

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 81 号

SEPTEMBER 15, 2000



イチジクのフィッグ型(雌株)品種の雌花に
着生する雄しべを利用した交雑育種

[福岡県総合農業試験場豊前分場 野方 仁氏原図]

目 次

総 説	
食用キノコが作る“体に良い”物質	1
河岸洋和 (静岡大学 農学部応用生物化学科)	
国内情報	
キノコの菌糸培養による有用物質の生産	6
堀内 勲 (株式会社応微研 代表取締役)	
ウイルスを利用した赤潮対策研究の現状と将来	11
長崎慶三 (水産庁 瀬戸内海区水産研究所赤潮環境部)	
飼料中アミノ酸組成の改善による豚からの窒素排泄量低減技術	15
梶 雄次 (農林水産省 九州農業試験場畜産部)	
毛色関連遺伝子の多型を用いた豚品種の推定	19
三橋忠由 (農林水産省 畜産試験場育種部)	
地域の先端研究	
イチジクのフィッグ型品種に着生する雄ずいを利用した交雑育種	24
野方 仁 (福岡県 農業総合試験場豊前分場)	
文献情報	
胚発生における早期妊娠因子 (EPF) の必要性	28
S. Athanasas-Platsis et al (Am. J. Reprod. Immunol., 43: 223-233, 2000)	
抄訳: 横尾正樹 (東北大学 大学院農学研究科)	
塩ストレス下での酵母遺伝子の発現誘導DNAチップによる解析	29
F. Posas et al (J. Biol. Chem., 275: 17249-17255, 2000)	
抄訳: 楠田大輔 (カルピス(株)基盤技術研究所)	
メチル化に影響を与えずにメチル化された遺伝子のサイレンシングを解除する MOM遺伝子の突然変異	30
P. Amedeo et al (Nature, 405: 203-206, 2000)	
抄訳: 清水圭一 (鹿児島大学 農学部)	
スフィンゴシン-1-リン酸受容体は脊椎動物の心臓の発生において細胞移動を制御する	31
E. Kupperman et al (Nature, 460: 192-195, 2000)	
抄訳: 吉戒和剛 (マルハ(株) 中央研究所)	
海外便り	
マツノザイセンチュウの故郷に材線虫病微害化の手がかりを求めて —ミズーリ大学における1年間—	32
中村克典 (農林水産省 森林総合研究所九州支所)	
生研機構からのご案内	
平成12年度「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」採択研究課題について	35
「新事業創出研究開発事業」課題採択について	36
平成12年度「新規融資課題募集」について	38
BRAINセミナー“作物改良へのゲノム情報の応用”開催のお知らせ	38
BRAINテクノフォーラム“ゲノム解析ワンダーランドからの贈り物”開催のお知らせ	38

表紙写真説明

イチジクの品種「蓬萊柿」の果実。夏果では、37～93%の果実において果実1個あたり1～9本の小花に雄ずいが着生する(詳細は、地域の先端研究24頁を参照して下さい)。

◀総説▶

食用キノコが作る“体に良い”物質

静岡大学農学部応用生物化学科

河 岸 洋 和

著者らのキノコの生体機能調節物質に関する研究の一部を紹介する。

1. 神経成長因子合成促進物質：ヤマブシタケ子実体からヘリセノンCからHと命名した神経成長因子合成促進物質を発見した。また、この菌の菌糸体からは、さらに強力な活性物質エリナシン類を発見した。
2. 摂食抑制物質：ヒラタケから、様々なクロマトグラフィーを繰り返して、摂食抑制物質の精製に成功した。この物質はレクチンであり、POLと命名した。

