

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

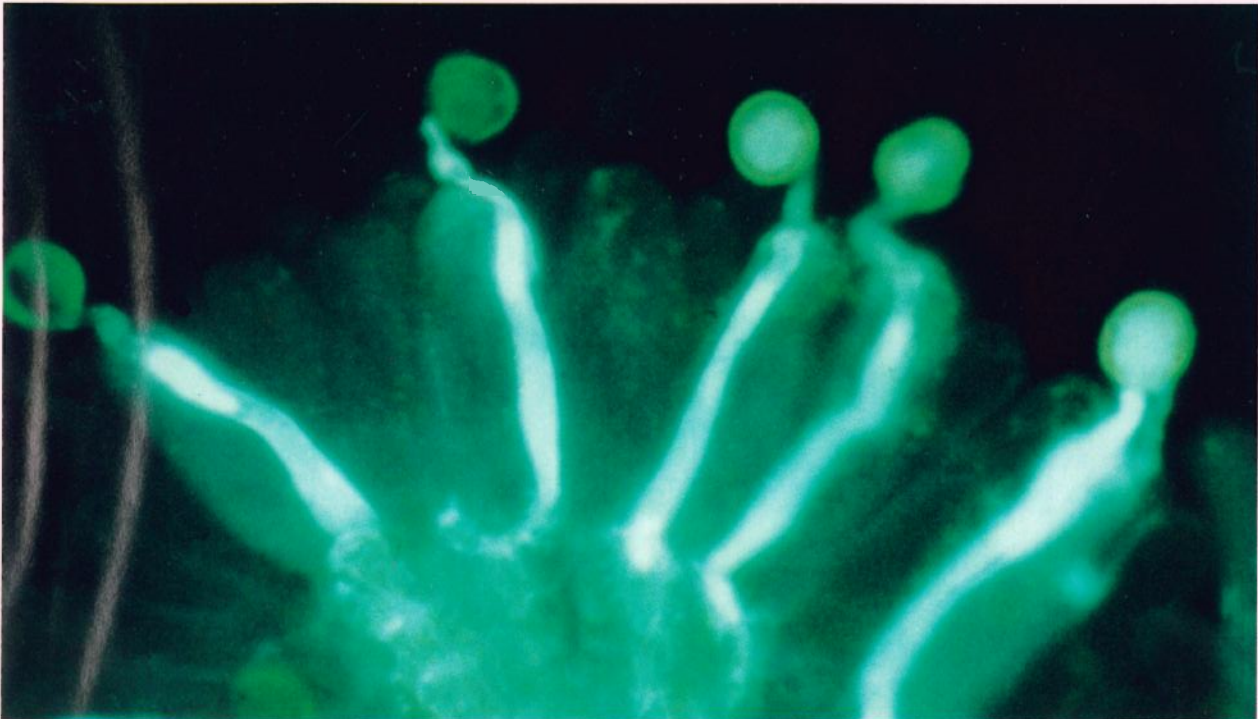
TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

第 80 号

JULY 15, 2000

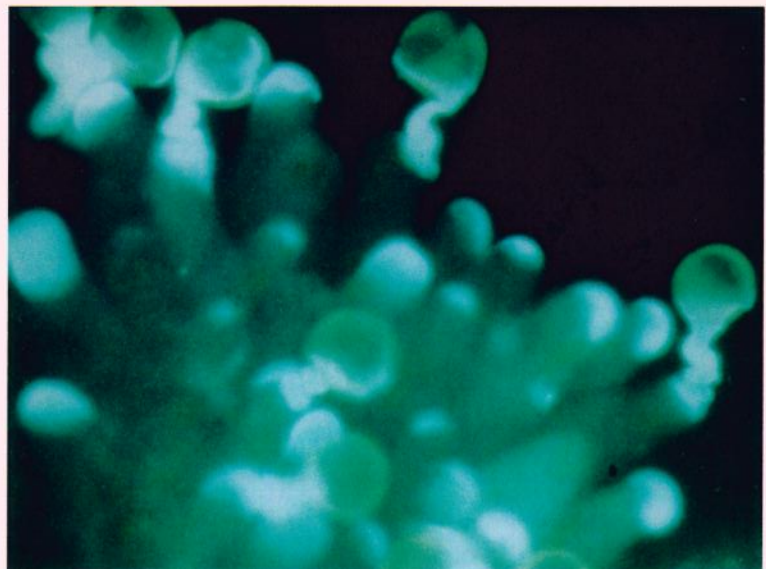


アブラナ科植物における自家不和合性決定遺伝子の機能

上: 非自己花粉による和合受粉反応

右: 自己花粉による不和合受粉反応

[採種実用技研 畠山勝徳氏原図]



目 次

総 説

- 味のメカニズム 1
 栗原堅三 (青森大学 大学院環境科学研究科)

国内情報

- 脳における味覚の認識 5
 近藤高史・鳥井邦夫 (味の素株式会社 中央研究所・基盤研究所)
- 脂肪のおいしさ 11
 今泉正洋・伏木 亨 (京都大学 大学院農学研究科)
- アブラナ科自家不和合性に関する雌ずい側・花粉側遺伝子の決定 15
 畠山勝徳・高崎剛志・日向康吉 (株採種実用技術研究所)
- 米品質評価測定装置の開発 19
 杉山隆夫 (生研機構 生産システム研究部)

地域の先端研究

- ミカンの搾り粕を利用したキトサンの発酵生産 23
 宮岡俊輔 (愛媛県 工学技術センター)
- レーザー光による農産物生育情報の非破壊モニタリング技術 28
 斎藤保典 (信州大学 工学部)

文献情報

- Oct-3/4の発現量がES細胞の分化、脱分化あるいは自己再生を決定する 32
 H, Niwa et al (Nature Genetics, 24:372-2153, 2000)
 抄訳: 木村直子 (東北大学 大学院農学研究科)
- 分裂酵母のヘキソース輸送体 33
 S. Heiland et al (J. Bacteriology, 182:2153, 2000)
 抄訳: 赤尾 健 (国税庁 醸造研究所)
- 自家不和合性の花粉決定因子、ついに発現さる。 34
 C. R. Schopfer et al (Science, 286: 1697-1700, 1999)
 ならびに, S. Takayama et al (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97:1920-1925, 2000)
 抄訳: 岩井純夫 (鹿児島大学 農学部)
- SCARECROW機能の分子的解析によって、根とシュート共通のメカニズムを明らかにする... 35
 J. W. Wysocka-Diller et al (Development, 127: 595-603, 2000)
 抄訳: 木苗貴秀 (東京大学 大学院農学生命科学科)
- 酵素を利用した魚油の香り成分の改良 36
 S-P. Hu et al (JAOCS, 77(4): 343-348, 2000)
 抄訳: 大栗智昭 (マルハ株 中央研究所)

海外便り

- 土壌中におけるプレファレンシャルフローが化学物質の溶脱に果たす役割
 —スウェーデン農科大学における1年— 37
 前田守弘 (農林水産省 農業研究センター)

表紙写真説明

アブラナ科植物における自家不和合性決定遺伝子の機能 上: 自家不和合性アブラナ科植物で雌ずい側と異なるS遺伝子をもつ花粉は、花粉管が柱頭に侵入して受精結実する。下: S遺伝子が同一の場合は、受粉しても花粉管が柱頭に侵入できず受精できない。なお、自家不和合性決定遺伝子およびその機能の詳細については、国内情報15頁、文献情報34頁を参照して下さい。

◀総説▶

味のメカニズム

青森大学 大学院環境科学研究科

栗原 堅三

味の情報は、味細胞の先端に存在する受容体やイオンチャネルで感知され、電気信号に変換される。ここでは、味の情報変換機構に関する最新のデータを紹介する。食物にはさまざまな味成分が含まれているが、多くの食物の味は、アミノ酸、うま味物質、塩の3者の組み合わせで決定されている。それぞれの味物質の役割を紹介する。最近、苦味の選択的マスキング剤が開発され実用化されている。その作用機構と応用例を紹介する。

1. 味の受容機構

光、神経伝達物質、ホルモン、匂いなどの刺激は、細胞膜を7回貫通する構造をもつ受容体（膜7回貫通型受容体）により感知され、GTP結合タンパク質（Gタンパク質）を介して、これと連結している酵素の活性を調節して二次メッセンジャーの産生または分解を促す（図1）。最近の研究では、味の受容も類似の機構で行われていることが明らかになってきた。

味は、塩味、酸味、苦味、甘味の4つの基本味に分類されてきたが、後に述べるように、最近ではうま味が第5番目の基本味と見なされるようになった。塩味は塩を構成する陽イオンが、酸味はプロトンが、味受容膜のイオンチャネルを透過することにより発現する。甘味物質である糖に対する応答はサイクリックAMPを介して、人工甘味剤に対する応答はイノシトールトリスリン酸（IP₃）を介して発現する。また、ある種の苦味物質の応答は、IP₃を介して発現する。うま味の情報変換機構は、まだ不明である。

甘味物質や苦味物質の応答がサイクリックAMPやIP₃を介して発現するとすると、味細胞にもGタンパク質共役型の受容体（膜7回貫通型受容体）が存在する筈である。現在までにいくつかのグループが、味覚組織から多

KURIHARA Kenzo

〒030-0943 青森市幸畑2丁目3-1

数の膜7回貫通型受容体をクローニングした¹⁻⁶⁾。このうちの大部分の受容体は、現在まだどんな味物質の受容体であるか不明であるが、最近Chandrashekarら³⁾やMatsunamiら⁶⁾がクローニングした受容体は、苦味受容体であると推定されている。うま味受容体に関しては後に述べる。

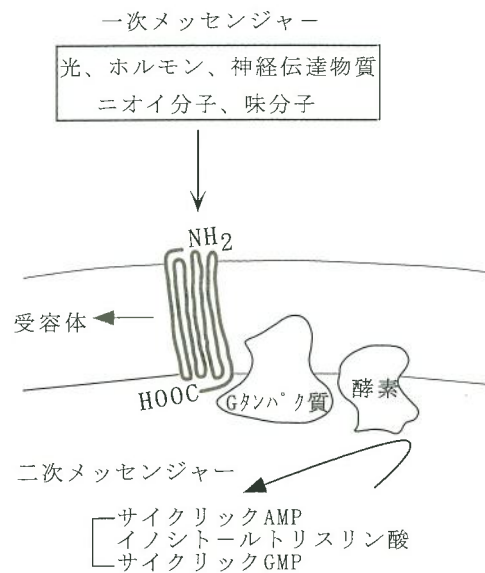


図1 各種の刺激を感知する共通のしくみ

2. 食物の味を決めている成分

食物を分析すると多数の味物質が検出されるが、これらのうち、ごく少数の味物質だけが食物の味の形成に寄与している。たとえば、

表1 カニ味の必須成分⁷⁾

必須成分	組成(mg/100 ml)
グリシン	600
アラニン	200
アルギニン	600
グルタミン酸ナトリウム	30
イノシン酸ナトリウム	20
食塩	500
第二リン酸カリウム	400

カニ味の必須成分は、グリシン、アラニン、アルギニンという3種類のアミノ酸と、うま味物質（グルタミン酸ナトリウムとイノシン酸ナトリウム）と塩である。これらの成分を、表1に示すような割合で混合すると、実際のカニ味と区別できないほど美味なカニ味を作ることができる⁷⁾。表1の成分のうち、グリシンの割合を多くするとホタテの味になり、成分の割合を変えてメチオニンを添加するとウニの味になる。多くの魚介類、肉、野菜などの味は、このようにアミノ酸とうま味物質と塩により決定されている。それぞれの食物の味の違いは、含まれているアミノ酸の種類と割合の差異による。

表1の成分から塩を除くと、混合液の味は非常に弱くなり、カニ味にはほど遠い味になる。筆者らは、イヌの味神経応答を測定して、食塩の効果を調べた。食塩が共存すると、アミノ酸の味神経応答は顕著に増大した⁸⁾。ただし、あまり食塩の濃度が高すぎると増強作用はかえって小さくなる。この結果は、適度な食塩が共存しないと、アミノ酸の味を引き出すことが出来ないことを意味する。

ところで、現在日本人は、1日13グラム程度の食塩を摂取している。食塩の摂りすぎは血圧を上昇させるということで、WHO（世界保健機関）は、一日の食塩摂取量を5グラム以下に制限することを推奨している。食塩をここまで制限すると、アミノ酸の味を引き出す効果はなくなる。もともと、食物の味の主体はアミノ酸の味であるから、減塩食がまずいのは当然である。ほんとうに、食塩をこれほど制限する必要があるのだろうか。1998

年のサイエンス誌に、極端な減塩は意味がないことを主張する長文のレビューが掲載された⁹⁾。これによると、極端に減塩しても、とくに血圧の低下が見られないだけでなく、かえって死亡率が増加するという。科学的にはそれほど根拠のない減塩神話から脱却して、適度の食塩を使ったおいしい料理を食べまじょうと、言いたい。

3. 基本味としてのうま味

表1に示したカニ味の必須成分から、うま味物質を除くと、カニ味がしなくなる。うま味物質は、カニだけではなく、多くの食物に含まれており、その食物の特徴ある味に寄与している。うま味物質には、グルタミン酸（Glu）、グアニル酸（GMP）、イノシン酸（IMP）の3種類がある。これらのうま味物質は単独では弱いうま味しか示さないが、GluにGMPあるいはIMPを混ぜると、相乗作用により強いうま味が現れる。

動物を用いたうま味に関する電気生理学的な研究は、従来は主としてラットを用いて行われてきたが、ラットはうま味に鈍感で、また小さな相乗作用しか示さない。筆者らは、イヌの味覚器がヒトの場合と同様、大きな相乗作用を示すことを見いだした¹⁰⁾。イヌの舌にGluを与えても、単独ではかなり濃度を高くしないと応答が現れないが、0.5 mM GMP（単独ではほとんど応答が現れない）を共存させると、非常に大きな応答が現れる。

Glu、GMP、IMPはいずれも酸であるから、中性では塩の形（通常はナトリウム塩）で存在する。Gluの場合は、中性では一個のカルボン酸がNaOHで中和された形（monosodium glutamate, MSG）をとる。ラットの舌にMSGを与えると、味神経に大きな応答が現れるが、ラットはうま味に対して鈍感な上に、Naイオンによく応答するので、Gluに対する応答はNaイオンに対する応答に隠れてしまう。結局、ラットを用いた実験では、うま味が塩味と独立した味であるという結果は得られなかったため、生理学者はうま味が基

本味であるという考えには否定的であった。

筆者らは、イヌを用いてつぎのような実験を行った。イヌの舌にNaClを与えたときの味神経応答は、アミロライドという薬物で完全に阻害される。ところが、グルタミン酸ナトリウム (MSG) とグアニル酸ナトリウムの相乗作用により生じた大きなうま味応答は、アミロライドで阻害されなかった¹⁰⁾。したがって、相乗作用により生じた応答は、Naイオンの応答ではなくて、うま味という独特な味の応答ということになる。また、マウスの舌咽神経¹¹⁾ やサルの大脳¹²⁾ には、うま味の情報だけを伝える神経線維が存在することも見いだされ、うま味が4基本味とは独立の味であることが明らかになった。これらの研究成果をもとに、われわれはうま味は第5番目の基本味であることを提案した。英語にはうま味という概念の言葉がないので、umamiをそのまま国際語にした。現在、umamiが基本味であることは、世界的に認知されている。

脳内にはいろいろなタイプのグルタミン酸受容体が存在するが、Chaudhariら¹³⁾ はうま味受容体はそのうちのどれかであると想定して、ラットの味覚組織からグルタミン酸受容体のクローニングを行った。この結果、代謝型受容体の1種であるmGluR4が味細胞に存在することを見だし、これがうま味受容体であると報告した。ただし、mGluR4は抑制性の受容体であり、この受容体にグルタミン酸が結合すると、味細胞は過分極（抑制性電位変化）する。うま味物質は、味細胞を興奮させてこれと接続している味神経にインパル

スを発生させることにより、うま味を発現させる。したがって、mGluR4がうま味受容体であるとは考えにくい。

ところで、口から摂取したグルタミン酸は、体内でどのような運命をたどるのであるのか。一般に、必須アミノ酸は、腸管で吸収されると門脈を介して大静脈に移行し、全身の組織に分布する。これに対して、非必須アミノ酸であるグルタミン酸は、大部分腸管で代謝されてしまい、門脈からほとんど流出しない。したがって、口から摂取したグルタミン酸は、脳を含めて各組織に移行しない。各組織は、自前でグルタミン酸を合成しているのである。口から摂取したグルタミン酸は脳に移行しないので、頭痛を引き起こしたり、脳に障害を与えたり、頭をよくしたりすることはあり得ない。

4. 苦味マスキング剤

苦味を選択的にマスクすることは、以前から要望されていたが、いい方法がなかった。筆者らは、大豆から抽出したホオスファチジン酸と牛乳から抽出したβ-ラクトグロブリンからなるリポタンパク質が、各種の苦味を選択的に阻害することを見いだした^{13, 14)}。図2には、苦味マスキング機構の模式図が示されている。苦味マスキング剤は、味細胞の味受容膜に結合し、苦味受容サイトを塞いでしまう。この結果、苦味物質は受容サイトに結合できなくなり、苦味が阻害される。

リポタンパク質より作用は弱いですが、ホスファチジン酸単独、あるいは、大豆の脂質成分

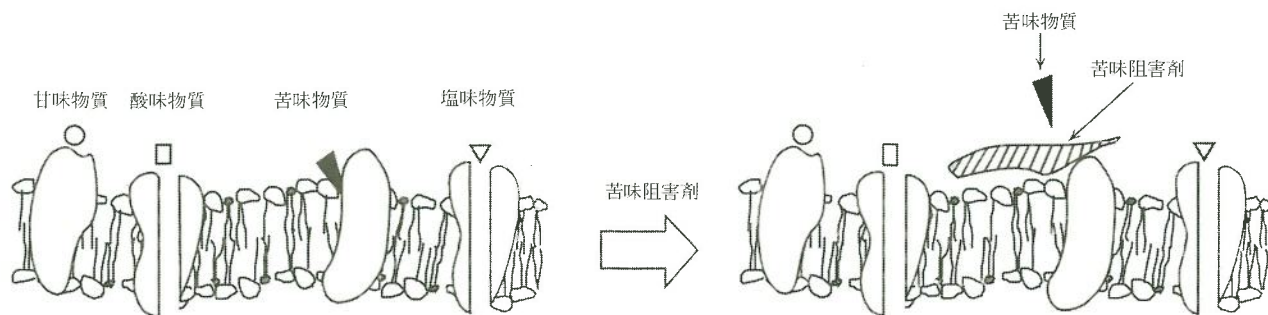


図2 苦味マスキング剤の作用機構

(大豆レシチン) からホスファチジン酸を高濃度含む標品でも、十分に苦味阻害効果があった。現在、この標品が、各種の薬や食品の苦味阻害剤として実用化されている。この標品はまた、ポリフェノールの苦味阻害剤としても使われている。ポリフェノールは、活性酸素の働きを抑える作用がある有用な物質であるが、強い苦味と渋味をもっている。チョコレートにも多く含まれているが、従来は苦味が強くなりすぎるので、ポリフェノール含量は低く抑えられていた。最近では、苦味マスキング剤を添加したポリフェノールを高含量含むチョコレートが市販されている。

