわけではなかったそうです。

今を遡ること40数年前、1955年当時の日本の大学の研究施設や実験設備のあまりの貧弱さに落胆して渡米を決意されて、米国の複数の大学に手紙を書き、Assistantshipを提供してくれるところを探し求められました。一番先に色良い返事をくれたのがアラバマ州にある現オーバン大学でした。いわゆる Deep Southであり、日本人留学生などは皆無の地。当時黒人差別が驚く程に徹底していたそうです。

夏休みが近づいた頃、米国農務省の研究者からの依頼で日本の農業を説明に行った折、農学研究ではトップクラスとして知られているコーネル大学への転学を強く薦められたそうです。

ここから不思議な縁が始まります。ニューヨーク州イサカにコーネル大学を訪れ、面接を受けたとき、たまたま学科主任が不在で面接していただいたのが親日家の教授であったとのこと。Assistantshipがすんなりと貰えたのはこの教授のおかげと思うこともあるそう

です。入学するためにイサカに飛んだとき、飛行機で隣に座った紳士がまさに面接時に不在であった学科主任でした。言われるまま、翌朝8時に教授のオフィスをかなり緊張して訪ねると、既に室内にはもう一人の若い教官が座っており、指導教官がそこで一瞬の内に決まってしまったそうです。これが19年に及ぶフランスとの縁のそもそも始まりになるとは、その時点では夢にも考えつかれませんでした。

指導を受け始めて半年ばかり経過した頃、この教官がフランスに新設された国立ファイトトロン研究所の副所長に任命され、数ヶ月後には母国フランスに帰ることになりました。先生の心は大いに揺れ動いたようですが、結局好奇心の方が勝ち、何れにしても短期間の心算で1958年に大西洋を3等船客となって渡られました。

### フランスの思い出

パリに着いて先生の目に真先に飛び込んできたのは、街中に貼られていたNonとかOuiの文字。時あたかも、ドゴール将軍が再び政権を握り、新憲法も制定されて第5共和国が正に樹立されつつあった大動乱期であり、それは新憲法に対する国民投票のポスターであったのです。その後も、19年間の滞在期間の間、フランスの政治、社会情勢は常に流動的で、



在日フランス大使館での授章式

1961年のアルジェリア派遣軍の反乱、その後も10年余り続いたOAS(秘密軍事組織)による爆弾テロ、そして1968年には5月革命とフランス社会は揺れ動き続けました。

米国に戻ろうという気持ちは、習慣や言葉に慣れ、友人ができるに従って、コーネル大学の美しいキャンパスや良き想い出とともに薄らぎ、2~3年後には殆ど消え失せてしまっていたようです。フランスでは外国人に対して特別扱いはしない、仕事をすればそれなりに評価し、つきあってくれる、素っ気ないようでも温かさもありかえって落ち着く面もあったとのことです。多くの良き先輩、同僚、大学院生に恵まれて研究もかなり順調に展開し、4年後にはパリ大学から学位を得られました。



フランス国家「教育・学術勲章(コマンドゥール)」



勲章を胸に原田宏先生

### フランスにおける研究

フランスで印象に残る研究についてお話を伺いました。先の学位論文は、高等植物の花芽分化についての研究でした。キクを用い、短日性の品種と低温要求型の品種についてそれぞれに花芽分化を促す処理を行い、各種内生ホルモンの消長と形態的にみた花芽分化の関連について研究を行われました。長日植物には、ルドベキアを使用したそうです。

60年代後半には、植物ホルモンの抽出・同定の仕事が主であったようです。特に印象に残っているのが、タチアオイ頂芽におけるジベレリン $A_9$ の発見。分析技術が今ほど進んでいない当時、数ヘクタールの農場一面にタチアオイを栽培し、リヤカーに液体窒素を積んで小指の先ほどもない芽を30kg以上集め抽出、精製しました。 $GA_1$ と $GA_3$ の存在は十分予想されていましたが、それまで微生物でしか確認されていなかった $GA_9$ を発見したときは、さすがに興奮したとのことでした。この成果が他の研究者によって再確認されるまでには、さらに10余年の月日を要しました。