1. はじめに

多くのキノコは“体に良い”と言われている。しかしながら、どのような成分が“体に良い”のかを研究した例は意外に少ない。

キノコは、地球上に1万種以上、我が国においても2千種以上存在すると言われている。通常“茸”と表すが、“木の子”と表現することもある。多くのキノコが朽ちた木から発生するため、“木の子”と言われたのである。一般になじみ深いシイタケ、エノキタケ、マイタケ、ナメコ、ヒラタケなどの多くのキノコは、木材腐朽菌（木を腐らせて生長する菌）であり、“木の子”なのである。一方、最も旨いとされているマツタケやホンシメジ（“匂いマツタケ、味シメジ”という時のシメジはホンシメジであり、市販されている“シメジ”は、ブナシメジかヒラタケ）は、菌根菌と言われ、植物の根に“菌根”という組織を形成し、植物と共生して生長する。マツタケとアカマツの関係がそれである。このような単純ではない生態系を有しているため、菌根菌は人工栽培はほとんど成功しておらず、高嶺の花のみである。

“生産者としての植物、消費者としての動物、そして分解者（還元者）としての菌類”と言われることがある。植物は光合成によ

KAWAGISHI Hirokazu

〒422-8529 静岡市大谷836

て有機物（糖類）を生産し、その植物を動物は消費し、そして植物や動物を腐らせ物質循環に関わっているのが菌類なのである。そのため、2次代謝産物の構造を眺めても、菌類（キノコ）は、動植物とは違った物質群を生産している。そして、そのような物質群が、動植物とは違った生体調節機能（“体に良い”作用）を示すのである。本稿では、著者らが行ってきたキノコが作り出す生体機能調節物質に関する研究のうち2つの課題に絞って紹介する¹⁻³⁾。

2. 神経成長因子合成促進物質

神経成長因子（nerve growth factor, NGF）を代表としたニューロトロフィンファミリーは、アルツハイマー型痴呆症などの中枢神経系疾病と深く関わっており、それらの投与による治療法が研究されている。しかし、これらはタンパク質であり、多くは血中から肝臓に取り込まれ速やかに分解されてしまうこと、血液・脳関門を通過しないという大きな問題がある。アルツハイマー病患者の脳にカテーテルを用いて直接NGFを与えると、その患者の記憶を含めたいくつかの機能が改善したという報告があるが、これは一般的治療法とはなり得ない。もし末梢から脳に移行し、脳で神経栄養因子の産生を刺激する低分子化合物があれば、これを経口や注射