おわりに

最近、味覚の受容体に関する研究が急速に進展しており、近い将来、それぞれの味物質の受容体の構造が明らかになると思われる。これらの研究は、味の実用面でも大きく貢献することが期待される。

文献

- 1) K. Abe, Y. Kusakabe, K. Tanemura, Y. Emori and S. Arai, *J. Biol. Chem.* 268, 12033 (1993)
- 2) I. Matsuoka, T. Mori, J. Aoki, T. Sato and K. Kurihara, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 194, 504 (1993)
- 3) M. A. Hoon, E. Adler, J. Lindemeier, J. F. Battey, N. J. P. Rybe and C. S. Zuker, *Cell*, 96, 541 (1999)
- 4) N. Chaudhari, A. M. Landin and S. D. Roper, *Nature neurosci.* 3, 113 (2000)
- 5) J. Chandrashekar, K. L. Mueller, M. A. Hoon, E. Adler, L. Feng, W. Guo, C. S. Zuker and N. J. P. Ryaba, *Cell*, 100, 703 (2000)
- 6) H. Matsunami, J.-P. Montmayeur and L. B. Buck, *Nature* 404, 601 (2000)
- 7) S. Fuke and S. Konosu, *Physiol. & Behav.* 49, 863 (1991)
- 8) T. Ugawa and K. Kurihara, *Am. J. Physiol.* 266, R944 (1994)
- 9) C. Taube, *Science* 281, 898 (1998)
- 10) K. Kurihara and M. Kashiwayanagi, *J. Nutr.* 130, 931S (2000)
- 11) Y. Ninomiya, K. Nakashima, A. Fukuda, H. Nishino, T. Sugimura, A. Hino, V. Danilova and G. Hellekant, *J. Nutr.* 130, 950S (2000)
- 12) E. T. Rolls, *J. Nutr.* 130, 960S (2000)
- 13) Y. Katsuragi and K. Kurihara, *Nature* 365, 213 (1993)
- 14) Y. Katsuragi, Y. Mitsui, T. Umeda, Y. Sugiura, K. Otsuji and K. Kurihara, *Pharm. Res.* 14, 720 (1997)

◀国内情報▶

脳における味覚の認識

味の素株式会社・中央研究所・基盤研究所

近藤 高史・鳥居 邦夫

味は、舌の味細胞で受容されたのち味神経を介して脳へ伝えられる。ラットに、リジン（必須アミノ酸の1つ）が欠乏した餌を与えて飼育すると、正常では好まないリジン溶液（苦味）を好んで摂取する。この際に、リジンの味刺激に対する味神経応答は変化しないが、下位味覚中枢の延髄孤束核や上位中枢の視床下部外側野（摂食中枢）では、ニューロン応答性が可塑的に変化した。このような応答変化が、食行動や嗜好性を調節する基盤であると考えられる。

1. はじめに

食事を摂ることは、生命を維持し健康な生活を営む上で必須であり、同時に空腹感や嗜好欲求を満たす喜びをも与えてくれる。食物が好ましいか否かの判断は、食事の味覚、嗅覚、視覚、食感（テクスチャー）、温度などの外的情報に加えて、空腹感や健康状態などの内的要因などにより、総合的に行われる。さらに、過去の食体験に基づいた記憶も、食欲や嗜好性に影響を与える。このような食行動の調節において、味覚は最も中心的役割を果たしていると言えよう。

一方、我々は、日常の生命活動に伴って消費した個々の栄養素を、食物を摂取し消化吸収することにより得ている。各栄養素に対する欲求量は、性別、年齢、仕事や運動の量や質、ライフスタイル、さらには風邪などの疾病の有無により増減する。従って、食欲あるいはある特定の食物に対する嗜好性などの複雑な調節を行うためには、各栄養素の消費と摂取の収支バランスを絶えずモニタし、かつ体内における各栄養素の生体恒常性（ホメオスタシス）を維持する必要があることから、極めて高次の脳機能を必要とする。本稿は、味覚情報の伝導経路と中枢処理機構、および体内栄養状態に応じたニューロンの可塑的応答変化の結果について紹介する。

KONDOH Takashi, TORII Kunio

〒210-8681 川崎市川崎区鈴木町1-1

2. 味覚の伝導路と生理的機能

味覚は口腔全体（舌、口蓋、咽頭、喉頭、喉頭蓋）に存在する味細胞で受容され、第一次味神経（鼓索神経、舌咽神経、大浅錐体神経および上喉頭神経）を経て、延髄孤束核へと入力される。ラットでは、延髄孤束核からの味覚情報は橋結合腕傍核に送られ、ここから視床後内側腹側核（視床味覚野）を経て大脳皮質味覚野に至る背側路と、視床下部外側野、扁桃体中心核、分界条床核などの腹側前脳部へ至る腹側路が明らかにされている（図1）。サルでは、大脳皮質味覚野はさらに第一次味覚野（島皮質および前頭弁蓋部）と第二次味覚野（眼窩前頭皮質およびPrCO（precentral opercular area）に分けられる。視床下部には摂食中枢である視床下部外側野と満腹中枢である腹内側核が存在しており、食行動調節に関与する。摂食には快・不快情動が伴うことから、腹側路は食物の価値判断や摂食行動の調節に直接関与している可能性がある。

延髄孤束核からの味覚性二次ニューロンは、上位味覚中枢（視床味覚野、大脳皮質味覚野）に投射する経路以外にも、毛様体に投射する経路があり、味覚に基づく自律神経反射（唾液分泌、消化液分泌、ホルモン分泌、消化管運動、心血管反射、味覚性発汗など）や筋運動（舌運動や嚥下反射）に関与している。すなわち、味質の大まかな識別（塩甘酸

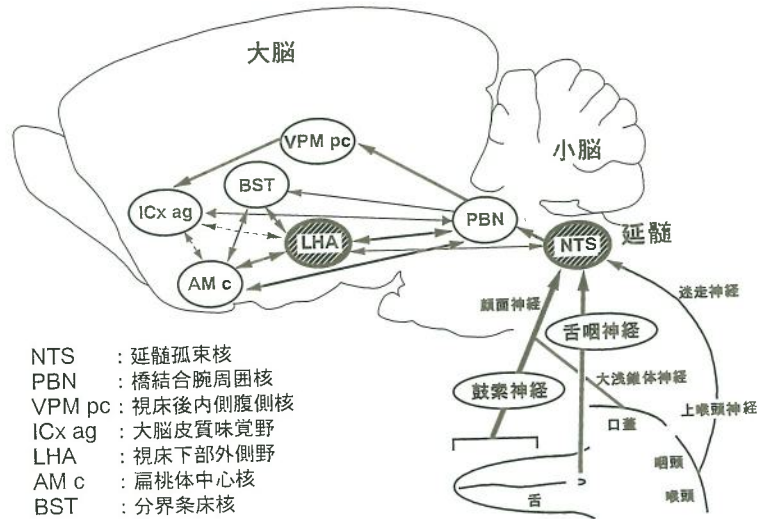


図1. ラットにおける味覚情報伝導路

味覚は味細胞で受容された後、第一次味神経を経て、下位味覚中枢（延髄孤束核および橋結合腕傍核）へと伝えられる。下位味覚中枢からは、視床後内側腹側核（視床味覚野）を経て大脳皮質味覚野に至る背側路と、視床下部外側野、扁桃体中心核、分界条床核などの腹側前脳部へ至る腹側路、および毛様体に投射する自律神経反射路が明らかにされている。

苦旨）は、すでに下位味覚中枢（下位脳幹部；延髄孤束核および橋結合腕傍核）レベルで完了しており、味覚に基づく反射を引き起こすのに合理的であると言える。一方、グルコースとスクロースの識別のように、より微妙で複雑な味覚情報処理は、上位味覚中枢で行われている。大脳皮質味覚野では、さらに味に関する記憶や学習が行われていることが示されている。

大脳皮質味覚野からは、下位味覚中枢をはじめ扁桃体や視床下部への投射があり、味覚情報伝達の下行性制御を行っている。扁桃体や視床下部からも下位味覚中枢に抑制性の投射がある。味覚ニューロンが上行して大脳皮質味覚野に至るまでの間には、上記以外にも、平行して走る味覚ニューロン間の相互作用、他の感覚系入力（一般内臓感覚性入力、一般体性感覚性入力）との収束などさまざまな影響があり、味覚ニューロン応答性に修飾が加えられる。

3. 味覚の伝導および中枢処理機構

味の強度や質の情報は、味覚ニューロン中を

インパルス（活動電位）列に符号化して伝えられる。味溶液の濃度（味刺激強度）を上げると、興奮を伝えるニューロンの数が増加する。また、味覚中枢における味質の識別は、各ニューロンにおけるインパルス列の時間応答パターンや、ニューロン間の空間応答パターンなどの情報に基づいて処理されると想像される。

味覚ニューロンの多くは、2種類あるいはそれ以上多くの味刺激に対して応答を示すが、どの味に対しても同じ大きさで興奮するのではなく、個々のニューロンごとに各味刺激に対する応答パターンが異なる。個々のニューロンが複数の味刺激に応答を示す主な理由は、1) 第一次味覚ニューロンが分岐して複数の味蕾を支配すること、2) 味神経の各分岐が1つの味蕾に入ってから分岐を繰り返す、複数の味細胞とシナプス結合を形成すること、および、3) 個々の味細胞が複数の味刺激に応じて受容器電位を発生することによる。

味質情報の伝達・処理機構の仮説として、ラベルドライン説 (labeled-line theory: LL説)¹⁾、アクロスニューロンパターン説

(across-neuron pattern theory: ANP説)²⁾, アクロスリージョンパターン説 (across-region pattern theory: ARP説)^{3,4)} の3つの仮説がある。LL説は、一本一本の味覚ニューロンが、基本味(塩味, 甘味, 酸味, 苦味およびうま味)のうちどれか1つの味だけを特異的に伝えると考える説で、塩味, 甘味, 酸味, 苦味およびうま味のような大まかな味を速やかに分析するとき都合が良い。ANP説は、味の質が多くニューロン間における興奮パターンで伝えられると考える説で、よく似た味質の識別や強さの微妙な判断を行うとき、あるいは過去の記憶と照合させて高度な味覚情報の分析を行うときに、より詳細な分析が可能となる。ARP説は、味質の識別が味覚野内部の小領域ごとにおけるニューロン応答性の空間(応答部位)パターンによって行われるとする説である。なお、これらの仮説は相反するものではなく、ANP説はLL説を包含し、ARP説はLL説やANP説で処理された味質を、応答局在のパターンとして認識する回路である。

4. 栄養状態とニューロン応答性の可塑的变化

動物は、各個体を維持・成長するために摂食し消化吸収を行うことによって、体内にエネルギー源および体構成成分となる栄養素をバランスよく取り込む必要があるが、単に適当に食べるだけでは、個々の栄養素が過不足する危険性がある。動物は、体に必要な栄養素が不足したときには、その栄養素を含む餌を探し出して選択的に摂取する行動をとり、逆に過剰摂取あるいは飽満時には、食べるのを中止する行動をとる。このような栄養状態の変化に応じた行動変化は、生体恒常性を維持する上で合目的々であり、栄養素の過不足に応じて味覚ニューロンが応答性を可塑的に変化させる例が知られている。

1) 血中グルコース濃度

サルの第二次皮質味覚野には、空腹時に活

動が高く、満腹時には活動性が減少するニューロンが存在し、グルコースに飽満するにつれてグルコース選択的に応答しなくなる⁵⁾。このような応答変化(感覚特異性飽満)を示すニューロンは、他の味覚中継核では認められない。一方、ラットでは、下位味覚中枢である延髄孤束核や橋結合腕傍核において、血中グルコースレベルの変動に応じたニューロン応答性の変化が認められている^{6,7)}。このように、栄養素の体内レベルあるいは生理的欲求に応じて味覚ニューロン応答性を可逆的かつ選択的に変化させることは、合理的であるといえよう。このような可塑的応答変化は、次に述べるような栄養欠乏状態における味覚ニューロン応答性の変化とそれに伴う行動変化を起こす上で、重要な神経回路基盤となる。

2) 必須アミノ酸(リジン)欠乏

リジンは必須アミノ酸の1つであるが、強い苦味を有することから、正常栄養状態の動物が好んで摂取することはない。しかし、ラットにリジン欠乏食を与えて飼育し、それと同時にいろいろな種類のアミノ酸溶液、生理食塩溶液および水を自由に選択摂取させると、数日以内にリジン溶液を探し出し定量的に飲むようになる^{8,9)}。すなわち、リジン欠乏によってリジン嗜好性が発現することがわかる。このときに、末梢の味神経(鼓索神経および舌咽神経)におけるリジン応答性(味覚閾値および濃度依存性)を調べても、まったく変化が認められなかった。しかし、味神経の一次中継核である延髄孤束核では、リジンの味はラットが好む食塩(塩味)とよく関連した。リジン正常状態では、リジンの味はラットが嫌うキニーネ(苦味)とよく関連したので、リジン欠乏によってリジンの味が、嫌いな味(苦味)から好ましい味(塩味)へと変化することが示唆された。この変化によって、不足したリジンを大量に摂取することが可能となる。リジンに対する感受性・嗜好性の変化は、舌ではなく脳でコントロールされていることが明らかとなった。

さらに、外部刺激(味覚, 嗅覚, 視覚など)

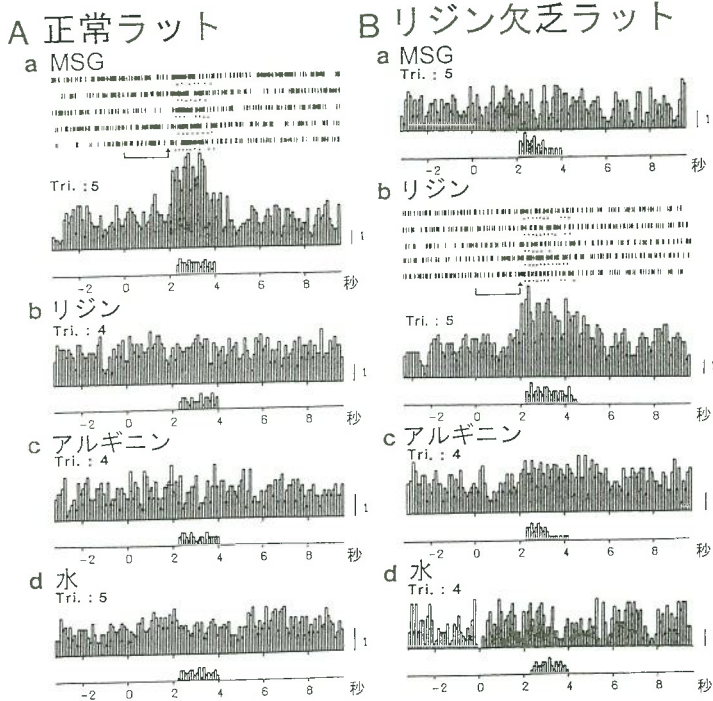


図2. オペラントリック行動下ラット視床下部外側野ニューロンの味覚応答性の例。

正常状態(A)では、MSGの摂取時だけに特異的に応答し、リジン欠乏状態(B)では、リジン溶液の摂取時にだけ特異的に応答するニューロンが認められた。0-2秒、予告音期；2-4秒、溶液の摂取期。[文献10より引用]。

と内部刺激(血糖値, ホルモン, 脂肪酸濃度など)の両方に応答する視床下部外側野(摂食中枢)がリジン欠乏の認知部位であると考えて、単一ニューロン活動を無麻酔・行動下のラットを用いて調べた。波長の異なる手掛かり音(2秒間)を呈示したあと、各種栄養素を含む水溶液を摂取(2秒間)させた。その結果、正常ラットではうま味であるグルタミン酸ナトリウムを飲んだ時にだけ応答するニューロンが記録されたのに対し、リジン欠乏ラットではリジン溶液を飲んだ時にだけ応答を示すニューロンが記録された(図2)¹⁰⁾。このようなニューロン応答性の変化は、嗜好性の変化とよく一致する。また、リジン欠乏状態では、微量のリジンを直接視床下部外側野ニューロン膜に電気泳動的に投与することによって、強く応答するニューロンが記録された。このようなニューロンは、正常ラットでは認められなかったことから、リジン欠乏によって視床下部のニューロン応答性が可塑的に変化することが示された。すなわち、

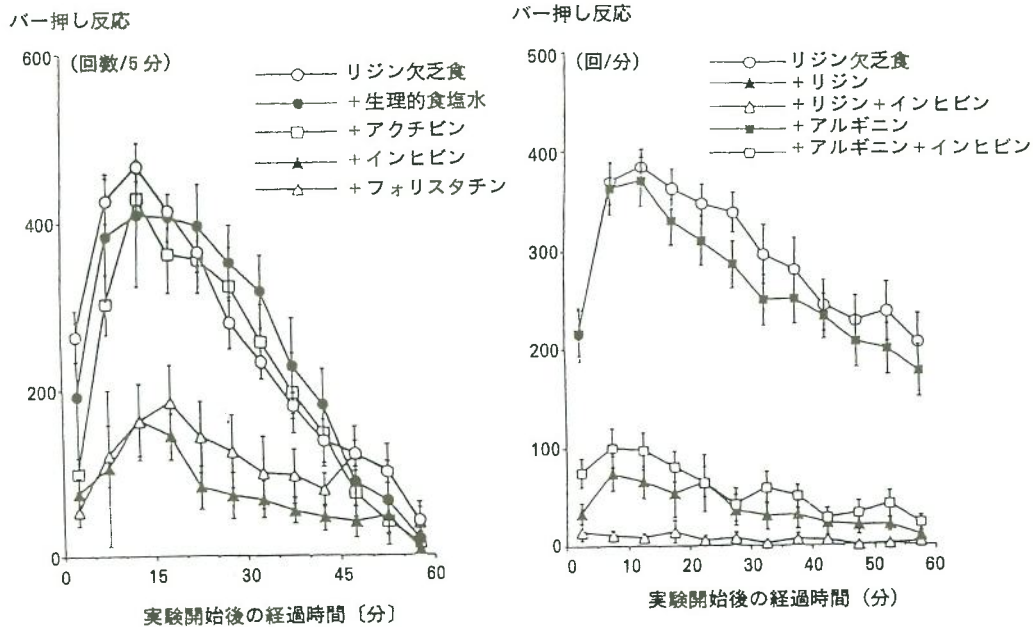


図3. リジン欠乏ラットのオペラントバー押し行動。

30回のバー押しによって、少量のリジン正常食(50mg)が獲得できる。リジン、またはアクチビン活性を抑制するインヒビリンおよびフォリスタチンを、視床下部外側野へ微量投与すると、バー押し回数が減少するが、生理的食塩水、アクチビンまたはアルギニンの投与では影響されない。[文献13より引用]。