70年代前半には主として細胞培養、組織培養による高等植物の器官分化の研究をされました。アスパラガスの葉状枝の細胞を分離・培養しカルスを形成させた後、ホルモンの種類、濃度等を変え不定芽、不定根、不定胚の3つを分化させる研究等をされました。

### 帰国・筑波大学へ

フランスでの研究生活も13年目に入った頃、公私にわたって大きな転機が訪れました。コーネル大学以来の師であった前述のNitsch博士は、1969年に国立多細胞生理学研究所を創設して所長を務められていましたが、不幸にも1971年夏にフランス西海岸のブルターニュの海で事故死されました。博士の告別式の翌日、研究所が所属する国立科学研究中心(CNRS)から、博士の後を継ぐように命じられたそうです。

それ迄の10余年とは格段の権限と責任を持つようになる中、実験室内を動き回って先生自身がベンチワークをする時間は先細りとなりました。いささか残念に思い始めていた頃、筑波大学から帰国の誘いがあり、しばし思案の末フランスを離れる決心をされたのが1974年、今でも満開のリラと共に思い出されるそうです。

その2年後、ユネスコ・パリ本部に派遣され、3年弱の間、開発途上国の科学技術分野の援助に飛び回わられました。地の果てとも

思われるような地域にも何度も足を運ばれ、当時はかなり辛い仕事も多かったようですが、振り返ると大変貴重な経験であったと感謝の気持ちが強いとのことです。

### 帰国後の日仏交流

1979年に筑波大学に戻られてからは、研究・教育活動のかたわら、専門の植物生理学分野等での日仏ゼミの開催、フランスの研究者の日本への招へい、日本の若手研究者のフランスの研究機関への紹介などに、先生ならではの幅広い人脈を活用し、日仏学術交流に多大の貢献をされております。このような中、1986年には、植物組織培養の祖と慕われている故ゴートレ教授の推挙によってフランス農学アカデミーの会員に選出されました。

「フランスの研究所と筑波大学で苦楽を共にした学生の方々が、その後大きく成長し、多方面で活躍しているのを見聞きするのは本当に嬉しいことであり、今後共、いささかなりとも日仏間の学術交流に貢献したい」との先生のご希望の言葉をもってこの紹介を締めくくさせていただきます。

## 編集後記

平成10年度の最終号をお届けいたします。本号では、食品にかかるアレルギーについて3編の記事を掲載いたしました。上野川先生には食品アレルギーの発生原因について詳しく解説していただき、栗崎氏と阿部・椿氏にはそれぞれ畜産物およびコメにおける低アレルギー製品開発について紹介いただきました。生活環境と密接な関係があり、一種の文明病と言われるだけに、基礎的研究はもとより、各分野での対応製品開発に向けた技術開発が望まれます。それによりビジネスチャンスも生れる分野であると考えられます。

3月は卒業の時です。バイオテクノロジーを学ぶ専門学校の学生と接する機会を得ました。彼らは組織培養、遺伝子クローニング、微生物の取扱い、さらには環境修復にかかる

いろいろな技術分野について、かなりのレベルの技術を習得しています。しかし昨今の経済情勢や、バイオテクノロジー産業の進展が今1つの時期の卒業だけに、心ならずも自分の技術を生せない職場に就く学生が多いのが実情です。実用化、産業化のフィールドに新しい技術を学んだ彼らを有効に役立たせる環境作りが望れます。そのことはバイオ分野の効率的で低成本の技術開発を促し、産業化を早めるのではないかでしょうか。

近江戸・福井氏の記事が示すように、遺伝子を直接観察することが可能になっています。染色体やゲノム研究だけにとどまらず、新品种の開発を飛躍させることが期待されます。本誌でもこのような情報を注意深く追って行きたいと考えています。 (松田 記)

## ブレインテクノニュース (第72号)

平成11年3月15日発行

発行者 真木秀郎

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 虎ノ門マリンビル10F  
TEL. 03-3459-6565 FAX. 03-3459-6566

編集 (社)農林水産技術情報協会

〒103-0026 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, 1999