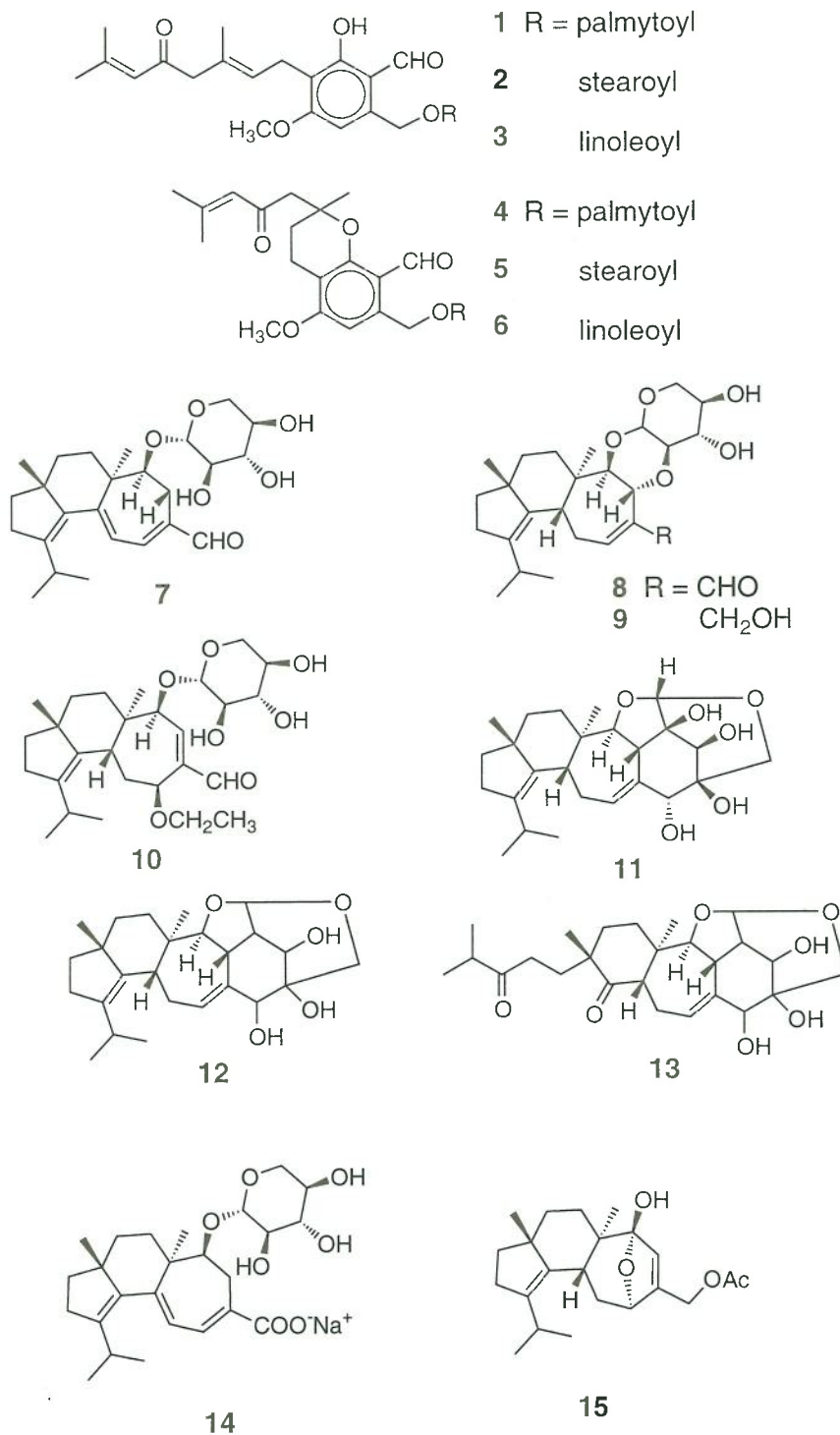


図1 ヤマブシタケ子実体および菌糸体から得られたNGF合成促進物質

で末梢投与することによって、神経疾患の予防や治療に用いることができる可能性がある。我々は上記のような考えに基づき担子菌の抽出物について*in vitro*でのNGF合成促進物質のスクリーニングを開始した。そして、そのスクリーニングによってヤマブシタケ

(*Hericium erinaceum*) 子実体からヘリセノン (hericenone) CからHと命名した6種の活性物質1-6を発見した(図1)^{6,7)}。これは、動物以外から得られた初めての天然活性物質であった(エピネフリンは強力な活性を示すことが知られており、アッセイではポジティブ

ブコントロールとして用いている)。これらの活性物質は炭素数16から18の脂肪酸（パルミチン酸，ステアリン酸，リノール酸）がエステル結合していた。ヘリセノンF-H（4-6）は，C-E（1-3）のフェノール性水酸基と側鎖が環化したものでありラセミ体であった。また，4-6より1-3の方が活性が強く，その中でもヘリセノンD（2）が最も強い活性を示すなど，脂肪酸の存在が活性の発現に重要な役割を果たすことを明らかにした。次に *in vivo*での実験のためヘリセノン類が大量に必要となった。しかし，キノコ（子実体）の栽培は，光，湿度，温度の制御が必要であり決して容易ではない。そこで，主に温度の制御のみを必要とする菌糸体（子実体発生以前の段階）によるヘリセノン類の生産を試みた。結果的にヘリセノン類の生産には成功しなかったが，全く骨格が異なった一連のジテルペノイド配糖体，エリナシン（erinacine）AからI（7-15）を菌糸体から発見した（図1）⁸⁻¹¹⁾。これらエリナシン類は *in vitro*では現在知られている活性物質のうちで最も強力なものに位置づけられる。また，他の数種のキノコからも活性物質が単離されてきており，構造と活性の相関に関するデータが蓄積されつつある。また，現在ヘリセノン類やエリナシン類の動物実験での有望な結果（記憶の改善や維