リジン欠乏に応じて、外因性情報であるリジンの味覚や内因性情報であるリジンの脳内レベル変化に応答するニューロンが視床下部外側野に出現することが明らかとなった。

この可塑的变化を引き起こす機構として、何らかの液性因子が脳に働きかけている可能性が高い。リジン欠乏ラットの血液を調べたところ、神経栄養因子であるアクチビン／インヒビンの分泌動態が変化していることが明らかとなった¹¹⁾。そこでオペラントバー押し行動を調べる実験により、リジン正常ベレット(50mg)に対する獲得動機づけの強さを調べた。リジン欠乏ラットのバー押し行動は、リジンそのもの、またはアクチビン活性を抑制するインヒビン、フォリスタチンやアクチビン抗体の視床下部外側野への投与により強く抑制されたが、リジン以外のアミノ酸やアクチビンの投与では影響されなかった(図3)^{12,13)}。これらの結果より、リジン欠乏に伴うリジン選択摂取行動は、視床下部外側野のアクチビン活性増加によって調節されている可能性が示唆された。

5. おわりに

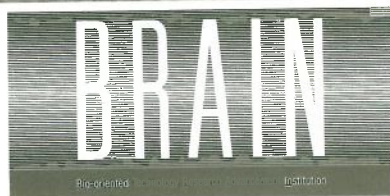
食欲や嗜好性の変化は、生体恒常性の乱れの前兆と考えることができる。成長期における変化に富んだ食事内容が、生体恒常性の維持(適応)の能力を高め、どのような栄養状態でも一過性の乱れの段階で適切に対処する仕組みを脳内に構築し、生活習慣病などの疾病に陥ることを防いでいると思われる。ヒトにおける脳の視床下部を中心とした食行動や生体恒常性維持の仕組みは、基本的にラットと同様であることから、本研究を更に発展させることによって、「おいしく食べて健康づくり」に貢献したいと考えている。

謝辞

本研究を支えて下さいました新技術事業団(現、科学技術振興事業団)・創造科学推進事業・鳥居食情報プロジェクトの研究者、スタッフ、そしてご支援頂いた小野武年教授(富山医科薬科大学)、味の素(株)の方々に深く感謝致します。

文献

- 1) Frank M (1973) *J Gen Physiol* 61: 588-618
- 2) Erickson RP (1963) In *Olfaction and Taste*, Zotterman Y (ed), pp205-213, Vol. 1, Pergamon Press
- 3) Yamamoto T, et al (1985) *J Neurophysiol* 53: 1356-1369
- 4) Yamamoto T, et al (1985) *J Neurophysiol* 53: 1370-1386
- 5) Rolls ET, et al (1989) *Eur J Neurosci* 1: 53-60
- 6) Giza BK, Scott TR (1983) *Physiol Behav* 31: 643-650
- 7) Giza BK, Scott TR (1987) *Am J Physiol* 252: R994-R1002
- 8) Torii K, et al (1987) In *Umami, a basic taste*, Kawamura Y, Kare MR (eds), pp513-563, Marcel Dekker
- 9) Mori M, et al (1991) *Physiol Behav* 49: 987-995
- 10) Tabuchi E, et al (1991) *Physiol Behav* 49: 951-964
- 11) Torii K, et al (1993) *Physiol Behav* 54: 459-466
- 12) Hawkins RL, et al (1994) *Physiol Behav* 56: 1061-1068
- 13) Hawkins RL, et al (1995) *Brain Res* 704: 1-9



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内

第 79 号

2000 (平成12) 年 5 月15日発行

総 説

植物の形態を制御するジンクフィンガー
転写因子高辻博志

国内情報

遺伝子操作による葉・花形態の制御塚谷裕一
マダイイリドウイルス病ワクチンの開発...中島員洋
氷核活性細菌による害虫防除

—昆虫腸内定着細菌利用の一例として—...渡部賢司
分子擬態中村義一

色素体遺伝子の転写を支配する核ゲノム...杉田 護
文献情報

受精とCD9との関わり(抄訳:横尾正樹)

Lactococcus lactis オリゴペプチド輸送システム結
合蛋白質への変異導入と特異性の変化

.....(抄訳:上野敬太)

甦る植物—永遠の葉の秘密(抄訳:岩井純夫)
切り刻んだグリコサミノグリカン, 侮り難し?!

—低分子量ヒアルロン酸が動脈硬化治療薬となる可
能性がある—(抄訳:丸山一輝)

海外便り

食品の物性はヒトの咀嚼挙動に影響するか

—フランス国立食肉研究所に滞在した11ヶ月—

.....神山かおる



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内

第 78 号

2000 (平成12) 年 3 月15日発行

総 説

DNAワクチンテクノロジーへのサイトカイン遺伝
子の応用研究は21世紀の感染症克服に貢献できる

.....横溝祐一

国内情報

昆虫ウイルスを用いた家畜サイトカインの生産
.....犬丸茂樹

サイトカインの動物臨床への応用
.....板倉敦子・松田浩珍

抗アレルギー評価のためのヒト免疫担当細胞株の樹立
.....山本万里・川原浩治

トランスポゾンによる植物遺伝子タギング法の確立
.....町田千代子・田中博和・岩川秀和・町田泰則

地域の先端研究

薬剤を必要としない新規選抜マーカー遺伝子の開発
—チャにおける利用—丹羽康夫

文献情報

卵細胞質内精子注入 (ICSI) 法による哺乳動物の遺
伝子導入(抄訳:木村直子)

ミトコンドリアDNAは酵母染色体の二重鎖の破損
を修復する(抄訳:家藤治幸)

根粒の発達をコントロールする植物のレギュレーター
.....(抄訳:内海俊樹)

重篤なインスリン低抗性, 糖尿病および高血圧に関
与するヒトPPAR γ の遺伝子突然変異

.....(抄訳:室田一貴)

海外便り

カイコにおけるレトロウイルスベクターの利用

—フランス分子細胞遺伝学センターでの1年間—

.....河本夏雄

特別情報

BRAIN国際テクノフォーラム

—トウモロコシ育種の最前線—(編集部)

生研機構からのご案内

(1) 基礎的研究開発促進事業 (若手研究者支援型)
ならびに研究開発事業成果の紹介

(2) 平成12年度募集について

◀国内情報▶

脂肪のおいしさ

京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻栄養化学分野

今泉 正洋・伏木 亨

従来、脂肪のおいしさの要素として、テクスチャーや匂いに焦点が当てられていたが、我々は、味の重要性に着目している。近年、脂肪酸が口腔内で認識される可能性を示唆する報告がなされており、脂肪にも味があるかもしれない。また、我々はマウスを使った実験により脂肪の口腔内での刺激がD₁受容体を介する中枢神経系の興奮を引き起こし、強化効果を発揮している可能性を見出した。脂肪に対する嗜好性を生じる作用機序の一端を紹介する。

1. はじめに

脂肪は高カロリーである。一般に、糖質が約3.9kcal/gに対して9.2kcal/gといわれている。現代の飽食の時代においては、高カロリーであるがゆえに嫌われるが、本来飢餓の時代が永かった人類にとって、容易に高カロリーが得られるため本質的に好まれる栄養素であることは納得されるであろう。これまでの研究では、このように脂肪は消化後に高カロリーが得られるために嗜好性が生じると言われてきた。しかし、我々は、食べ物を口の中に入れた瞬間に美味しいと感じるものであり、飲み込んでそれが消化された後に、美味しいと感じるわけではない。つまり、食べ物が口腔内で認識され、そのものが本来好ましい食べ物と判断されれば、美味しいと感じると考えられる。一般に、脂肪は上記のように、本来好ましい食べ物であるため、口腔内で脂肪が来たことが認識されれば美味しいと感じられる。従来、脂肪の認識は、テクスチャーや匂いによってなされるものと考えられてきた。しかし、近年、口腔内で脂肪酸が化学受容される可能性が、指摘されている。つまり、脂肪には甘味と同じように、おいしい味があるという可能性が考えられる。

2. 脂肪酸の化学受容

ラットは脂肪を好んで摂取するが、鶴田らは二瓶選択実験において高純度の長鎖脂肪酸をわずかに1%含む液を含まない液(0.3%キサントガム溶液)に対して好んで摂取することを報告している。脂肪酸同士の選択では、オレイン酸<リノール酸<リノレン酸の順に不飽和の数が多いほど好まれ、また脂肪酸は脂肪酸エステルや脂肪酸アルコールより好まれており、脂肪酸が口腔内で化学受容され識別されている可能性を示唆している¹⁾。Gilbertsonらは、単離した舌の味蕾細胞を用いたパッチクランプ法により、高度不飽和脂肪酸の刺激が外向きK⁺電流を抑制することを報告している(表1)²⁾。オレイン酸に応答が見られない点や、応答の強さの順位などで鶴田らの報告と異なっており、幾つかの異なるシステムで脂肪酸が認識されている可能性が考えられる³⁾。脂肪酸受容体の候補蛋白として、福渡らは脂肪酸輸送蛋白(fatty acid translocase: FATまたはCD36)が小腸だけではなく、ラット舌有郭乳頭の味蕾に発現していることを報告している⁴⁾。FATのような蛋白を介して脂肪酸が受容され、そのシグナルが味覚神経を介して脳に伝達され脂肪の味が認識されている可能性が考えられる。先に述べたように脂肪酸が認識されるシステムは複数存在する可能性があり、今後の研究の進展により、通常摂取される脂肪形態であるト

IMAIZUMI Masahiro, FUSHIKI Tohru

〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

表1 脂肪酸による味蕾単離細胞パッチクランプにおける外向きK⁺電流の抑制活性²⁾

飽和脂肪酸	活性	不飽和脂肪酸	活性
カプロイン酸 C _{6:0}	—	パルミトオレイン酸 C _{16:1, n-9}	—
カプリン酸 C _{10:0}	—	オレイン酸 C _{18:1, n-9}	—
ラウリン酸 C _{12:0}	—	リノレン酸 C _{18:2, n-6}	++
ミリスチン酸 C _{14:0}	—	リノレン酸 C _{18:3, n-6}	+
パルミチン酸 C _{16:0}	—	アラキドン酸 C _{20:4, n-6}	++
アラキジン酸 C _{20:0}	—	エイコサペンタエン酸 C _{20:5, n-3}	++
脂肪酸エステル		エルシン酸 C _{22:1, n-9}	—
アラキドン酸メチルエステル	—	ドコサヘキサエン酸 C _{22:6, n-3}	++

リグリセリドそのものが認識される機構も発見されるかもしれない。

3. 脂肪の強化効果

甘味は、好ましい栄養素である糖質を認識する味としておいしいと感じられるが、全くカロリーの無い人工甘味料でも同様に甘味としておいしいと感じられる。これは、甘味自体のシグナルが、脳に好ましい刺激(快刺激)を与えているからと考えることができる。これまで、スクロースなどの甘味物質の刺激による脳内報酬系に対する作用が研究され、スクロースは脳に快刺激を与えることにより強化効果(報酬効果)を持っていることが報告されている。脂肪も、口腔内の刺激により甘味と同様に脳に快刺激を与える可能性はないだろうか?我々は、この疑問に答えるため、一般に依存性薬物の強化効果の測定のために用いられているconditioned place preference test(条件付け位置嗜好性試験)^{5, 6)}により、コーン油の強化効果について検討した。

3-1. Conditioned place preference test (CPP法)

CPP法は、ネズミに環境とある種の刺激の条件付けをした後に、環境に対する好みが増えることにより刺激が快(preference)であるか不快(aversion)であるかを測定する方法である。条件付けする環境としては2種類の異なる箱(明暗、あるいは白黒で、床の材質も異なる)がつながった測定ケージを用

い(図1)、自由に探索行動をさせた際にどちらの箱にどれだけ滞在したかによって環境に対する好みを測定する。条件付けは薬物を投与した後に、一定時間(通常30分)片方の箱に閉じ込めることによってなされるが、我々は、コーン油に対する条件付けとして片方の箱に閉じ込めて自由にコーン油を摂取させるようにした。翌日に別の箱に閉じ込める際には、薬物の代わりに溶媒を投与し、我々の実験ではコーン油の代わりに水を自由摂取させた。この様な条件付けを1日1回、交互に繰り返した(全部で6回程度)後に条件付け前と同様に無処置で測定ケージに入れ、それぞれの箱における滞在時間から環境に対する好みを測定する。薬物で条件付けした箱での滞在時間が有意に増加していればpreference、有意に減少していればaversionとして判定され、preferenceは強化効果の指標と考えられる。

3-2. CPP法におけるコーン油自由摂取の強化効果

我々は、マウスを用いてCPP法におけるコーン油の強化効果について検討した。コーン油を自由摂取させることにより強化効果が認められたが、この作用はコーン油を経口投与により直接胃に入れた際には認められなかった⁷⁾。また、マウスの二瓶選択実験において、10分間という短いサンプル提示時間でマウスは初めからコーン油を含む液を含まない液に対して好んで摂取しており、これらの結果は、消化後の影響ではなく口腔内での刺激によ

てコーン油に嗜好性を示していることが推察される⁹⁾。更に、CPP法における強化効果はドーパミンD₁拮抗薬であるSCH23390の前投与により抑制されることから(図2)、ドーパミン神経系を介して生じていることが考えられる⁷⁾。事実、マウスの口腔内にコーン油を入れ、脳内ドーパミン及びその代謝物の含量を測定した結果から、コーン油の口腔内刺激による大脳皮質におけるドーパミン代謝回転の亢進を見出している⁹⁾。これらの結果から、コーン油の口腔内刺激が脳内ドーパミン神経系を介して強化効果を発揮し、コーン油への嗜好性が生じている機序が示唆される。これまで、欧米を中心多くの脂肪代替物が開発され商品化されているが、普及のための問題は、それらがおいしくないことにある。ここに示した我々の実験結果は、コーン油と同様に口腔内の刺激により脳内ドーパミン神経系が活性化され強化効果を生じる脂肪代替物が開発されれば、たとえカロリーがゼロでも“おいしい”代替物となる可能性を示している。

4. おわりに

一般に食べ物のおいしさには、味、匂い、テクスチャーが関与しているといわれているが、脂肪のおいしさにもこれらが関与しているものと思われる。テクスチャーをまねた脂肪代替物でもある程度までは脂肪の代わりとなり、更に、我々は最近、マウスの行動解析から口腔内で油様のテクスチャーが識別される可能性を示唆するデータも得ている¹⁰⁾。また、匂いが重要なことは、例えば、揚げ油の香りで食欲がそそられる日常の体験からも実感できることである。先のCPP法の実験において、コーン油の口腔内でのどの様な刺激が強化効果を発揮しているかは、今後の検討課題であるが、脂肪のおいしさを考える際に、従来のように“匂いとテクスチャー”だけではなく、甘味などの五原味と同様な意味での脂肪の“味”にも注目していいのではないかと考えている。

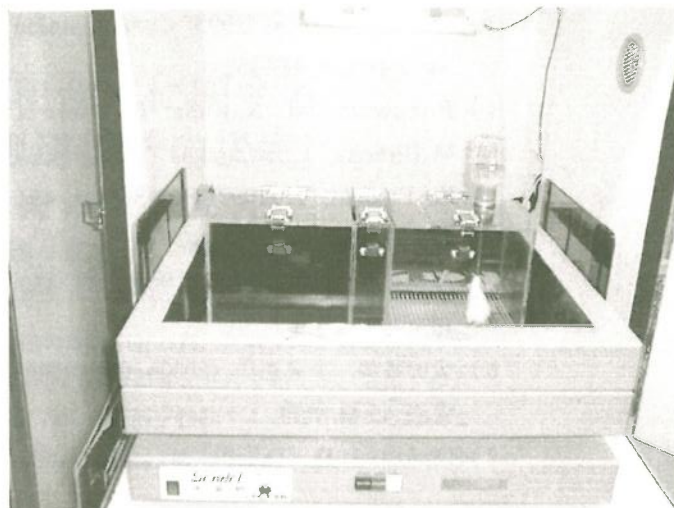


図1 Conditioned place preference法の測定装置 (SCANET MV-10LD, 東洋産業)

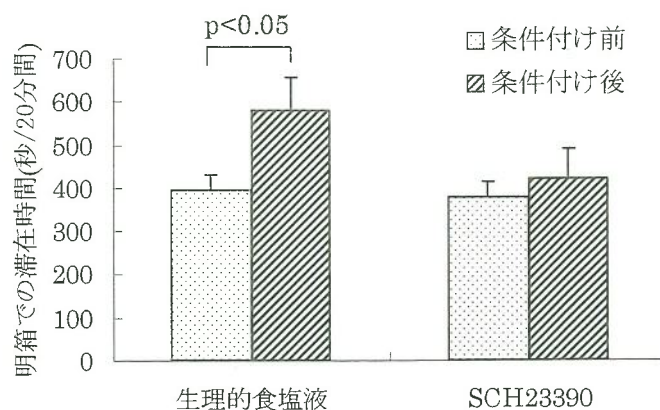


図2 CPP法におけるコーン油による強化効果とドーパミンD₁拮抗薬による阻害作用⁷⁾

明箱でのコーン油自由摂取(条件付け)により明箱でのマウスの滞在時間が有意に増加した(生理的食塩液投与群)。この増加は、D₁拮抗薬であるSCH23390 0.03 mg/kgを条件付け15分前に腹腔内投与することにより消失した。

本研究は未来開拓学術研究推進事業「高度受諾性食資源特性のデザイン」によった。

文献

- 1) Tsuruta, M., Kawada, T., Fukuwatari, T. and Fushiki, T. (1999) *Physiol. Behav.*, 66, 285-288.
- 2) Gilbertson, T.A., Fontenot, D.T., Liu, L., Zhang, H. and Monroe, W.T. (1997) *Am. J. Physiol.*, 272, C1203-C1210.

- 3) Gilbertson, T.A. (1998) *Curr. Opin. Neurobiol.*, 8, 447-452.
- 4) Fukuwatari, T., Kawada, T., Tsuruta, M., Hiraoka, T., Iwanaga, T., Sugimoto, E., Fushiki, T. (1997) *FEBS Lett.* 414, 461-464.
- 5) 今泉正洋 (1995) *化学と生物*, 33, 450-457.
- 6) 武田雅美, 今泉正洋 (2000) *食品機能研究法*, 45-48, 光琳.
- 7) Imaizumi, M., Takeda, M. and Fushiki, T. (2000) *Brain Res.*, 870, 150-156.
- 8) Takeda, M., Imaizumi, M. and Fushiki, T. (2000) *Life Sci.*, 67, 197-204.
- 9) Sawano, S., Takeda, M., Imaizumi, M., Manabe, Y., Kuroda, K. and Fushiki, T. (2000) *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 22, 223-227.
- 10) Imaizumi, M., Sawano, S., Takeda, M. and Fushiki, T. (2000) *Physiol. Behav.*, in press.



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内

第 77 号

2000 (平成12) 年 1 月 15 日発行

巻頭言

21世紀への橋渡し 堤 英隆

総 説

生物農薬—研究開発の現状と課題 鈴井孝仁

国内情報

生物農薬の製剤化技術の研究開発

—ガットUR対策研究開発成果から 田中宏樹

耐乾燥性, 耐塩性, 耐冷性を備えた遺伝

子組換え植物の開発 篠崎和子

作溝型簡易草地更新機の開発と実用化 山名伸樹

地域の先端研究

ニシキゴイのバイオテクノロジー 佐藤 将

文献情報

凍結乾燥法を利用した精子の保存 (抄訳: 横尾正樹)

Lactobacillus delbrueckii subsp. *lactis*

ペプチダーゼ遺伝子群の *Lactococcus*

*lactis*への導入と発現調製 (抄訳: 上野敬太)

単子葉植物と双子葉植物における葉の発生様式の比

較に関する2つの研究報告 (抄訳: 木苗貴秀)

リパーゼを触媒とした構造トリグリセリド合成にお

ける最適反応の検討 (抄訳: 大木健広)

イネいもち病菌の病原性機構に働く

ATP-binding cassette (ABC) Transporter

..... (抄訳: 及川志保)

海外便り

DNAの引き算による病原性関連遺伝子単離の試み

—カリフォルニア大学デービス校における1年間

..... 竹原利明

特別情報

ブレインテクノフォーラム

「質的形質に関するゲノム解析の最前線—イネ・ヒ

ト・家畜まで」概説

◀国内情報▶

アブラナ科自家不和合性に関する 雌ずい側・花粉側遺伝子の決定

株式会社 採種実用技術研究所

畠山 勝徳・高崎 剛志*・日向 康吉

自家不和合性とは、雌ずい・花粉間で自己・非自己の認識が行われ、近親交配が抑制される機構である。この認識に関与する雌ずい側遺伝子はSLGとSRKの両者とされていたが、遺伝子導入実験によって、SRKがその認識特異性を決定し、SLGはその認識を援助することが分かった。また最近、花粉側遺伝子はSP11/SCRと同定された。これらの遺伝子を利用して、育種技術をさらに高度化することが期待される。

1. はじめに

両性花をもつ被子植物の過半の種では、受粉時に、自己の花粉と非自己の花粉を認識して、自己の花粉では受精できず、非自己の花粉によってのみ受精して近親交配を抑制する性質を持ち、自家不和合性といわれる。この性質を利用して、ハクサイ、キャベツ、ダイコンなどのアブラナ科野菜では、性能のよい一代雑種品種（ハイブリッド品種）が育成されており、わが国の育種技術は世界的に評価されている。このようなことから、アブラナ科自家不和合性の機構解明によって、さらなる育種技術の向上が求められているので、当社ではこれを研究目標の一つとしている。また本研究は、文部省の特定領域研究の補助による、東北大学、奈良先端科学技術大学院大学、岩手大学との共同研究の成果でもある。

自家不和合性には幾つかの種類があるが、アブラナ科植物においては、クラシカルな意味での1座位にある、孢子体型S複対立遺伝子系 ($S^1, S^2, S^3, \dots, S^n$) によって、自己・非自己の認識がなされる。花粉と雌ずい間に同一のS遺伝子（同じ番号）がある場合、受粉しても花粉管が柱頭に侵入できない（図1）。S座位には、雌ずいの柱頭で特異的に

HATAKEYAMA Katsunori, TAKASAKI Takeshi,
HINATA Kokichi

〒989-3204 仙台市青葉区南吉成6-6-3

*現：神戸大学 農学部

発現し、S遺伝子間でアミノ酸配列の異なる2種類の遺伝子が密接に関連して存在し、Sハプロタイプとも言われる。すなわち、分泌型の糖タンパク質をコードするSLG（S locus glycoprotein）がまず発見され、膜貫通型のレセプターキナーゼをコードするSRK（S receptor kinase）が後に同定された。

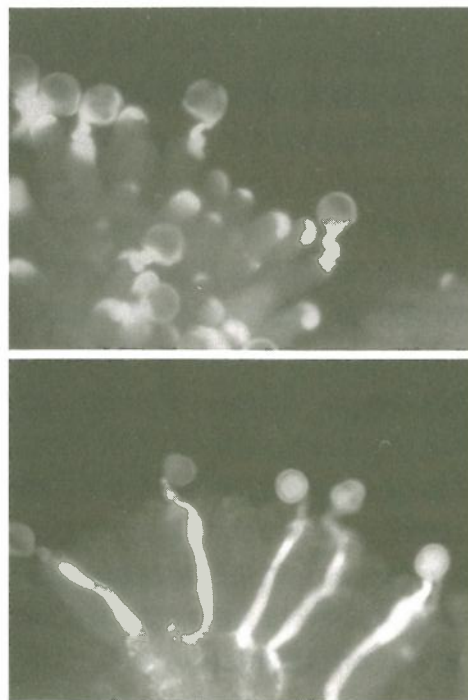


図1 自家受粉と他家受粉

自家不和合性アブラナ科植物を受粉したときに、柱頭と同じS遺伝子を持つ花粉は、花粉管が柱頭に侵入できないが（上図）、S遺伝子が異なるもの間の受粉では、花粉管が柱頭に侵入して、受精結実する（下図）

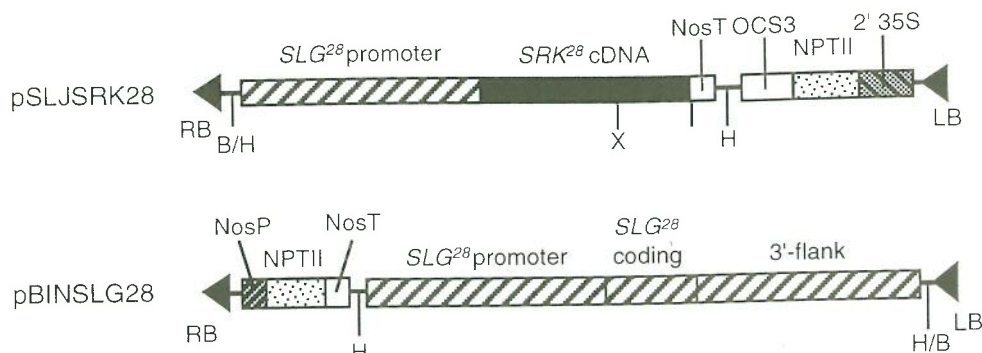


図2 遺伝子導入ベクター、pSLJSRK28とpBINSLG28のT-DNA領域。

H, HindIII; B, BamHI; NosT, ノバリン合成酵素遺伝子ターミネーター, OCS3, オクトピン合成酵素遺伝子の3'領域; 2', マンノピン合成酵素遺伝子2'プロモーター; 35S, 35Sプロモーター; NosP, ノバリン合成酵素遺伝子プロモーター; RB, 右境界領域; LB, 左境界領域。

このSRKは、同じハプロタイプのSLGと相同性の高い領域(Sドメイン)を細胞外に持ち、細胞内領域はセリン・スレオニン型のプロテインキナーゼの活性を示す。各種の状況証拠から、SRKとSLGの両者が雌しべ側の自己花粉認識に関与しているとされていたが、両者の識別困難性などの理由で、それぞれの役割は未解明のままであった¹⁾。

2. SRKが雌ずいの認識特異性を担うことの証明

SRK, SLGの機能を直接的に証明する手段として、我々は遺伝子導入法を取り上げた。そのためには、遺伝子を取得したカブ(*Brassica rapa*)と同じ種に遺伝子を導入する必要があった。そのためまず始めに、遺伝子導入法の検討を行い、アグロバクテリウム法によって、コマツナ品種「おそめ」で安定的に形質転換体を得る技術を確立した²⁾。

また、これまでの遺伝子導入実験では、内在のSRK, SLGと導入SRK, SLG間で、遺伝子配列の類似性に起因するコ・サブプレッションが起こるために、形質転換体の自家不和合性の消去(自家和合性への変化)のみが報告されており、新たなS特異性の付与に成功していなかった^{3, 4)}。一方、Sハプロタイプの配列比較から、それはクラスIとクラスIIに

分類されていたが、我々は多数の材料について、クラス間では相同性が低く、クラスIIのSハプロタイプはクラスIに対して花粉側で劣性を示すことを明らかにした⁵⁾。これらの条件を考慮して、遺伝子導入植物にはクラスIIのS⁶⁰ハプロタイプを選び、導入遺伝子はクラスIのS²⁸から単離したSRKとSLGを用いることとした(図2)⁶⁾。

SRK²⁸遺伝子を導入した17個体の形質転換体は全て自家不和合性であった。導入遺伝子の効果を見るために、S²⁸およびS⁶⁰系統と正逆交配を行った結果、3個体(RK-5, 11, 14)はS²⁸とS⁶⁰の両方の花粉を拒絶し、雌ずいの表現型はS⁶⁰からS²⁸とS⁶⁰の両表現型を持つように変化していた。他の14個体では変化は認められなかった。また、いずれの形質転換体においても、花粉の表現型には変化がなかった。

形質転換体における雌ずい表現型の変化が、SRK²⁸導入遺伝子の発現によることを確かめるために、まず、S²⁸以外のS遺伝子をもつ多数系統の花粉を受粉したところ、いずれの花粉に対しても和合性を示したことから、表現型の変化はS²⁸特異的であることが分かった。次に、形質転換体の雌ずいにおけるSRK²⁸の発現を調査した結果、表現型の変化した3個体の形質転換体では、いずれも導入SRK²⁸が発現していた(図3)。さらに、

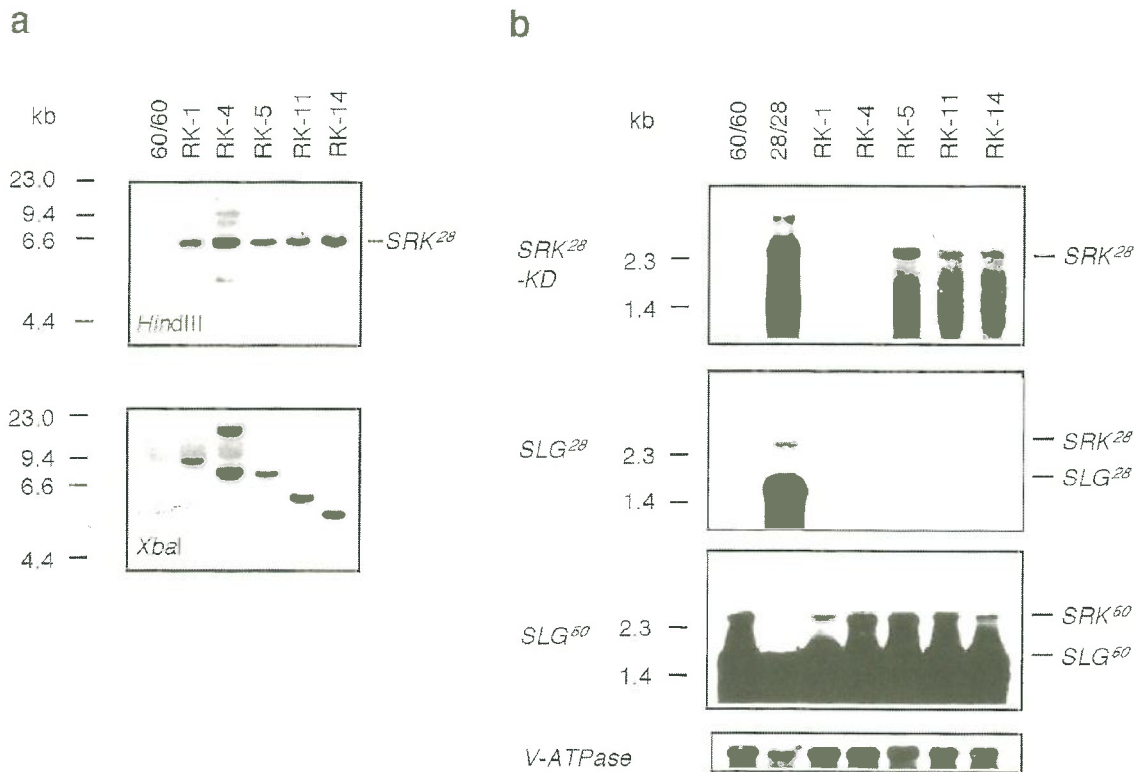


図 3

a : SRK^{28} 形質転換体のサザンブロット分析。 S^{60} ホモ個体 (60/60), 形質転換体 (RK-1, 4, 5, 11, 14) における SRK^{28} 導入遺伝子の存在確認 (上段) 及びコピー数 (下段) を示す。 SRK^{28} のキナーゼドメイン領域をプローブに用いた。
b : 内在の SRK^{28} と導入 SRK^{28} 遺伝子の発現。左側に用いたプローブを示す。 S^{60} ホモ個体, S^{28} ホモ個体, SRK^{28} 導入形質転換体 (RK-1, 4, 5, 11, 14) における SRK^{28} の発現。

表現型の変化した個体の自殖次代及び交雑後代を展開してその遺伝性を検討した結果, 導入遺伝子の存在の認められた個体は, いずれも雌ずいの表現型が変化しており, また導入遺伝子の発現も認められた。内在する SRK^{60} , SLG^{60} の発現に変化は認められなかった。以上の結果から, SRK がアブラナ科自家不和合性において, 雌ずい側の直接の認識物質であることが明らかになった⁶⁾。

3. SLG は認識を補助することの示唆

SLG の機能を明らかにするために, プロモーターを含む SLG^{28} ゲノミッククローンを「おそめ」($S^{52}S^{60}$)に導入した。4個体 (LG-1~4)の形質転換体において導入遺伝子が認められ, 抗体反応によれば, 1個体 (LG-2)の柱頭で SLG^{28} タンパク質の高い発現が認められた。しかし, この個体の自家不和

合性表現型には変化がなく, SLG 単独では, 認識に関与しないことを確かめた。

自家不和合性反応における SLG の役割について検討するために, SLG^{28} と SRK^{28} を導入したそれぞれの系統間および他系統との交雑を行い, S^{60} の遺伝子背景を持ち, SRK^{28} のみをヘテロに持つもの, SRK^{28} と SLG^{28} の両者をヘテロに持つものそれぞれ4~6個体を育成し, それぞれに S^{28} 花粉を受粉したときの平均種子数を比較した (表1)。その結果, 導入した SRK^{28} を持つ全ての個体は, S^{28} 花粉に対して不和合性を示したが, SLG^{28} の有無により, 得られる平均種子数に差異がみられた。すなわち, $S^{60} \times RK-5$ (SLG^{60} を有する)では1.9粒であったのに対して, SRK^{28} と SLG^{28} の両方が発現する $LG-2-3 \times RK-5$ (SLG^{28} , SLG^{60} を有する)では, $S^{28}S^{60}$ ヘテロ系統の場合と同じ0.2粒であった (表1 AとB)。このことは, SRK^{28} をもつ個体に, SLG^{28} を併せ持

表1 SRK²⁸およびSLG²⁸を組み合わせた各種系統の自家不和合性表現型とS²⁸花粉を受粉したときの1花あたり平均種子数

	交雑後代	S遺伝子型			自家不和合性表現型		観察個体数	交配花数	1花あたりの平均種子数
					柱頭	花粉			
A	S ⁶⁰ × RK-5	S ⁶⁰ /S ⁶⁰ , SRK ²⁸ /-, -/-	-/-	-/-	S ²⁸ S ⁶⁰	S ⁶⁰	6	375	1.9
		S ⁶⁰ /S ⁶⁰ , -/-, -/-	-/-	-/-	S ⁶⁰	S ⁶⁰	5	104	15.3
	S ⁶⁰ ホモ系統	S ⁶⁰ /S ⁶⁰ , -/-, -/-	-/-	-/-	S ⁶⁰	S ⁶⁰	6	54	10.9
B	LG-2-3 × RK-5	S ⁶⁰ /S ⁶⁰ , SRK ²⁸ /-, SLG ²⁸ /-	-/-	-/-	S ²⁸ S ⁶⁰	S ⁶⁰	5	383	0.2
		S ⁶⁰ /S ⁶⁰ , -/-, SLG ²⁸ /-	-/-	-/-	S ⁶⁰	S ⁶⁰	4	259	14.5
	S ²⁸ S ⁶⁰ ヘテロ系統	S ²⁸ /S ⁶⁰ , -/-, -/-	-/-	-/-	S ²⁸ S ⁶⁰	S ²⁸	4	194	0.2
C	S ⁵² × RK-5	S ⁵² /S ⁶⁰ , SRK ²⁸ /-, -/-	-/-	-/-	S ²⁸ S ⁵² S ⁶⁰	S ⁵²	6	312	1.1
		S ⁵² /S ⁶⁰ , -/-, -/-	-/-	-/-	S ⁵² S ⁶⁰	S ⁵²	5	118	14.9
	S ⁵² S ⁶⁰ ヘテロ系統	S ⁵² /S ⁶⁰ , -/-, -/-	-/-	-/-	S ⁵² S ⁶⁰	S ⁵²	4	42	15.9

たせると、S²⁸花粉を拒絶する能力が高まったことを示す。またクラスI遺伝子、S⁵²系統との交雑後代を比較のために検討したところ、S⁵² × RK-5 (SLG⁵², SLG⁶⁰を有する)では、中間の1.1粒であった(表1C)。SRK²⁸のSドメインと各SLG間の相同性は、SLG²⁸(98%), SLG⁵²(76%), SLG⁶⁰(65%)であり、SRKのSドメインとSLGとの相同性が高いほど強い不和合性反応を示したことになる。SLGは、自家不和合性の認識に直接関与しないが、SRKによる認識を援助していることが示唆された⁶⁾。

4. 花粉側の遺伝子

最近、アメリカと日本の研究グループから相次いで花粉側の認識遺伝子の同定について報告されたので一言紹介したい^{7, 8, 9)}。前者はSCR遺伝子、後者はSPII遺伝子としているが同じものである。花粉側遺伝子と雌ずい側遺伝子は同じ座位に存在することから、日本グループでは、まずSRK/SLGを含む約80kbのシーケンスを明らかにし、その中に薬で発現する遺伝子を特定し、その候補遺伝子を得た¹⁰⁾。そして、受粉時のSRKとの相互作用等の解析から、SPII発現タンパク質が特異的に和合受粉反応を阻害することを示し、この遺伝子が花粉側の直接の認識物質であると指摘している^{8, 9)}。花粉側遺伝子は、SRKと密に連鎖し、70個程度のアミノ酸をコードし、よく保存されたシステイン残基を持つが、システイン残基間のアミノ酸にはS遺伝子間で変異が大きい¹¹⁾。

5. おわりに

アブラナ科植物の自家不和合性における認識物質が、雌ずい側、花粉側で特定できた。今後は、これら遺伝子によって作られるタンパク質間の認識反応機構解析と認識反応による花粉管の雌ずい中への侵入停止機構の研究へと前進するだろう。また進化的観点から、このような遺伝的機構がどのような経緯でアブラナ科植物に生じたのかも興味ある課題である。さらに、これら遺伝子を導入することによって、自家不和合性表現型の人為的制御が可能となり、新たな育種技術の展開がなされると期待している。

文献

- 1) Watanabe, M., et al.(1999) Plant Biotech. 16: 263-272.
- 2) Takasaki, T., et al. (1997) Breeding Science 47: 127-134.
- 3) Conner, JA., et al. (1997) Plant J. 11: 809-823.
- 4) Takasaki, T., et al. (1999). Plant Mol. Biol. 40: 659-668.
- 5) Hatakeyama, K., et al. (1998) Genetics 149: 1587-1597.
- 6) Takasaki, T., et al. (2000) Nature 403: 913-916.
- 7) Schopfer, CR., et al. (1999) Science 286: 1697-1700.
- 8) Takayama, S., et al. (2000a) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97: 1920-1925.
- 9) Takayama, S., et al. (2000b) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97: 3765-3770.
- 10) Suzuki, G., et al. (1999) Genetics, 153: 391-400.
- 11) Watanabe, M., et al. (2000) FEBS Letters 23647: 1-6.