持に対する効果）が得られつつあり，今後の研究の進展が期待される。

3. 摂食抑制物質

我々はキノコのコレステロール低下作用に関する研究で^{12, 13)}，凍結乾燥したキノコ粉末を餌に添加してラットに対して自由摂食実験を行った。その実験中に，偶然に，ラットがヒラタケ（*Pleurotus ostreatus*）添加食のみを，自身がやせ細ってもほとんど食べようとしないことに気付いた（表1）。ヒラタケは通常“シメジ”の名で売られている。このようなキノコに摂食を押さえる物質があるということは，安全なダイエット食の開発に繋がると考え，この摂食抑制活性を示す物質の単離を試みた。

予備実験で，この物質は80%硫酸に塩析され，セルロース透析膜によって透析可能であったことから，蛋白質であると予想した。そこで，クロマトグラフィーの度に，各画分を食餌中に添加しラットに与え，摂食抑制活性を調べ分画を進めた。まずCM-Toyopearlに供し，活性を示した吸着部をさらに，Butyl-Toyopearl，Gio-gel HPヒドロキシアパタイト，Toyopearl HW-55Sを用いたクロマトグラフィーを順次行い，活性物質の精製に成功

表1 各種キノコのラットの成長と摂食に対する影響

飼料	飼料摂食量 (g/7日)	体重増加量 (g/7日)	飼料効率
25% Casein (25C)	85.3±1.3 ¹	36.7±1.8	0.43±0.02
25C + 5% タモギタケ (<i>Pleurotus cornucopiae</i>)	73.1±2.0*** ²	34.6±2.2	0.47±0.04
25C + 5% ヒラタケ (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	11.7±1.1***	-16.7±1.3***	-1.46±0.14***
25C + 5% アワビタケ (<i>Pleurotus apalonus</i>)	38.4±4.5***	5.8±2.8***	0.14±0.05***
25C + 5% シイタケ (<i>Lentinus edodes</i>)	76.4±2.9*	34.1±3.0	0.44±0.03
25C + 5% ブナシメジ (<i>Lyophyllum ulmarium</i>)	82.6±1.9	36.1±2.6	0.44±0.03
25C + 5% シロシメジ (<i>Tricholoma japonicum</i>)	49.2±3.2***	17.6±1.7***	0.36±0.03
25C + 5% エノキタケ (<i>Flammulina velutipes</i>)	70.0±2.1***	30.3±1.1*	0.44±0.03
25C + 5% ツクリタケ (<i>Agaricus bisporus</i>)	74.7±2.6**	28.9±1.4**	0.39±0.02
25C + 5% ヤナギマツタケ (<i>Agrocybe cylindracea</i>)	80.8±3.2	34.4±2.3	0.42±0.02
25C + 5% ナメコ (<i>Pholiota nameko</i>)	80.8±1.9	34.2±1.7	0.42±0.02
25C + 5% ヤマブシタケ (<i>Hericium erinaceum</i>)	80.5±3.1	32.0±1.1	0.40±0.02
25C + 5% マイタケ (<i>Grifola frondosa</i>)	80.5±4.5	30.2±2.8	0.37±0.02
25C + 5% マンネンタケ (<i>Gamoderma lucidum</i>)	86.2±3.3	37.2±1.3	0.43±0.02
25C + 5% カワリハラタケ (<i>Agaricus blazei</i>)	44.7±4.0***	7.5±3.1***	0.16±0.05***

¹ 平均値±標準誤差。

² 25Cグループに対しての有意差: * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.

した¹⁴⁾。

この物質はガラクトース類に結合特異性を示すレクチンであった。また、2価金属要求性であったので、精製方法を改良し、硫酸沈殿物をSephrose4Bを用いたアフィニティークロマトグラフィーに供しEDTAによって吸着部を溶出して、精製レクチンを得た (*Pleurotus ostreatus* lectin, POLと命名)。その結果、前者の方法では硫酸沈殿物からの活性の回収率が9.3%であったのに対して、ほぼ完全に活性が回収された。このタンパク質は分子量40,000のサブユニット2つからなっていた。

POLは基本的にはラクトース系列と強く結合する。調べた単糖・オリゴ糖類の中では、2'-fucosyllactose (Fuc α 1 \rightarrow 2Gal β 1 \rightarrow 4Glc) と最も高い親和性を示した。2'-Fucosyllactoseを認識するレクチンは他にも報告されているが、レクチンが摂食抑制を示すという例はこれまでにない。