◀国内情報▶

米品質測定評価装置の開発

生研機構 生産システム研究部

杉山 隆夫

米の品質を迅速かつ高い精度で測定・評価するため米品質測定評価装置を開発した。同装置は米をホッパに投入すると、自動で玄米及び精米の外観品質（整粒割合、未熟粒割合、完全粒割合等）、内部品質（水分、蛋白質含量、アミロース含量、食味推定値等）が同時に測定でき、従来方式に比べて大幅な省力化が図れるメリットがある。

はじめに

新食糧法の施行により、米の流通機構が大きく変わり、自主流通米のウエートが大きくなる一方、消費者の良質・良食味米指向も年々高くなっている。また、米の成分表示が可能になり、これに対応するため成分検査も実施されるようになった。このことから、米の品質を迅速かつ高い精度で測定・評価できる機器の開発が要望されていた。

そこで、生研機構では、農業機械等緊急開発事業（略して緊プロ事業）の一環として、農業機械メーカー5社（井関農機（株）、（株）クボタ、（株）ケット科学研究所、（株）佐竹製作所、静岡製機（株））と共同で、米の水分、千粒重、整粒割合等の一次的品質と食味に関連する二次的品質を測定し、総合的に品質表示を行う装置を開発した。ここでは、開発した米品質測定評価装置の概要を報告する。

1. 研究開始当初の市販機の現状

米の品質には整粒割合、未熟粒割合、被害粒等の品目別割合や千粒重等の外観品質と水分、成分、食味評価値等の内部品質がある。前者については、穀粒選別器や胴割れ測定器等が、後者については、食味評価装置や水分計等が市販され、普及し始めているが、問題点を抱えている機種も多い。そのいくつかを

SUGIYAMA Takao

〒331-8537 大宮市日進町1-40-2

取りまとめると次の通りである。

(1) 食味に関連する成分の1つとして、蛋白質含量を重視している場合が多く見られるが、市販されている食味評価装置の表示している測定値はドライベース表示であるのか、ウェットベース表示であるのかははっきりしない場合が多い。例えば15%の水分で蛋白質含量（ドライベース）が7%の玄米の場合、ウェットベースで表示すると、蛋白質含量は6.1%となり約1%異なる。このように機械の精度以前に表示内容の定義を明示していない機種が多かった。

(2) アミロース含量も蛋白質含量と同様であった。先ず表示内容については、アミロース含量を澱粉中のアミロースの含有率で表示する場合と米中のアミロースの含有率で出す場合があり、両者の場合蛋白質含量や水分等により値が異なっていた。また、それぞれの測定器の検量線を作るための理化学分析方法も統一されてなく、その方法で数%の違いが出ることもあった。

(3) 食味推定値については、測定値が機種間で異なる場合が多く見られ、食味官能試験の方法や基準米の点数自体も違っている場合が多かった。

2. 生研機構の開発研究の進め方

前記の問題点を解決し、外観品質及び内部品質の両面から米の品質を測定評価できる米品質測定評価装置を開発するため、次の点に

ついて重点的に研究を進めた。

- 1) 米品質測定評価装置の主要構成要素である外観品質測定部と内部品質測定部の精度向上と表示内容の統一。
- 2) 一定の歩留まりまで自動的にとう精可能な自動精米装置の開発。
- 3) 分配部や制御表示部の開発と各部通信仕様の統一。
- 4) これらの機器を取りまとめた米品質測定評価装置の開発。

3. 品質測定評価装置の構造概要

1) 品質測定評価装置の構造

品質測定評価装置は、米の水分、千粒重、整粒割合等の一次的品質と蛋白質含量、アミロース含量等の食味に関連する二次的品質を測定し、総合的に品質表示を行う装置であり、投入した玄米から、玄米と同時に精米の品質

を測定する装置（Ⅰ型）と玄米又は精米を各々投入して品質を測定する装置（Ⅱ型）を開発した。図1に米品質測定評価装置Ⅰ型の測定フローを、図2に開発機（Ⅰ型）の一例を示す。

米品質測定評価装置は、ホツパ、分配部、精米部（Ⅰ型のみ）、外観品質測定部、内部品質測定部、制御表示部から構成し、米を投入後は測定から結果の表示までを自動的に行う方式となっている。主要部は次の通りである。

(1) 外観品質測定部 外観品質測定部は、供試した米1粒づつに光を照射し、透過した光と反射した光の色と光量から品目別に選別分離する装置である。選別品目は、玄米では6品目（整粒、未熟粒、被害粒、着色粒、死米、胴割れ粒）、精米では5品目（完全粒、粉状質粒、被害粒、着色粒、碎粒）とした。

(2) 内部品質測定部 内部品質測定部は、

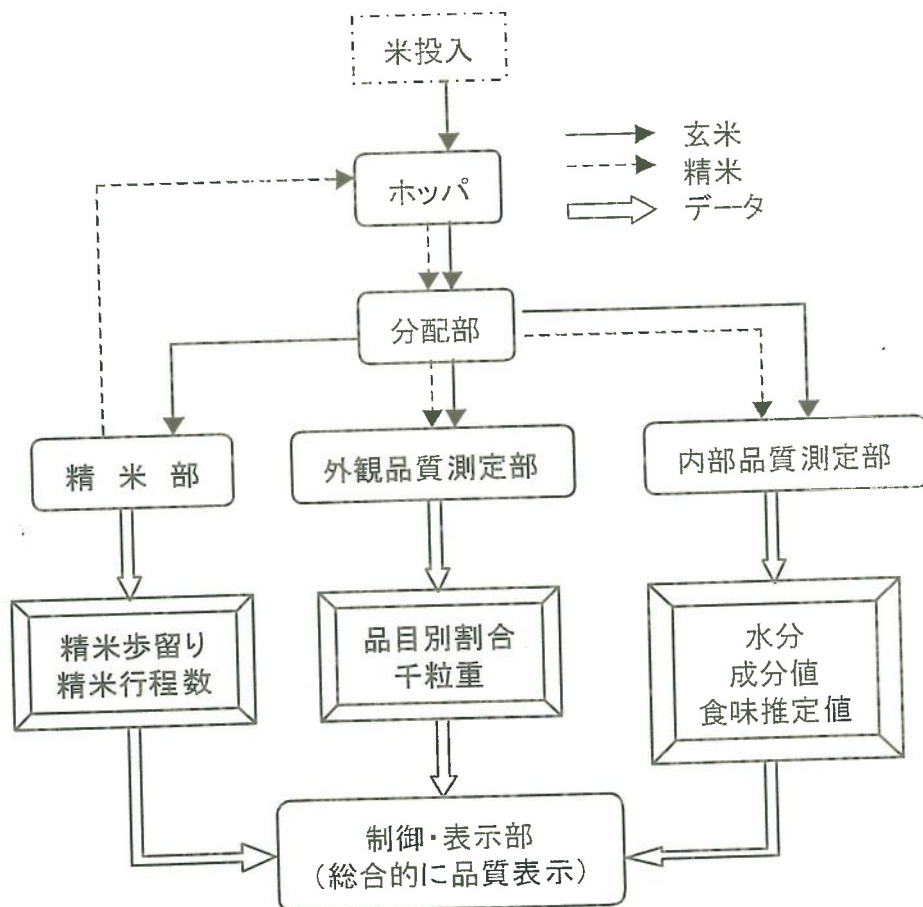


図1 米品質測定評価装置Ⅰ型の即例フロー

未粉碎全粒式の近赤外線分析装置で、玄米及び精米について、水分含量、蛋白質含量、アミロース含量、脂肪酸度、食味推定値を測定するようになっている。

(3) 精米部 精米部は、縦型の摩擦式自動精米機であり、精米抵抗を自動的に調節しながら、一定の精米歩留まり(90%)までとう精する装置である。

(4) 制御・表示部 各部をRS232Cで接続し、制御するとともに、精米部、内部品質測定部、外観品質測定部のデータを統括し、総合的に品質表示を行う装置である。図3に表示の一例を示す。

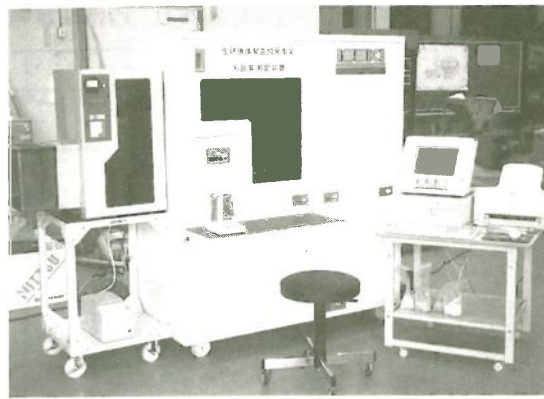


図2 米品質測定評価装置I型の一例

2) 開発機械の測定モード

I型は、玄米供給・玄米及び精米の品質測定、玄米供給・玄米の品質測定、精米供給・精米の品質測定、の3測定モードが、II型は、玄米供給・玄米の品質測定、精米供給・精米の品質測定、の2測定モードが可能である。

よって異なるが、玄米供給・玄米及び精米の品質測定の測定モードで500~700g程度、他の測定モードで100~350g程度である

II型の測定に必要なサンプル量は、機種によって異なるが、いずれのモードも100~350g程度である。

3) 必須サンプル量

I型の測定に必要なサンプル量は、機種に

4. 米品質測定評価装置の主要な研究成果

1) 外観品質測定部と内部品質測定部の表示内容の統一

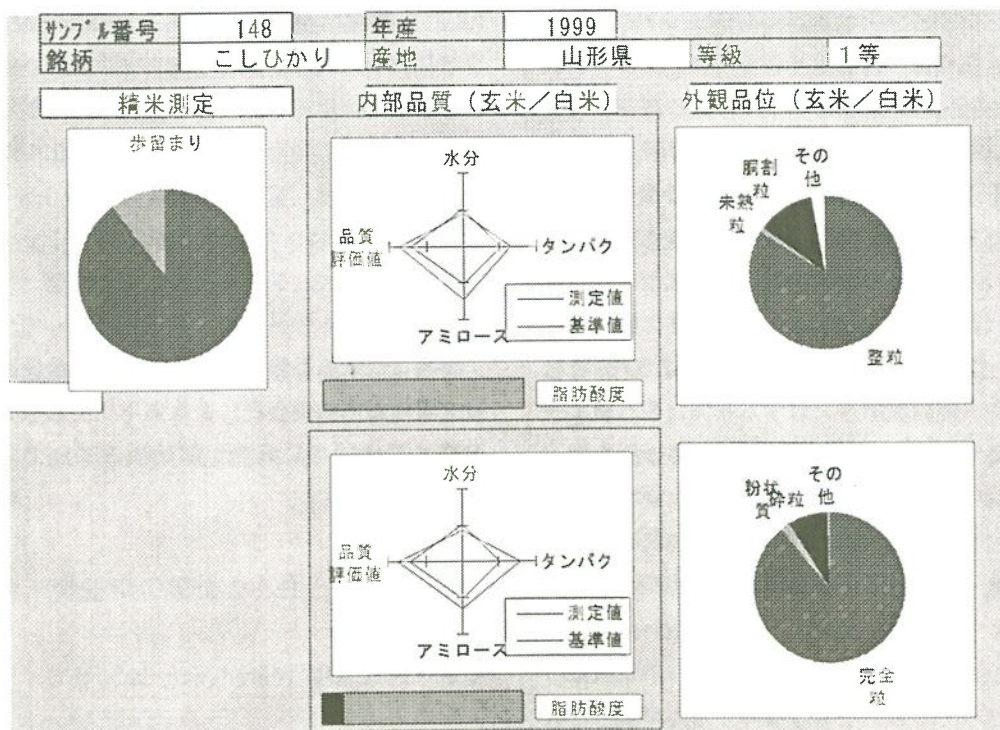


図3 米品質測定評価装置の表示例

表1 内部品質測定部の表示の統一内容

	玄米	精米	基準試験方法
水分	玄米中の水分の比率 (W.B.%)	精米中の水分の比率 (W.B.%)	食糧庁標準計測方法 (5g 粉砕 105°C-5h 法)
蛋白質含量	玄米中の蛋白質の比率 (D.B.%)	精米中の蛋白質の比率 (D.B.%)	ケルダール法
アミロース含量	精米澱粉中のアミロースの比率 (%)		フリーノ法 (未脱脂法)
脂肪酸度	玄米 100g を中和するのに要する KOH の mg 量 (D.B.mgKOH)		食糧庁標準計測方法 (滴定法)
食味推定値	日本穀物検定協会の食味官能試験 (総合値)	+ 1 : 90 点 0 : 70 点 - 1 : 50 点	日本穀物検定協会の食味官能試験方法

(1) 外観品質測定部

外観品質測定装置の選別品目を統一した。すなわち、玄米については、整粒、未熟粒、被害粒、着色粒、死米、胴割れ粒の6品目に、精米については完全粒、粉状質粒、被害粒、着色粒、破碎粒の5品目に選別するようにした。

(2) 内部品質測定部

参画各社の内部品質測定部 (近赤外線分析装置) の測定結果の統一化を図るため、表1のように表示内容の統一と検量線を作成するための理化学分析方法及び食味官能試験方法の統一を行った。

2) 開発機の性能

(1) 外観品質測定では、測定した一次的品質 (整粒割合、完全粒割合、未熟粒割合等) の手選別結果に対する相関は現行機よりも高く、また予測標準誤差も小さかった。

(2) 内部品質測定では、測定した一次的品質 (水分)、二次的品質 (蛋白質含量、アミロース含量、食味推定値等) の理化学分析結果や官能試験結果に対する相関は現行機よりも高く、また予測標準誤差も小さかった。

(3) 開発した米品質測定評価装置は、供給から測定・表示まで円滑に行うことができ

た。1サンプル当たりの測定時間は、I型の場合、玄米供給・玄米及び精米の品質測定の場合、測定モードで精米時間も含めて6~9分、他の測定モードで2~3分であった。また、II型の場合はいずれの測定モードでも2~3分であった。これは、いずれも従来の測定システムに比べて1/3程度の測定時間であった。

5. 開発機の効果

(1) 各品質測定部の表示内容の統一と精度向上が図られたため、高精度で信頼性の高い米品質評価が可能となる。

(2) 玄米及び精米の外観品質 (整粒割合、未熟粒割合、完全粒割合等)、内部品質 (水分、蛋白質含量、アミロース含量、食味推定値等) が同時に測定でき、大幅な省力化が図れる。

おわりに

開発した米品質測定評価装置は、新農業機械実用化促進株式会社による実用化促進事業を経て平成13年に販売を開始する予定である。

◀地域の先端研究▶

ミカンの搾り粕を利用したキトサンの発酵生産

愛媛県工業技術センター

宮岡 俊輔

キチン質、特にキトサンの安定かつ高品質な製造法の確立を目的として、微生物を用いたキトサンの発酵生産技術に取り組んだ。我々はケカビを使用し、柑橘類ジュースの粕より得た廃糖蜜（シトラス・モラセス）を栄養源として培養、増殖させた菌体からキトサンを抽出するキトサン生産技術について研究した。培養条件等の最適化によりキトサン生産効率の向上を図るとともに、微生物から得られるキトサンの特徴を検討しアセチル基の分布構造に特徴があることを見いだした。

1. はじめに

キチン質は、セルロースやでんぷんなどと同様に生物体を構成する成分で、年間生産量が多いバイオマス資源である。その推定年間生産量は1億トンとも、セルロースに匹敵する100億トンともいわれており、その有効利用が期待されている。近年、この物質の生体に対する各種機能の解明が急速に進んでくるにともないその将来性が注目され機能性を生かした応用研究も盛んになってきている¹⁾。

キチン質は、現在カニ殻、エビ殻などの加工食品廃棄物から製造されているが、この方法は原料の安定供給や品質の安定、製造工程で排出される濃厚廃液など多くの課題を有している。

そこで、我々はキチン質、特にキトサンの安定かつ高品質な製造法の確立を目的として、微生物を用いたキトサンの発酵生産技術に取り組んだ。我々はケカビを使用し、柑橘類ジュースの粕より得た廃糖蜜（シトラス・モラセス）を栄養源として培養、増殖させた菌体からキトサンを抽出する方法について検討した。

2. 微生物の菌体から得られる成分

ケカビ (*Absidia butleri* HUT1001) を培
MIYAOKA Shunsuke
〒791-1101 愛媛県松山市久米窪田町487-2

養し、そこから、小林らの方法²⁾ に準じてキトサンを抽出した。すなわち、菌体に2%水酸化ナトリウム溶液を加え、115℃、60minオートクレーブ処理した後、濾過・洗浄した。このアルカリ不溶物に2%酢酸を加え、一昼夜抽出し遠心分離した。上澄液に水酸化ナトリウム溶液を滴下してpH8.5に調整、生じた沈殿を遠心分離した。このようにして処理したアルカリ不溶物、酸抽出物及び酸抽出残渣の赤外吸収スペクトル、元素分析を行った。

各成分の赤外吸収スペクトルをキトサン及びキチンの標準品と比較したところ、酸抽出物はキトサン、酸抽出残渣はキチンと同定された。元素分析による各成分の炭素と窒素の割合から脱アセチル化度を計算すると酸抽出物が74%、酸抽出残渣が8%との結果を得た。元素分析の結果も、酸抽出物はキトサン（脱アセチル化度が70~80%程度）、酸抽出残渣はキチンであることを示していた。

3. キチン・キトサン生産の効率化

効率的なキトサン生産技術を開発するため、微生物培養条件が菌体内のキトサン成分に与える影響を検討した。種々の培養条件を検討したが培地濃度が最も大きな影響を及ぼすことがわかった。

基礎培地に比べ炭素源、窒素源濃度を5倍とした濃厚培地で培養し含まれるキチン及びキトサンの量を測定した。その結果濃厚培地

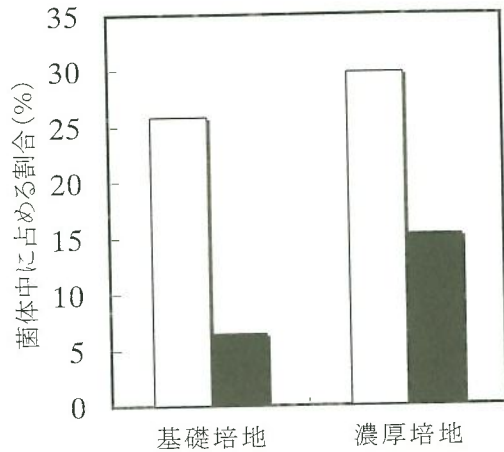


図1 培地濃度の違いによる菌体中のキチン質成分の変化

□, アルカリ不溶物; ■, キトサン; 培養時間, 120h.