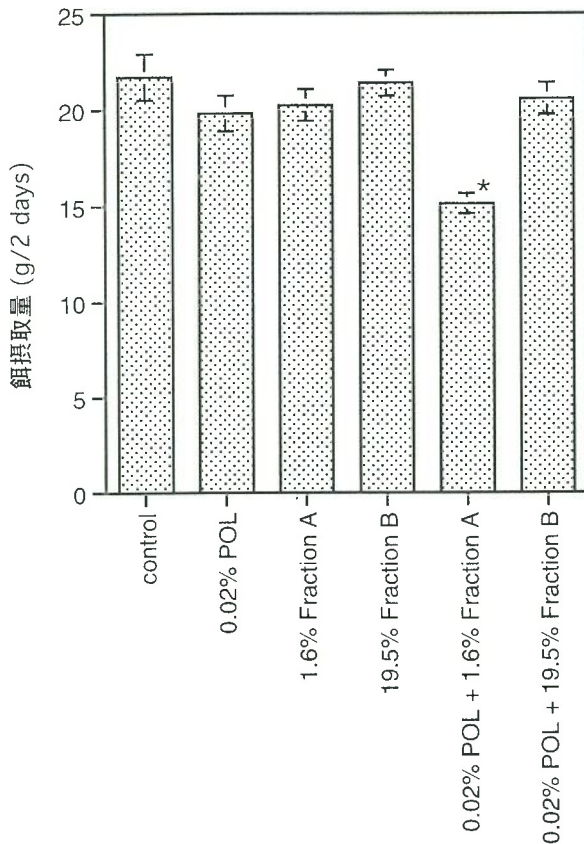


図2 POLあるいはその他の画分が摂食量に及ぼす効果 *P<0.01

POLの摂食抑制はマウスにも同様であり、動物種を越えて活性を及ぼす可能性がある。またPOLを飲料水に混ぜたり、POL水溶液をカテーテルを用いて胃に直接注入すると、ラットは通常食も食べようとしないことから、この作用は味覚とは無関係なことが判明した。

以上のように、摂食抑制物質の単離に成功したが、大きな問題が生じた。精製過程の中で、常に活性は1画分に集中したが、精製した物質の比活性が上昇しなかった。そこで、それ自身は活性を示さないが、このレクチンの摂食抑制活性を促進する物質がこのキノコに共存しているのではないかと考えた。そこで前述のアフィニティークロマトグラフィーの非吸着部(レクチン以外の全ての成分)の透析を行い、内液(高分子画分, Fraction A)と外液(低分子画分, Fraction B)に分けた。そして、POL単独では摂食抑制を示さない量でも、Fraction Aが共存下ではその量でPOLは活性を示した(図2)。現在、この活性化因子の精製を試みている。また、POLの活性発現機構解明のためPOL遺伝子のクローニングを行っている。

4. おわりに

以上、研究の一端を紹介したように多くのキノコから注目すべき機能性、生物活性が見いだされ研究されている。これらの多くは基礎的な研究の段階であり、それが直接産業に結びつき大きく発展した例は少ない。しかし、これらの研究は、大学だけではなく、食品や製薬関係の民間企業においても精力的に行われており、近い将来大きな花を咲かせるのもでてくるであろう。

今後の研究の方向としては、ますます増える生活習慣病の予防や治療を目的としたものが活発になっていくと考えられる。そして、大量に消費されている消費者になじみの深いキノコの機能性研究と、医薬品原料や健康食品素材として特異な機能をもつ付加価値の高い新規キノコのそれとに、2分化して進んで

行くであろう。

人々の健康のため無農薬、有機栽培の野菜が人気を集めているが、キノコ栽培には原則的に農薬は使わないし、堆肥や米糠、おがくず、木材等を用いたほとんど完璧な有機栽培である。この点はもっと一般の消費者に知ってもらいたいところである。

文献

- 1) 河岸洋和, 杉山公男 (1995), 機能性食品の研究 (荒井綜一編), 食用キノコからの生体調節物質の探索と機能解析, 37-43, 学会出版センター, 東京
- 2) 古川昭栄, 河岸洋和. (1991), 化学と生物, 29, 640-646
- 3) 河岸洋和 (1994), 日本農芸化学会誌, 68, 1671-1677
- 4) 河岸洋和, 古川昭栄 (1996), 食品中の生体機能調節物質研究法 (川岸舜朗編), 神経成長因子合成促進物質, 165-181, 学会出版センター, 東京
- 5) 河岸洋和 (1997), キノコの科学 (菅原龍幸編), 生体調節物質, 160-169, 朝倉書店, 東京
- 6) Kawagishi, H. et al (1991), *Tetrahedron Lett.*, 32, 4561-4564
- 7) Kawagishi, H. et al (1993), *Phytochemistry*, 32, 175-178
- 8) Kawagishi, H. et al (1994), *Tetrahedron Lett.*, 35, 1569-1572
- 9) Kawagishi, H. et al (1996), *Heterocycl. Commun.*, 2, 51-54
- 10) Kawagishi, H. et al (1996), *Tetrahedron Lett.*, 37, 7399-7402
- 11) Lee, E. et al (in press), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*
- 12) Sugiyama, K. et al (1992), *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 38, 335-342
- 13) Sugiyama, K. et al (1994), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 58, 211-212
- 14) Kawagishi, H. et al (2000), *Biochim. Biophys. Acta*, 1474, 299-308

◀国内情報▶

キノコの菌糸培養による有用物質の生産

株式会社応微研 代表取締役
堀内 勲

キノコの食効は古くから知られ、生薬、あるいは民間薬として利用されてきた。とりわけ、近年では、アガリクス・ブラゼイ・ムリル茸（以下アガリクス茸と言う）は免疫賦活作用が高く、いわゆるガンに効果があるとして脚光を浴び、多くの研究がされてきた¹⁻³⁾。水野¹⁻⁶⁾はこの茸の抗腫瘍成分として、 β -D-グルカンを抽出した。この茸に含有する β -D-グルカン等の多糖類の他にも、抗腫瘍成分として核酸⁷⁾、レクチン⁸⁾、ステロイド⁹⁾、脂質等¹⁰⁾にも抗腫瘍作用が見いだされた。この茸に含有する β -D-グルカン等の多糖類は、タンパクや構造多糖類と結合して存在し、人間が摂取した場合、ほとんど消化吸収されない場合が多い。当社では、液体培養後の菌糸体にセルロース、ヘミセルロース等の構造多糖類を酵素分解処理して分子量を比較的小さくし、有用物質を生産する事に成功した¹¹⁾。現在では大型タンクを設置し、大量培養を実現化している。ここでは、このキノコの菌糸培養による有用物質の生産に関する研究の一端を紹介する。

1. はじめに

アガリクス茸は、ブラジルの高原都市サンパウロ（海拔792m）近郊の草原に自生し、なかなか栽培方法が確立しないため、「幻のきのこ」として珍重されてきた。当社ではイネワラ、バガス等のイネ科植物を主成分とした発酵堆肥を用いて栽培する方法を確立し、乾燥茸として供給してきたが、栽培した乾燥茸の成分、品質、収量の安定化は困難なため、品質の安定化のためには工業的手法で有用物質を効率的に生産する事が望まれた。そこで、子実体を発生させることなく、菌糸体で培養し、有効成分を抽出する研究を行った。

2. アガリクス茸の液体培養

アガリクス茸の子実体を発生させることなく、菌糸体のまま液体培養した培養物の効果については水野により報告がある。安定的なアガリクス茸由来の有用成分を得るには、菌糸の液体培養は有効な方法と言える。そこでまずアガリクス茸の液体培養を試みた。