では基礎培地の場合に比べて菌体及び、アルカリ不溶物量がそれぞれ3.0倍、3.4倍となった。また、キトサン量が特に多くなり、濃厚培地では約5倍量得ることができた。菌体中のアルカリ不溶物及びキトサンの割合の変化を図1に棒グラフで示す。培地濃度を濃くすることによって、アルカリ不溶物の総量は3.4倍に増加するが、菌体中の割合でみるとほとんど変わらず、量の増加は菌体量の増加によるものであることがわかる。これに対して、キトサンの菌体中にしめる割合は、約2倍(6%から14%へ増加)となっている。すなわち、アルカリ不溶物中のキトサンの割合が

約2倍に増加しており、培地濃度を上げることによるキトサン量の増加は、菌体量の増加とキトサン合成の活性化という2つの要因によるものといえる。アルカリ不溶物の大部分はキチン・キトサンと考えられ、培地濃度を上げることによりキチンを脱アセチルする反応が活性化すると推定される。

4. シトラス・モラセスの培地としての性質

柑橘100kgを搾ると約45kgの果汁が得られ、残渣が55kgとなる。残渣は多くの水分を含んでいるため石灰を混合して離水させ、再度脱水する。このとき得られる搾汁液がシトラス・モラセスでありBrix10の糖度のものが17.6kg得られる。シトラス・モラセスは多くの糖分が含まれているため、培地として有望であるが、一方窒素分が少し不足している。実験で使用している基礎培地(2%Glucose, 0.1%Yeast extract, 1%Polypeptone, 0.1%K₂HPO₄, 0.05% MgSO₄·7H₂O, 0.5%(NH₄)₂SO₄, 0.01%CaCl₂·2H₂O, pH4.5)と窒素分/糖分を比較すると、基礎培地0.13に対し、Brix 6に希釈したシトラス・モラセスで0.02と1/6である。図2は、シトラス・モラセス培地に窒素分の添加の効果を示したも

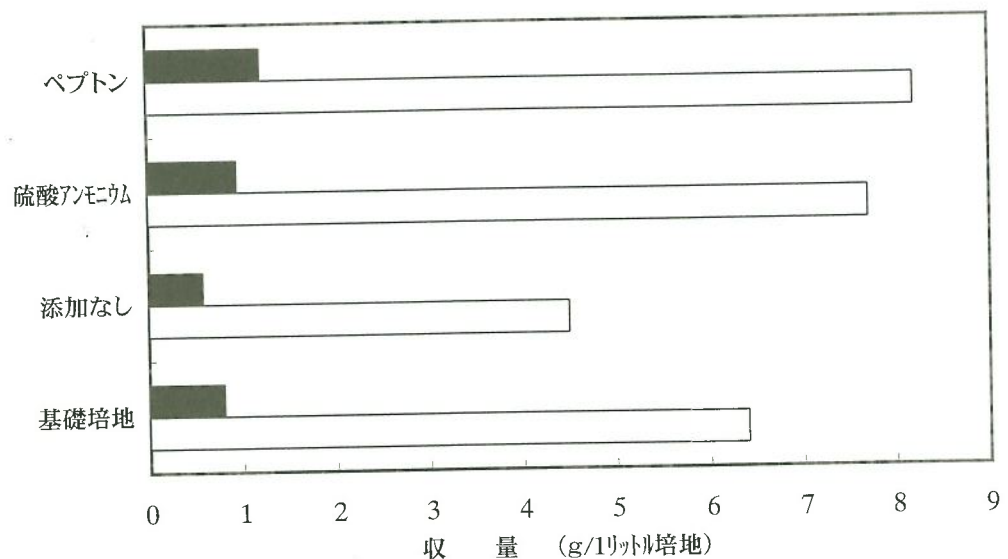


図2 シトラス・モラセス(Brix 6)へ窒素分を添加したときの菌体及びキトサンの収量

□: 乾燥菌体, ■: キトサン, 硫酸アンモニウム及びペプトンは10g/リットルとなるように添加した。

のである。添加をしない場合は、菌体及びキトサンの収量は基礎培地の7割程度であるが、窒素源を1ℓあたり10g加えることにより改善し基礎培地以上の収量となった。キトサンの収量は硫酸アンモニウムを加えると基礎培地の1.2倍、ペプトンでは1.5倍に増加した。このように窒素分を加えることによってシトラス・モラセスは優秀な培地となることがわかった。

5. 微生物によるキチン質の生産性

30L容ジャーフェーマンターにより培養した菌体より各成分を抽出しキトサン生産の収率を検討した。培養には液体培地（6% Glucose, 0.5%Yeast extract, 1%Tryptone, 0.2%K₂HPO₄, 0.1%MgSO₄・7H₂O, 0.5%(NH₄)₂SO₄, 0.02%CaCl₂・2H₂O, pH 4.5) 20ℓを使用した。

表1に得られた各成分の量および菌体中に占める割合を示す。1ℓの培地から2.5gのキトサン, 1.7gのキチンを得ることができた。

表1 *Absidia butleri* HUT1001株を用いたキトサン生産の収率

	収量 (g)	収率 (g/リットル培地)	菌体中の割合 (%)
菌体重量(湿菌体)	3,800	190	—
菌体重量(乾燥菌体)	320	16	100.0
アルカリ不溶物	98	4.9	30.6
キトサン	45	2.5	14.1
キチン	33	1.7	10.3

液体培地20ℓを用い、孢子濃度1×10⁴spores/ml培地となるように接種、温度28℃、通気量10ℓ/min、攪拌翼回転数200rpmで48時間ジャーフェーマンターにより通気培養した。

6. 微生物キトサンの構造

微生物キトサンの特性を明らかにするため、甲殻類由来キトサンの構造を比較した。ケカビ(*Absidia butleri* HUT1001)から抽出したキトサンをOHTAKARAらの方法³⁾に準じてキチナーゼ(Sigma社:*Streptomyces*

*griseus*由来)による酵素分解を行い、生成したオリゴ糖をHPLC分析し、微生物から得たキトサンと市販の甲殻類由来のキトサンの構造の違い、特にアセチル基の分布について検討を加えた。

市販キトサンは甲殻類から得られたキチンを濃厚なアルカリ溶液により脱アセチル化することによりキトサンとしている。この方法はいわゆる不均一系での脱アセチル化⁴⁾であるためアセチル基がブロック状に偏りを持って分布している。これに対し、微生物から得たキトサンは生合成過程で脱アセチル化されているため、このような偏りが無いことが予想される。実際、平山は、両者の粉末X線回折の結果から、微生物キトサンのアセチル基の分布はランダムであり、市販キトサンのそれはブロック状になっていることを推測している⁵⁾。

ところで、*Streptomyces griseus*由来微生物キチナーゼは、GlcNAcの周辺を切断するため、部分アセチル化キトサンは切断可能である。また、この酵素はGlcN-GlcN結合は切断せず、GlcNAc-GlcNAcあるいはGlcNAc-GlcNを切断する⁶⁾。2種類のキトサンが図3に示すような理想的なアセチル基の分布をしていると仮定すると*S. griseus*キチナーゼは図の矢印部分を切断することができる。矢印部分を切断した場合、生成する可能性のあるオリゴ糖のパターンは、図4に示すとおりである。すなわち、2種類のキトサンが予測される構造でかつその脱アセチル化度が80%と仮定すると、微生物キトサンは5糖の均一なオリゴ糖に、また甲殻類由来キトサンはGlcNAcオリゴ糖と比較的高分子キトサンになるはずである。

*S. griseus*由来キチナーゼによる2種類の部分アセチル化キトサンの分解生成物をHPLC分析し、そのオリゴ糖(1から6糖)構成割合を図5に示す。図5によると、市販キトサンと微生物キトサンの分解物において2糖の生成量が大きく異なることがわかる。*S.griseus*キチナーゼは、エンド型キチナーゼであり、GlcNAc単糖に分解する能力はなく、

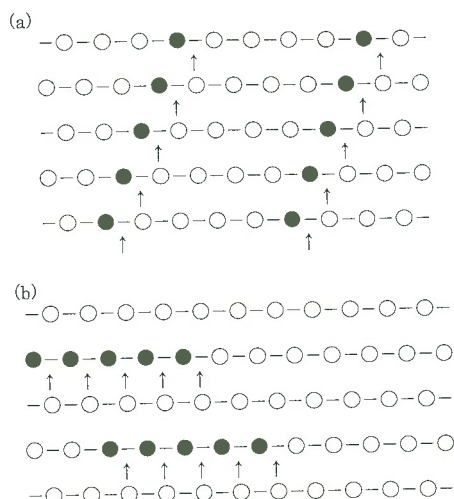


図3 部分アセチル化キトサンの構造模式図

脱アセチル化度80%と仮定 (a) 微生物キトサン及び均一系脱アセチル化されたキトサン, (b) 不均一系で脱アセチル化されたキトサン, —●—, GlcNAc;—○—GlcN;↑, *Streptomyces griseus*キチナーゼが切断できる結合。

最小2糖の単位に分解することが多い。つまり, *S. griseus*キチナーゼによる分解で, 2糖の生成が多いということはGlcNAc連続部分が多いことを示しており, 逆に2糖の生成が少ないということはGlcNAc連続部分が少ない, つまりGlcNAc基は分散していることを示していると推定される。すなわち, 当初予測していたとおり, 微生物キトサンではアセチル基を有したGlcNAc基が, 市販キト

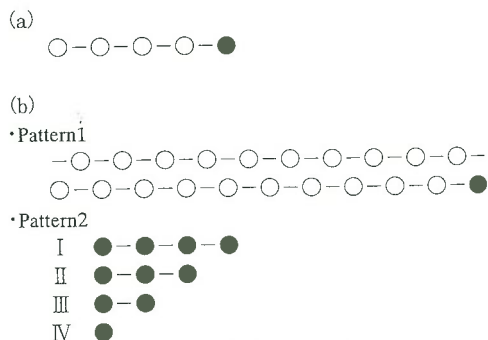


図4 部分アセチル化キトサンを *Streptomyces griseus*キチナーゼで分解したときに生じるオリゴ糖模式図

(a) 図3 (a) のキトサンより生じるオリゴ糖. (b) 図3 (b) より生じるオリゴ糖. 記号は図3に同じ。

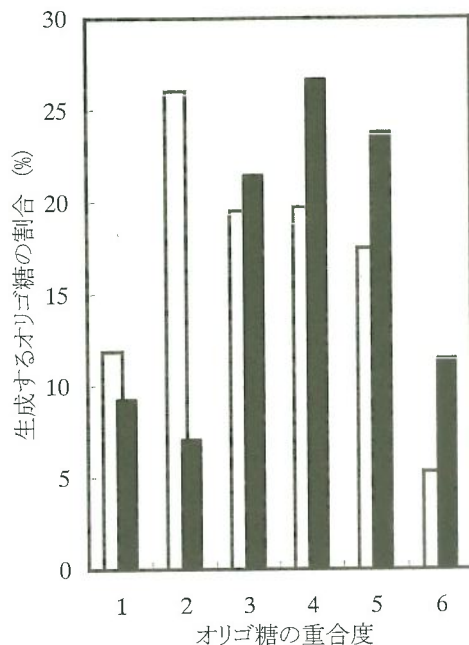


図5 部分アセチル化キトサンを *S. griseus*キチナーゼで分解したときに生成するオリゴ糖

□微生物キトサン ■キトサン100 (和光純薬工業(株)製, 試薬一級), 不均一系で脱アセチル化したもの. オリゴ糖の割合はHPLCにより測定した。

サンに比較して均一に分散していることを示している。また, 微生物キトサン分解物では, 3~5糖の生成に特化しており, この3つの糖で全体の72%を占める。図4に示すように, 理想的にGlcNAc基が均一に分散している場合, 生成するオリゴ糖は5糖のみとなる。図4のように脱アセチル化度80%を想定すると, 5糖となるが, 脱アセチル化度75%の場合を想定すると4糖の生成となる。対象とする物質が生体高分子であり, すべてが理想的な状態ではないが, 4糖を中心に3, 4, 5糖に特化している今回の結果は, 想定したモデルを指示すると考えるのが妥当であろう。

以上, 2つの側面から考察したが, これらの結果は, 微生物から抽出したキトサンのアセチル基は均一に分布していることを強く示唆するものであった。また, このようなアセチル基の均一に分布したキトサンは, 酵素等による選択的な切断が可能であるため, 近年注目されている6糖周辺に狭い分子量範囲を

持ったキトオリゴ糖の生成基質として有用なものと考えられる。「部分アセチル化キトサン、キトオリゴ糖混合物及びキトオリゴ糖の製造法」(特願平11-64901)として特許出願中)

文献

- 1) キチン, キトサン研究会編 (1994): キチン, キトサンハンドブック, 技報堂出版 (東京), 302-535.
- 2) 小林 丘他 (1988) 農化 62, 1463-1469.
- 3) Akira Ohtakara他 (1990) Agric. Biol. Chem. 54, 3191-3199.
- 4) Keisuke Kurita他 (1977) Makromol. Chem., 178, 3197-3202.
- 5) 平山和子 (1998) キチン・キトサン研究, 4, 301-307.
- 6) キチン, キトサン研究会編 (1994): キチン, キトサンハンドブック, 技報堂出版 (東京), 71-72.
- 7) キチン, キトサン研究会編 (1991): 最後のバイオマスキチン, キトサン, 技報堂出版(東京), 189-222.

(本研究は, 中小企業庁地域活性化連携事業費補助金によりなされたものである。)

◀地域の先端研究▶

レーザー光による農産物生育情報の 非破壊モニタリング技術

信州大学工学部
齊藤 保典

農産物の生育情報を非破壊・無侵襲にモニタリング可能な手法として、レーザー誘起蛍光法を提案した。可搬型蛍光モニタリング装置を製作し圃場内で育成中のレタスの蛍光スペクトルの日変化を追跡観測した。その結果、収穫適期や栄養素成分を推定することが可能であった。レタスに限らず様々な野菜種や果実種への応用が期待される。

1. はじめに

農産物の育成過程を調査したり、生育状態を早期にかつ的確に診断可能な手法・技術の開発研究を行っている。その方法として、化学的に成分分析を行い判定する方法、X線、音響、静電容量、光などの物理量を判断材料に用いる方法などがあるが、筆者らは光のうちでもレーザー光を利用した計測技術に注目した¹⁾²⁾。これには、植物が成長過程において自ら光の存在を要求するという植物本来の性質、つまり植物は光環境や光刺激に対して敏感であるはず、という基本コンセプトがある。その光環境や刺激を高度に制御可能な人工の光すなわちレーザー光を用いて変化させ、それに対する農産物からの光反応情報を生育情報のモニター指標として利用できないかと考えた。さらに、農産物を生きものとして考えた場合には非破壊・無侵襲の考えが必須であり、このことは（レーザーを含む）光計測法の最も得意とするところで、その要求に充分に応えることができる³⁾。

農産物による光の吸収や散乱を調べることによって糖度、酸度、硬度、熟度などを調べた報告は多く、既に実際の選果場における等級判定等に応用されている³⁾。またその為の光計測システムの導入も進みつつある。

そこで本研究では開発の場を農産物生育の最終的な場（選果場）に求めるのではなく農

SAITO Yasunori

〒380-8553 長野市若里4-17-1

場、圃場、果樹園といった生育進行中の生産現場に求め、農産物が生育しているそのままの状態での育成過程のモニタリング技術開発を目標に掲げた。

2. レーザー誘起 (LIF) 蛍光スペクトル計測システム

レーザー光を植物の生葉などに照射すると、微弱ながら蛍光 (LIF: Laser-induced Fluorescence) を発する。蛍光は植物に吸収された光エネルギーが植物体内の様々な有機物間の相互作用の合成の結果として外部へ放射されるため、単色光であるレーザー光を用いても広いスペクトル領域を持つのが特徴である (図3参照)。また成長過程や病害発生などにより有機分子の量や組成が変化すれば、結果的には蛍光スペクトルの変化に反映されるはずである。つまり蛍光スペクトルを計測解析することで、植物内含有有機物 (農産物においては栄養素) を推定したり、育成過程に関する動的な情報を取得することが出来る。

この目的のために開発したフィールド観測用可搬型LIFスペクトル計測システムの構成を図1(a)に、その外観を(b)に示す⁴⁾。レーザー光波長は355nm (Nd: YAGレーザー第3高調波)、エネルギー0.2mJ、パルス時間幅10ns、繰り返し10Hzで、コア径2mmの高エネルギー伝送用石英ファイバ (送信ファイバ) で測定対象まで導かれる。蛍光は受信用

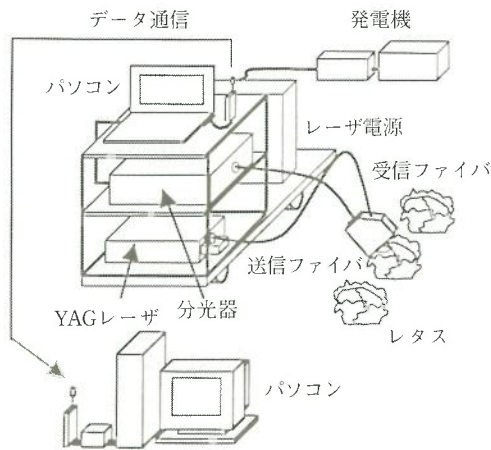


図1(a) 計測システム構成図

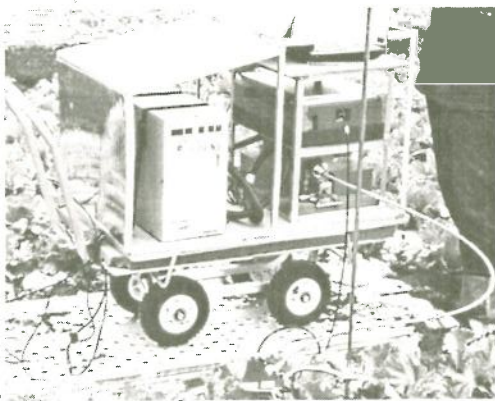


図1(b) 同上外観

ファイバで集められ分光器まで導かれ、分光後一次元ダイオードアレイ（波長感度400nmから900nm）により検出された。蛍光は非常に微弱なため、光増幅器の一種であるイメージンテンシファイヤが内蔵されている。送信ファイバー出射口と受信ファイバー入射口は、レーザー出射と蛍光受信の相対的位置関係が常に一定になるよう一体化構造にされた。パーソナルコンピュータはデータ取得とシステム制御の他に、携帯電話を介してデータ通信を行う。フィールドから離れたメインサーバ（約6km離れた信州大学工学部、または15km離れた長野県農村工業研究所）へのデータファイルの転送が出来た。図2は本システムによる長野県野菜花き試験場（長野県長野市松代町）での定期観測風景である。測定野菜には長野県の主要出荷野菜であるレタスを選んだ。種類は秋作のシナノサマーで、通常は定植後6～7週間で結球部が約700gに成長し収穫期を迎える。1999年度の定植は

8月25日でその後約一週間間隔（収穫適期付近では1～2日間隔）で、試料6株について外葉（出荷時に廃棄される部分）3枚と結球部（食用に供される部分）2枚を選び、1枚につき3箇所をポイント測定した。生育はレタスの慣行法に基づき育種専門家により管理された。