元菌には、アガリクス栽培で実績のある菌
HORIUCHI Isao

〒406-0045 山梨県石和町井戸242

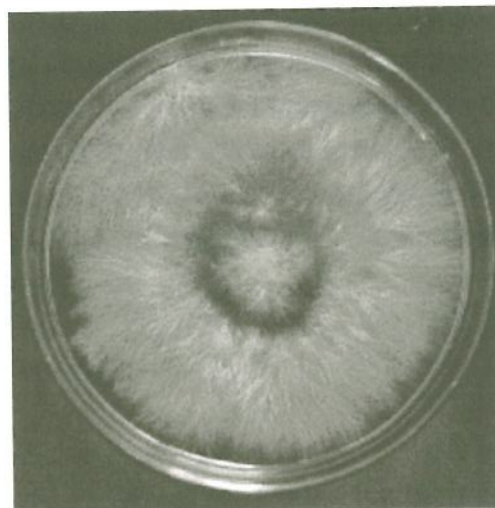


図1 *Agaricus blazei* H1株

株*Agaricus blazei* H1株を選択した。H1株は、当社が保有するアガリクス茸の菌株のなかでも成長速度が比較的速く、大型の子実体が発生する株である。必ずしも子実体で定評のある菌株が、液体菌糸培養において成長速度が速く、高い食効を示すとは限らない。しかしH1株は液体培養でも成長速度は速く、液体培養による試作でも食効が確認出来たので、H1株を用いて研究することとした。

担子菌類は細菌類と比較して成長速度が遅く、担子菌類の中でも子実体を形成するいわゆるキノコ類は極めて遅い。アガリクス茸の

場合、菌糸体重量が100倍になるために通常15~20日かかる。細菌類の数時間、カビ類の数日と比べて、はるかに長期の培養を要する。そのため、培養装置の無菌性は高いレベルに保たれている必要がある。

アガリクス茸は様々な培地で増殖するが、その増殖速度は培地によって大きく変動しない。微生物培養の一般的な培地であるポテトデキストロース培地、麦芽エキス培地、酵母エキス培地、ニンジン砂糖培地などでもアガリクス茸は良く増殖する。また、当然ながらアガリクス茸を栽培するときのコンポストの煎出液でもよく増殖する。これらの培地の中で成長速度に差違はあるが、他の微生物と比較して増殖速度の差違は少ない。アガリクス茸は、性質上増殖速度が遅く、その事自体が律速しているため、培地の違いによる増殖速度の差違が発現しにくいのであろう。後述の有効性の検討試験と風味から、酵母エキスとモルトエキス等を利用した培地に決定した。



図2 A. blazei H1株の液体培養

3. 酵素処理

前述のように、アガリクス茸の有効成分としてはβ-D-グルカンが見いだされている。β-D-グルカンは、細胞壁、細胞膜等の細胞構築物に多く存在し、タンパク質やキチン質等と強固に結合しているものが大部分を占めている。アガリクス茸をはじめとするキノコ類を摂取する最も一般的な方法は、熱湯でじっくり煎じた煎出液をお茶として飲む方法である。この方法では、比較的吸収されやすい様々な有効成分が熱水に溶出するので、そのまま食用にする場合よりは食効が高くなることが多い。アガリクス茸においても一部のβ-D-グルカンが溶出するので、比較的有効な方法である。

しかしながら、熱水抽出では煎出されないβ-D-グルカンは抽出されたものよりむしろ多く存在している。そこで、酵素処理をすることによって強固に結合した不溶性のβ-D-グルカンの結合を部分的に解き、可溶