3. 観測結果（1999年度）と検討

図3に定植から44日後のLIFスペクトル例を示す。スペクトルは大別して650nm以上の長波長（red fluorescence）成分とそれ以下の短波長（blue-green fluorescence）成分から成る。この例では、外葉と結球部とでは短波長スペクトル成分に大きな強度差が見受けられる。短波長スペクトルには糖、ビタミン、スクロースなどの栄養素成分に関する情報が含まれることがわかっている^{5, 6)}。また長波長成分に見られる二つのピークはクロロフィルによるもので、二つ波長のピーク強度比（740nm/685nm）よりクロロフィルの濃度推定も可能である^{7, 8)}。図4には生育過程での主要な波長におけるLIFスペクトル強度変化を示した。いずれも生育日数とともにその強度が増加していくが、42日付近でピークを迎えその後緩やかな減少傾向が1週間程度続いたのち、再び上昇を示す。短波長成分の変化割合が大きい。ちなみに、生育管理者の経験に基づく形状を主体とする診断では（本測定データを知らない）、収穫適期は定植後42日であると判断された。1997年度及び1998年度

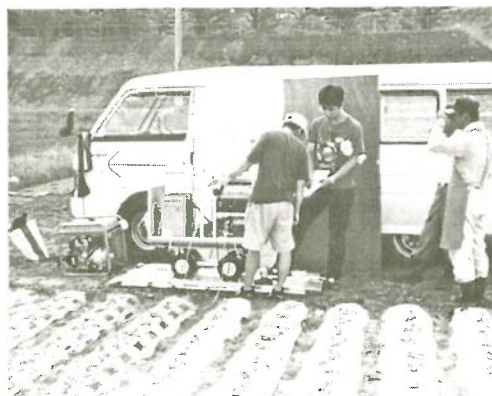


図2 圃場における定期観測風景

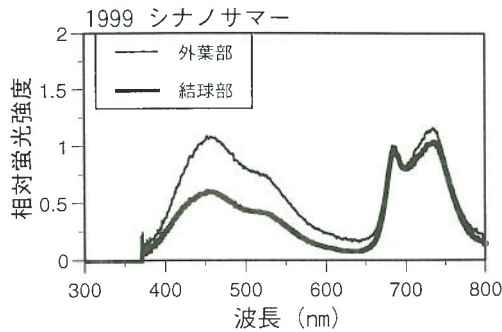


図3 レタスの蛍光スペクトル例

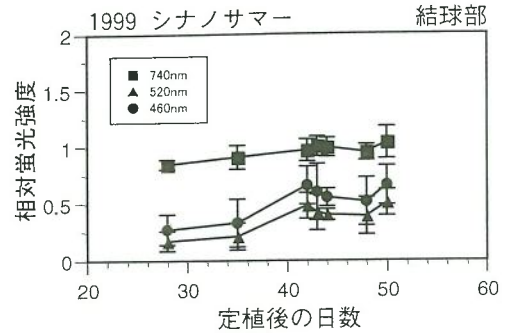


図4 蛍光強度の生育日数変化

の観測結果（圃場からサンプルしたレタスを用いた屋内実験）でも、LIFスペクトルの挙動は同様な傾向を示し、収穫適期付近でその増減に大きな変化が生じることが確認されている^{5, 7)}。

さらにLIFスペクトルの源である有機物成分を調べる為に、高速液体クロマトグラフィによる成分分析を試みた。ビタミンC、ポリフェノール類、糖類の量の生育日数による変化を比較した結果、収穫適期付近のLIFスペクトル強度変化の増減が、ビタミンCとポリフェノール類のクロロゲン酸のそれと同じ傾向を示すことが明らかになった^{5, 6)}。LIFスペクトル面積強度との相関係数はビタミンCおよびクロロゲン酸ともに0.9以上であった。ちなみにビタミンCはレタスの主栄養素でありクロロゲン酸は苦み成分を与える。

これらの結果を総合的に判断すると、LIFのスペクトル変化を追跡することで、経験に頼らない、野菜内有機物（栄養素）を基準にした客観的な生育状態診断や品質管理の可能性が確認された。また栄養成分を保証した付加価値の高い野菜の提供なども可能になると考えている。

4. まとめと今後の展望

植物が本来有する光刺激に対する反応としての蛍光現象を、レーザー光を用いて積極的に誘発させて生育診断を行う方法を提案し、レタスへ適応した結果について述べた。蛍光スペクトル強度がピーク値を取った後に減少し再び増加する期間と収穫適期が一致すると

いう非常に興味深い結果を得た。化学分析結果からは、特にビタミンCやクロロゲン酸の増減傾向と蛍光強度変化が強い相関を示した。これらの結果は、LIF法による非破壊、無侵襲かつ有機物の判定に基づく生育過程のモニタリングが可能であることを実証するのに充分であった。

本計測手法をさらに確実なものとするために以下の項目を検討中である。1) 標準環境下で生育されたレタスの標準蛍光スペクトルを決定する。2) 化学分析結果と蛍光スペクトルとの比較照合が可能なデータベースを製作する（そのための新しい蛍光スペクトル成分同定型の解析装置は現在開発中）。システム的には実験室レベルからフィールド用可搬システムが達成されたが、さらに3) モバイルあるいはウェアラブルシステムへの展開を検討する。4) 野菜1個体全体を蛍光画像として可視化し、栄養素分布表示が可能なシステムを開発する（基礎技術は既に確立済み⁸⁾）。

謝辞

本研究は（社）長野県農村工業研究所、長野県野菜花き試験場の御協力により行われているものです。特に農村工業研究所開発部・石澤広明次長および試験場・小松和彦技師には、研究当初から現在まで共同実験や討論に熱心に参加して頂いており、深く感謝する次第です。なお本研究の一部は（社）農林水産先端技術産業振興センター・農林水産新産業技術委託事業（研究責任者：石澤広明）により実施されました。関係各位に感謝致します。

参考文献

- 1) 齊藤保典: レーザ誘起蛍光法による植物の生育状態の診断, *O plus E*, No.185, pp.87-94, (1995).
- 2) Y. Saito, M. Kanoh, K. Hatake, T. Kawahara and A. Nomura: Investigation of laser-induced fluorescence of several leaves for application to lidar vegetation monitoring, *Applied Optics* 37, No. 3, pp.431-437, (1998).
- 3) たとえば, 河野澄夫: 果実・野菜等の非破壊選別, 竹本他編「生体・環境計測へ向けた近赤外光センシング技術」, サイエンスフォーラム, pp.210-217, (1999).
- 4) 雨宮貴明, 齊藤保典, 野村彰夫, 石澤広明, 宮下和博, 小松和彦: レーザ誘起蛍光法を用いた農産物非破壊計測のフィールド実証試験, 計測自動制御学会中部支部30周年記念シンポジウム (上田, 1999年11月11日).
- 5) 石澤広明, 松澤恒友, 齊藤保典, 野村彰夫, 鳥羽栄治, 小松和彦他: レーザー誘起蛍光分光計測による野菜類の生育モニタリング, 第38計測自動制御学会学術講演会 (盛岡, 1999年7月28-30日).
- 6) 雨宮貴明, 齊藤保典, 野村彰夫, 石澤広明, 小松和彦, レーザ誘起蛍光法を用いた農産物のフィールド非破壊計測, 第39回計測自動制御学会学術講演会 (飯塚, 2000年7月26-28日).
- 7) Y. Saito, M. Kanoh, A. Takeuchi, T. D. Kawahara, A. Nomura, H. Ishizawa, T. Matsuzawa, and K. Komatsu: Application of laser-induced fluorescence to growth monitoring of agricultural products (Lettuce), First International Conference on Geospatial Information in Agriculture and Forestry, II509-II515 (1-3 June, 1998, Florida).
- 8) Y. Saito, R. Saito, T. D. Kawahara, A. Nomura, and S. Takeda: Development and performance characteristics of laser-induced fluorescence imaging lidar for forestry applications, *Forest Ecology and Management* 128, pp.129-137, (2000).

◀文献情報▶

Oct-3/4の発現量がES細胞の分化、脱分化あるいは自己再生を決定する

Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells

Hitoshi Niwa, Jun-ichi Miyazaki and Austin G. Smith

Nature genetics, 24 : 372-376 (2000)

胚性幹 (ES) 細胞は胚盤胞の内部細胞塊から樹立され、未分化状態を保ったまま増殖し続ける細胞株である。このES細胞はマウスを主とする発生工学を用いた遺伝子の機能解析のみならず、*in vitro*で様々な細胞系譜に分化可能であることから発生、分化様式の研究に利用されている。POUファミリーに属する転写因子であるOct-3/4は卵細胞やES細胞など多能性を持つ細胞特異的に発現しており、哺乳動物の初期発生を支配している遺伝子の一つである。本研究ではOct-3/4の発現量の違いがES細胞の未分化状態の維持あるいは分化を決定することを報告している。

まずターゲティング法により対立遺伝子の片側みのOct-3/4がテトラサイクリン (Tc) 濃度依存的に発現抑制されるES株 (ZHTc6) を得た。このES株の発現量は通常の65% (1 μ g/ml Tc)-130% (Tc非存在下) であった。Tc非存在下で48時間後にOct-3/4の発現量は最大 (130%) になり72時間までに分化がみられた。この分化頻度はTc濃度依存的であることから、Oct-3/4の発現量がES細胞の分化を左右することを示していた。さらにZHTc6株の内在性Oct-3/4をターゲティングし、Tc存在下でOct-3/4の発現を完全に抑制できるES株 (ZHBtC4) を樹立した。このES株のTc非存在下におけるOct-3/4の最大発現量は通常の60%であったが、形態的な変化はみられなかった。しかしTc存在下でOct-3/4の発現を完全に抑制すると分化がみられた。このOct-3/4の発現量と分化の動態は、分化抑制作用のあるLIFの存在の有無によら

なかった。またOct-3/4の発現量が閾値内であってもLIF非存在下では分化が進行することからES細胞の未分化能維持にOct-3/4およびLIFの作用が必須であることが明らかとなった。次にZHTc6およびZHBtC4におけるOct-3/4の発現量と分化マーカーとなるいくつかの遺伝子の発現との関連を検討した。Oct-3/4の発現量の上昇は初期胚内胚葉で発現しているGata4、中胚葉マーカー遺伝子であるTの発現を促進したことから、胚体外内胚葉、中胚葉系列への分化を誘導することが明らかになった。一方Oct-3/4の発現が抑制されている状態では栄養膜細胞の分化に関連した転写因子であるHand1, Cdx2の発現が誘導されていた。さらにZHBtC4由来の栄養膜幹細胞ではOct-3/4の発現は抑制されており、いくつかの栄養膜細胞マーカー遺伝子 (Cdx2, Esrrb, Mash2, Tpbp) の発現が確認された。これらの結果よりOct-3/4の発現量の抑制によりES細胞の未分化能が解除され栄養外胚葉への分化が促進されるものと考えられた。これら一連の実験結果からOct-3/4の発現量とES細胞の分化あるいは未分化能維持には閾値が存在し、2倍体ES細胞におけるOct-3/4の発現量に対して上下約50%内の場合未分化能が維持され、それ以上になると内胚葉・中胚葉系列、それ以下になると栄養外胚葉系列に分化していくものと考えられた。

今まで遺伝子の転写抑制はある転写関連遺伝子あるいは因子のオン/オフによるものと考えられていた。しかし今回著者らはOct-3/4の発現量の変化が下流の遺伝子の発現をコントロールし、ES細胞の三方向への分化を厳密に制御していることを証明した。

(抄訳: 木村直子 東北大学大学院農学研究科)

◀文献情報▶

分裂酵母のヘキソース輸送体

Multiple Hexose Transporters of *Schizosaccharomyces pombe*

Sylvia Heiland, Nada Radovanovic, Milan Hofer, Joris Winderickx and Hella Lichtenberg

J. Bacteriol. 182: 2153(2000)

微生物のヘキソース取り込みに関する理解は、ゲノム情報のバックアップもあり出芽酵母において最も進んでいる。一方、近年は分裂酵母でもこれに関した研究が進みつつある。これまでに知られているヘキソース輸送体はGht1p~Ght6pの6つである。この報文は、グルコース取込み欠損株を利用したGht群の産物の基質特異性やキネティクスを調べ、また、相互の配列比較等を行ったものである。

Ght1~Ght6の間での配列比較の結果、すべての組み合わせで塩基レベルで60%、アミノ酸レベルで50%以上の一致がみられた。分裂酵母のGht群は、出芽酵母を始めとした他のヘキソース輸送体群とは別のクラスターに属し、独自のグループを形成していた。

既に構築されていた、出芽酵母のHXT1~HXT7を欠いてグルコース取込み能及びグルコース培地上での生育能を失った株に対して、Ght1~Ght6のそれぞれを導入、発現させた。その結果、Ght1、Ght2、Ght5及びGht6の導入株はグルコース培地上での生育能が回復していた。これらの株の各種パラメーターを取込み実験で調べたところ、Ght1p、Ght2pのグルコースに対するアフィニティーは中程度、Ght5pは高アフィニティーであった。Ght6pはグルコースに対しては低アフィニティーで、むしろフルクトースに対してより高いアフィニティーを示した。グルコース輸送に関わらないことが示されたGht3pとGht4pのうち、Ght3pについてはグルコン酸輸送体であることが別の取り込み実験で示された。Ght4pの基質は今のところ明らかではない。

また、転写における炭素源の影響をみたところ、Ght1はグルコースでリプレスされ、

Ght3、Ght4はグルコースでリプレスされるとともにグルコン酸で強く誘導されることがわかった。Ght2、Ght5、Ght6はほぼ構成的に転写されていた。これに加えて転写量の多さから、著者らは、Ght5pが分裂酵母における主要なグルコース輸送体であろうと推察している。

更に、分裂酵母のグルコースに対する取り込み能及び生育能の欠損変異株YGS5におけるGht群の発現が調べられた。すると、グルコース取り込みに関与するGht1、Ght2、Ght5、Ght6のうちGht2以外は全く発現していないことがわかった。ここで著者らは、Ght1がYGS5の変異をサプレスできること、Ght2の転写がなされていること、変異処理により偶然に3つの遺伝子に都合よく変異が起きるとは考えにくいこと、Ght1pのC末端部分にインスリン受容体と類似した配列がみられることなどから、Ght1pは出芽酵母のSNF3pやRGT2pのようにシグナリングの機能を有し、グルコース取り込みの調節に関与しているのではないかと推察している。この辺りに関してはまだ推論の域を出ないが、著者らの主張が本当だとすれば、分裂酵母の糖質輸送に関する研究に大きな進展をもたらすことになるだろう。

微生物にとって、環境中に存在する栄養源を如何に効率よく獲得するかは、生存に関わる重要な問題であるが、特に糖質の輸送体は多数のホモログが存在するケースが多いため個別の機能の解析が容易ではない。このようなモデル生物における研究が、他の微生物にとってプロトタイプとなっていくことを期待したい。

(抄訳：赤尾 健 国税庁醸造研究所)

◀文献情報▶

自家不和合性の花粉決定因子、
ついに発見さる。

The male determination of self-incompatibility in *Brassica*.

C.R. Schopfer, M.E.Nasrallah, J.B. Nasrallah
Science 286, 1697-1700 (1999)

The pollen determinant of self-incompatibility in *Brassica campestris*.

S. Takayama, H. Shiba, M. Iwano, H. Shimasato, F. Che, N.Kai, M. Watanabe, G. Suzuki, K. Hinata and A. Isogai
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 1920-1925 (2000)

自家不和合性とは柱頭が自己と同一の花粉の侵入を阻止する現象をいい、アブラナ科、ナス科、バラ科など多くの植物でみられる。アブラナ科植物ではハイブリッド品種の育成に自家不和合性が利用されており産業上有益なことから、数多くの研究が積み重ねられてきた。が、ここに来て、自家不和合性研究は大きな節目を迎えたようである。昨年末から本年初頭にかけて、花粉側の自家不和合性決定遺伝子SCR (S locus cysteine-rich) であり、柱頭側はSRK (S locus receptor kinase) 遺伝子であること、拒否反応の情報伝達にARC1が絡んでいることが、立て続けに発表され、役者はほとんど出揃った感がある。本年4月の育種学会では、「もうやり尽くされてしまったのではないか、次のターゲットは何なのか」ということが真剣に議論されたほどである。

この稿では、Cornell大学の Nasrallah と奈良先端大の磯貝の両研究室が異なる手法で同じ結論に到達した花粉側の決定因子について紹介しよう。

まず、Cornell一派の研究から紹介するとしよう。このグループは、ハクサイ花粉側決定因子がSLG (S locus glycoprotein) とSRKを含む65Kbの染色体上にあることを既に明らかにしていたが (1997)、今回、SLGとSRKの間に存在し、葯のみで発現するSCR遺伝子を釣り上げた。①花粉のみ自家不和合性を示さない

突然変異体 (柱頭の認識反応には問題ない) では、この遺伝子が検出できないこと。②SCR遺伝子導入植物の花粉は導入遺伝子と同じ遺伝子型を獲得すること、即ち、機能喪失-機能獲得実験 (loss-of-function, gain-of-function experiment) により、SCRが花粉の自家不和合性決定因子であることを証明した。

奈良先端大一派もSLGとSRKの間に存在するSP11 (S locus protein 11, 実はSCRと同じもの) が花粉側の決定因子の可能性が高いと考え (Suzukiら, 1999)、SP11組み換えタンパクを乳頭細胞に塗布してみた。そうすると、同じ遺伝子型を持つ柱頭上では花粉の伸長を抑制するが、遺伝子型を異にする柱頭上では抑制反応を引き起こさないことを確認し、このタンパクが花粉決定因子であることを証明した。

また、花粉の決定因子であるためには、この他に、次の3条件を満たす必要がある。①S遺伝子座に座乗していること。②S遺伝子毎の多型を示すこと。③葯に発現すること。①、③については両者とも同じ手法で確認している。②については、Cornell大学一派はサザン分析により説明できるとしており、奈良先端大は幾つかのSP11遺伝子の塩基配列を決定することに明らかにしている。

両研究室はほぼ同時期に同じ結論に辿りついたのであるが、Cornell大学は遺伝学的アプローチをとり、奈良先端大は現象を引き起こす物質を捕まえるという態度をとる。両研究室のバックボーンの違いが透けて見えるのが面白いし、異なるアプローチによって同一の結論に到達したことによって、結論の確かさを何人にも納得させるものとなっている。二つの論文は、相互に結果を補強しあっているともいえるのではないか。

(抄訳: 岩井純夫 鹿児島大学農学部)

◀文献情報▶

SCARECROW機能の分子的解析によって、根とシュート共通のメカニズムを明らかにする

Molecular analysis of SCARECROW function reveals a radial patterning mechanism common to root and shoot.

Joanna W. Wysocka-Diller, Yrjo Helariutta, Hidehiro Fukaki, Jocelyn E. Malamy and Philip N. Benfey

Department of Biology, New York University, USA

Development, 127, 595-603 (2000)

シロイヌナズナの *scarecrow* は、根における放射パターン（外側から表皮、皮層、内皮、内鞘、維管束）に異常が見られる一遺伝子劣性突然変異体として単離された。野生型の根では皮層始原細胞の並層分裂によって皮層と内皮の2層が形成されるが、*scr*の根では並層分裂が起らず皮層と内皮の両方の性質をもった細胞層が1層形成される。*scr*はクローニングされた結果、bZIP型転写調節因子と推定され、胚発生では基本分裂組織（皮層と内皮になる細胞）で、根では皮層始原細胞と内皮で発現していた。これらのことから、SCRは非対称な並層分裂を介して根の放射パターン形成に関与していると考えられていた。

その後、*scr*の地上部では、胚軸、花茎や葉の維管束の外側に隣接するデンプン鞘を欠失しており、その結果、重力屈性に異常をきたしていることがわかった。SCRは、SAMのL1、若い葉原基、維管束の周辺部（デンプン鞘）などで発現しており、デンプン鞘の欠失と一致した。側生器官のない *pin-formed* 突然変異体の花茎においてSCRの発現とデンプン鞘の形成を観察したところ、最初一層の基本分裂組織で発現し、並層分裂がおきた後は内側のデンプン鞘一層でのみ発現し外側の細胞層では抑制されていた。この発現パターンは根における基本分裂組織のものと似てい

る。また、胚発生においてSCRは、球状胚初期で将来静止中心/コルメラとなる hypophyseal cell で発現が開始され、ハート型、魚雷型胚では静止中心/コルメラ付近で異所的な細胞分裂が見られた。したがって、基本分裂組織以外での機能を持つことを意味し、SAMのL1層での発現と関係があるのかもしれない。これらの実験的事実から、SCRは根とシュート双方の放射パターン形成に関与しており、これら二つの器官が進化的に保存されたメカニズムを共有している可能性が示唆される。

（抄訳：木苗貴秀 東京大学農学生命科学科）

◀文献情報▶

酵素を利用した魚油の香り成分
の改良Modification of Fish Oil Aroma Using a
Macroalgal Lipoygenase

Seng-Pei Hu and Bonnie Sun Pan

JAACS, 77 (4) : 343-348 (2000)

肉食中心の食生活に由来する飽和脂肪酸の摂取過多による悪影響を予防するために、リノール酸 (n-6系不飽和脂肪酸) を多く含む植物油が注目されてきた。しかし、それに伴って、n-6系不飽和脂肪酸に偏った食生活の傾向が生じ、様々な弊害が報告されている。近年は、 α -リノレン酸、イコサペンタエン酸 (EPA)、ドコサヘキサエン酸 (DHA) などのn-3系とn-6系をバランス良く摂取することが疾病障害に備えるためには重要であると考えられ、推奨されるようになってきた。n-3系不飽和脂肪酸は、魚油中のPUFA (Polyunsaturated Fatty Acids) に多く存在し、その代表であるEPAとDHAは様々な生理機能が報告され、一時期のブームは過ぎたものの、その重要性は広く認知されている。アメリカでも、1989年にニシン油がFDAによりGRAS (generally regarded as safe) に分類されてから、魚油の利用は着実に増加し、現在では、人工調整乳 (粉ミルク) の必須成分としても利用されている (特にDHA)。しかし、魚油は、有効性の反面、特有のにおいや酸化安定性の悪さのため、利用が制限されているのが現状である。マイクロカプセル化や抗酸化剤の添加による酸化安定性の向上、精製技術の進歩による過酸化物質、におい、及び色の除去が可能となったが、PUFAの二重結合に由来する劣化から来るにおいやあと味がその応用を困難にしている。

本報告では、魚油の香りの改良を目的として酵素の利用による方法が試みられた。著者らは、先の報告において、魚の鰓から部分精製したリポキシゲナーゼ (LOX) をPUFA、魚油、エビ抽出脂質に作用させ新鮮な魚の香り成分の生成を確認した。しかし、魚由来の

LOXは不安定で利用には不適であった。大型の緑藻類 (アナアオサ *Ulva lactuca*, ボウアオノリ *Enteromorpha intestinalis*) には、LOXが多く含まれ、動物、魚由来のLOXと比較すると安定であった。今回の検討には、沿岸域で広く生息しているボタンアオサ *Ulva conglobata* を使用した。ボタンアオサの粗抽出液は、高い活性の13-LOXと9-LOXの2つのアイソザイムを有した。タラ肝油に作用させることで、青葉、メロン、牡蠣、新鮮魚様の香り成分が生成され、不快臭は減少し、より好ましい香りとなった。酵素処理油は、処理前のHUFA (Highly unsaturated fatty acids; containing three or more double bonds) の99%は保持されていた。アラキドン酸は11.1%減少し、リノレン酸、EPA、DHAの減少は1%以下であった。

緑藻に含まれるLOXを利用することで、有効なHUFAを減らすことなく、香りの面で魚油を改良する可能性が示された。LOXの種類や反応条件により、さらに良い香りの魚油を調製できるかもしれない。このような改良魚油は、新しい応用方法の一つの手がかりとなるうる。一方、魚油のより広い応用のためには、無臭、無色、無味でより安定した品質も求められており、今後も、多方面からの検討が期待される。

(抄訳: 大栗智昭 マルハ中央研究所)

◀海外便り▶

土壌中におけるプレファレンシャルフローが 化学物質の溶脱に果たす役割

—スウェーデン農科大学における1年間—

農林水産省 農業研究センター

前田 守弘

はじめに

1998年3月から1年間、科学技術庁長期在外研究員としてスウェーデン農科大学に研究する機会を得た。当大学のあるウプサラは、ストックホルムから北へ約70kmのところの位置し、植物分類学者のリンネ、温度計のセルシウス、酵素反応式のアレニウスなどを輩出した人口18万人の大学町である。気候は北海道と同じくらいと思うが、夏は夜が3時間程度しかなく、反対に冬は日照時間がごく短いことが特徴である。大学は町の中心から10kmほど離れた田園風景のなかにある。私の所属した水質マネジメント研究室は土壤科学科の6研究室のうちのひとつである。研究室は、教授、準教授、講師、数人の助手と分析技官といったスタッフと10人程度の博士課程の学生からなり、修士課程の学生は特別研究の時期を除いて基本的に研究室には配属されない。博士課程の学生や学部生といっても、様々な経歴の人がほとんどで平均年齢は30歳以上であった。

今回の在外研究の目的は、硝酸態窒素等の化学物質が地下水環境に与える影響をモニタリングする技術を習得することにあつたが、同時に、環境先進国かつ福祉大国であるスウェーデンを体験できた一年であった。

化学物質の溶脱とプレファレンシャルフロー

農業活動を起源とし、地下水への影響が懸念される物質としては、窒素、リン、重金属、

MAEDA Morihiko

〒305-8666 つくば市観音台3-1-1

および農薬などがあげられる。特に硝酸態窒素については、わが国では昨年に公共用水域および地下水の環境基準に設定されるなど対策が急がれている。スウェーデンにおいても、窒素の排出量を半減することを目標として取り組んでおり、肥料税や適正な肥培管理を導入することにより、1995年時点ですでに25%の削減に成功している。富栄養化と資源枯渇の心配から、リンの流出も重要である。また、有機性資材の畑地還元利用が推奨される一方で、それら資材に含まれる銅や亜鉛といった重金属による環境負荷も問題視されている。農薬については、急性、慢性あるいは発ガンリスクに加えて、内分泌攪乱作用の疑いのある物質としてより低濃度でのモニタリングが求められている。

これら化学物質の地下水への移行を予測するためには、これまでは、短期間の室内実験のデータをもとに論じられてきた。しかしながら、土壌が不均一で化学物質の土壌中での動態が非平衡である場合には予測結果と実測結果は一致しないことが多い。亀裂流などのプレファレンシャルフローが優位な土壌では、化学物質の地下水への流入が加速されることが報告されている。プレファレンシャルフローとは、1) 亀裂流、2) フィンガリング流、3) ファネル流の総称である。亀裂流とは、土壌中の亀裂や小孔を通過する浸透水をいう。フィンガリング流は土層の境界で土壌の物理性が異なる場合に、湿潤前線が不安定になることにより生じる。ファネル流は土層境界が傾斜している場合に傾斜に沿って生じる流れをいう。程度の差はあるが、プレファレンシャルフローは、多くの土壌で生じる一般的な現象であるといえる。こうした背景

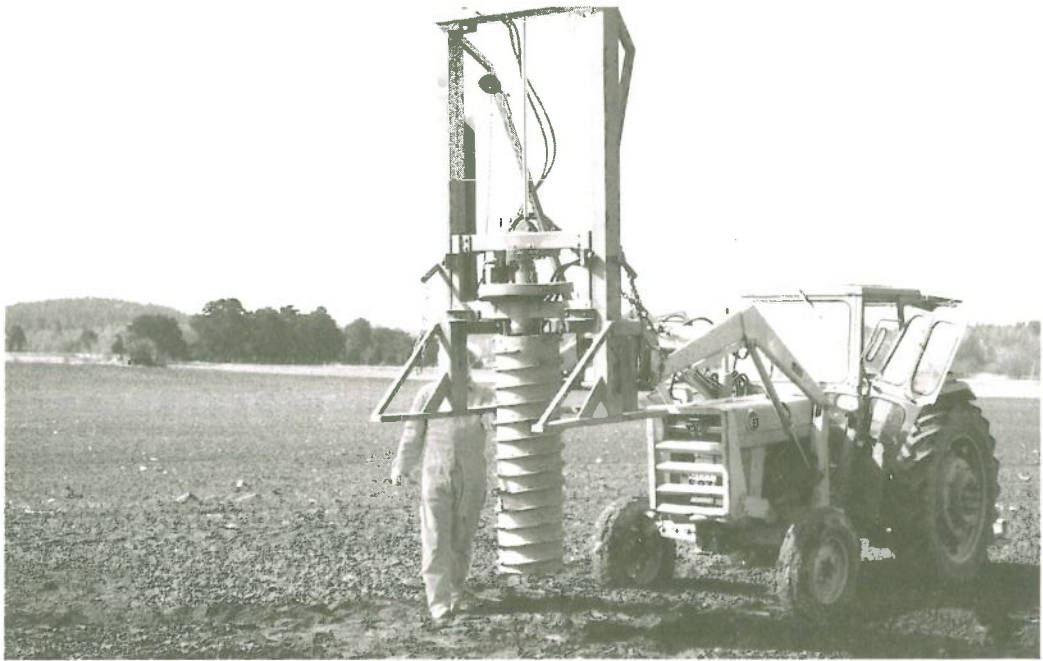


写真1 トラクターの油性を利用した土壌モノリスの採取

のもと、環境条件に近い状態における化学物質の動態を調べるためには、水移動が非定常な実際の野外で、かつ、土壌モノリス（不攪乱土壌）を用いた試験をすることが必要である。本土壌科学科ではトラクターの油圧を利用するサンプリングドリルを開発したことにより、効率的に質のよい土壌モノリスを採取することが可能となった。採取された土壌モノリスは大学構内にあるライシメータ観測施設にまでトラクターで輸送される。ライシメータ観測施設では、土壌モノリスは地表面下に格納され、土壌浸透水は地下室にあるタンクに貯留される。ライシメータ観測装置を利用することにより、土壌モノリスの環境条件を圃場条件とほぼ同一に設定できる。この手法は水質マネジメント研究室だけでなく、土壌科学科やその他の環境関係の研究室などで広く用いられ、多くの研究成果が報告されている。

土壌科学科では、こうしたライシメータ試験だけでなく、ライシメータ試験の結果をキャリブレーションに使えるという利点があるために、モデルの開発が盛んであり、開発されたモデルはインターネットを通して無償で配布されている (<http://www.mv.slu.se>)。公開されているモデルは、水・熱移動を記述

するSOILモデル、窒素動態を記述するSOILNモデル、プレファレンシャルフローの優位な土壌での環境影響物質の動態を記述するMACROモデルなどである。どのモデルもユーザインタフェースがしっかりしており、プログラミングに詳しくない人でも利用できるようになっている。

私はLars Bergström準教授のもとで、プレファレンシャルフローの優位な重粘土壌での重金属と窒素の溶脱を調べた。当研究室では、窒素、農薬、リンの溶脱に関する研究が主で重金属に関する研究はなされていなかったためである。また、プレファレンシャルフローの簡易モデルの開発を試みた。MACROモデルは非常に優れたメカニスティックモデルであるが、パラメータの数が膨大であるために、基礎データの揃っていない土壌では使用することが難しい。そこで、発生したプレファレンシャルフローを数量化することを目的に、パラメータの少ない伝達関数モデルを選択した。

モノリスライシメータを約半年間、自然降雨条件を含む3降雨条件下に設置して、その表面に化学物質をパルス状に与え、浸透水中の化学物質の濃度を測定した。同時に、土壌中での水動態に関する情報を得るためにトレ

ーサとして臭素イオンを施用した。少量の降雨により、施用された臭素イオンの溶出が認められたことから、土壌中でのプレファレンシャルフローの存在が明らかとなった。窒素は主に硝酸態窒素の形でプレファレンシャルフローとともに溶脱した。亜鉛の溶脱はプレファレンシャルフローにより増大されたが、銅濃度の上昇は認められなかった。施用区での硝酸態窒素と銅の濃度はしばしばスウェーデンの飲料水基準を越えることもあった。また、臭素イオン濃度の情報をもとにして、プレファレンシャルフローを仮想混合槽の数と圃場容水量に対する可動水の割合で特徴づける完全混合槽列改変モデルを開発した。詳細な内容はJournal of Contaminant Hydrology 43(2) をご覧いただければ幸いである。

スウェーデンでの生活

スウェーデンというと、環境先進国、福祉大国といったキーワードが頭に浮かぶが、実際にも果たしてその通りだと感じた。双方の根底にあるのは、実直で思慮深く、正義感の強い国民性であると思う。政治への関心は非常に高く、投票率は常に90%近くあり、コー

ヒータイムに政治の話が話題になることも多い。物価は日本と同じくらいであるが、消費税が25%もあるのでやや高く感じる。しかし、インフラ整備は行き届いており、街中のバリアフリーも徹底している。また、子育て支援策として、16歳まで受け取れる児童手当に加えて、両親手当までもが支給される。たとえ税金は高くても、身近なところで生かされていると感じた。

勤務時間は、夏は8時から4時まで、冬は4時半までである。夏の方が短いというのは、日が長いために、帰宅してからガーデニングなど余暇の時間をもつためのようである。実際たいていの人は時間どおりに帰宅し、長い夏の日を様々な趣味の時間にあてている。彼らの生活は決して派手ではないものの、多くの人がサマーハウスとヨット等を持っており、精神的にゆとりのある生活がうかがえる。

研究者と分析技官の仕事は完全に分かれており、ほとんどの人が共働きである。給与の面では、一概には言えないものの、私の年代(30歳)ではほぼ同じであるが、50歳くらいになってもあまり昇給せず、共働きをしなければ十分な生活が出来ないといった背景もある。要するに、ワークシェアリングを徹底す



写真2 研究所の仲間とコーヒーブレイク

ることにより、個人は、仕事だけでなく、家事、子育て、趣味などのすべてを楽しむのであろう。

通勤にはほとんどの人が自転車を利用して。その理由は自転車道が実によく整備されていることである。日本のように自転車道は車道のオマケといった感覚とは違い、車道とは独立して設置されていることが多い。車道と隣接している場合でも、その間が十分にとってあるために、横を走る車から圧迫感を受けることはない。また、降雪の次の朝には玄関先から大学まで車道だけでなく自転車道も完全に除雪されている。さらには、車道だと大きく迂回しなければならないところが、自転車だと森や住宅の中を通過して真直ぐで近いといった道路もたくさんあった。ポルボの国は自動車中心の社会ではなかった。

実は、研究生活の他にもうひとつ大きな経験をしてきた。次男を出産したことである。このことは、スウェーデンという国を知る上でもっとも印象的な出来事であった。日本と大きく違う点は、医療費が全くかからないこと、医者でなく個人の意見が尊重されること、診察の待ち時間がないことである。はじめは、月に一回程度、各住居区にある診療所で保健婦さんに検診してもらう。その時に医者が同席するのは数回だけである。診療は基本的に予約制で、一人当たりの診療時間は十分にとってある。診療の際には、エコーは1回しかとらず、保健婦さんによる心音・血液検査が主であった。保健婦さんによる問診は、妊婦がリラックスできるように、やさしく丁寧で、体重制限などの細かな指示は全くなされなかった。診察の際に通訳を希望すれば、無料で

電話の通訳を頼んでくれる。予定日が近づいてくると、出産病院のグループ見学会があり、小旅行のようで結構楽しい。出産当日はあくまで本人の意思が尊重され、あらゆる選択支について本人の同意あるいは選択が求められる。いよいよ陣痛が始まり、分娩室に入っても日本のようないかつい器具はついていない。陣痛が高まると笑気ガスを使うのが普通のようなのである。出産後、産湯は使わない一方で、母親はすぐにでもシャワーを浴びてよい。その後も新生児と母親は離されることなく常に一緒に、プライバシーが重視された個室に運ばれる。産科病棟の共同台所にはパンやチーズや牛乳などがおいてあり、自由に食べて構わないし、自分で食事を作っても構わない。今や人口の10%は移民であると言われるだけあり、台所は多国籍レストランさながらであった。退院は12時間後から可能であるが、通常は2日程度である。これらの過程は、日本での一般的な出産に関する事情とはかなり異なる。常識とは一部でしか通用しないものであるということを感じた。

おわりに

世界的に著名な研究者と交流できたことは、私にとって大きな刺激となり、そこで得られた交友関係は望外の喜びである。現在は、わが研究室でも本手法を取り入れた試験を開始した。最後になったが、このような機会を与えてくれた、科学技術庁および農業研究センターの方々にこの場をかりて深くお礼申し上げます。

編集後記

ブレインテクノニュース80号をお届けいたします。

今年の梅雨は良く降りました。ここ数年、気のせいか集中豪雨という言葉が珍しくなくなってきました。これも地球温暖化のなせる技でしょうか。

さて、今回は食品の重要な要素である味覚をテーマに、取り上げてみました。総説として味のメカニズムを栗原先生(青森大学)に、脳においてどのように認識されるかを近藤先生(味の素株式会社)に、更に脂肪のおいしさと効用を今泉先生(京都大学)に、それぞれご紹介いただきました。

国内情報では、このほかアブラナ科の自家不和合性遺伝子の発見について畠山先生(株採種実用技術研究所)にご紹介いただいております。表紙では、花粉管の成長する様子が良く判ることと思います。また、農業機械等

緊急開発事業(緊プロ)開発されたコメの品質評価測定装置について、杉山先生よりご紹介いただいております。また、地域の先端研究としてはミカンの搾り粕を有効利用した微生物によるキトサンの生産を宮岡先生(愛媛県工業技術センター)に、レーザー光によるレタスの収穫期の判別技術について齊藤先生(信州大学)よりご紹介いただきました。

更に、スウェーデン農科大学における土壌中の物質溶脱に関する研究と生活・研究環境について前田先生(農水省農業研究センター)にご紹介いただきました。

皆様にはお忙しい中、貴重な情報を頂き、誠に有り難うございました。

これからも、出来る限り最新の情報をお届けできるよう努力いたしますのでよろしくお願いいたします。

(原田記)

本誌著作物の複写利用等について

本誌掲載の論文・記事の複写・転載等を希望される方は、執筆者ならびに生物系特定産業技術研究推進機構(生研機構)の許諾を得て行って下さい。

ブレインテクノニュース(第80号)

平成12年7月15日発行

編集兼発行者 堤 英 隆

発行所 生物系特定産業技術研究推進機構(生研機構)

〒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

e-mail kikaku@tokyo.brain.go.jp

URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/>

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 2000