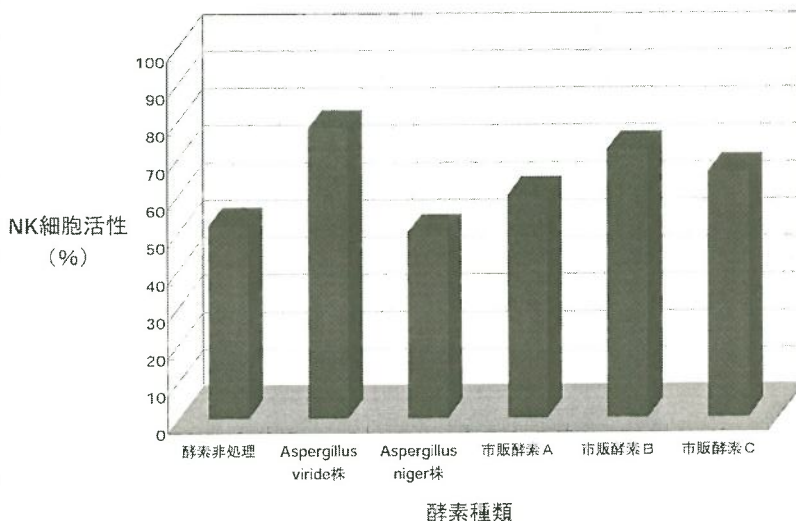


図3 酵素種類とNK細胞活性の差違

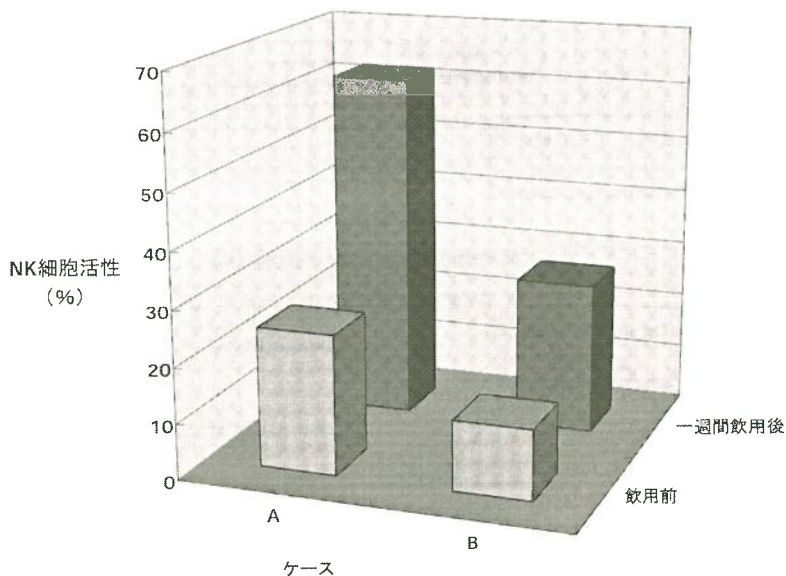


図4 ABPC飲用前後のNK細胞活性

性の β -D-グルカン量を増加させる事が出来るのでは無いかと考えた。アガリクス茸を菌糸体で培養し、得られた菌糸体に数種の酵素を作用させ、酵素種類と共に処理条件を検討した。酵素の種類と処理条件によって、得られた β -D-グルカン量と質は異なった。酵素濃度及び時間を延長すると、可溶部分は多くなるが、当然ながら β -D-グルカン自体も分解され低分子化し、最終的に糖とまで分解される場合もある。最適な β -D-グルカンの分子サイズは明らかでないため、酵素処理物を後述の有効性の検討試験に供した。その結果、①酵素非処理物と処理物では免疫賦活効果が異なる事、②酵素の種類によって免疫賦活効果が異なる事、等が分かった。その試験例として図3には酵素種類とNK細胞活性の違いについて示した。現在は最も活性の高い酵素を用いてスケールアップしているが、酵素種類及び処理条件については更に最適な条件を探索中である。

4. 有効性の検討

前述の菌糸体を培養し、酵素処理し、製剤化したものをABPC (*Agaricus blazei* practical compound) と名付け、様々な試験を行った。アガリクス茸の有効性については様々な方法で検討されている。例えばマウスを用いた抗腫瘍作用試験、マウスまたは臨床における免疫指標の変動試験等である。当社ではガン免疫に直接関与している指標が重要と考え、まずNK細胞活性に着目した。製剤化したABPCを用いて、飲用前後のNK細胞活性を測定した。

NK細胞は白血球の一種であり、血液中に存在する。活性の高いNK細胞は、ガン細胞等の異細胞を認識すると、直ちに接触し、グラニュールという顆粒を異細胞内に撃ち込む。そしてグラニュールが撃ち込まれた細胞は、アポトーシス（自殺）により死滅する。NK細胞の活性が低い場合には、逆にガン細胞に呑み込まれてしまう事さえある。これらの現象から、免疫細胞とガン細胞の細胞戦争などと呼ばれる場合もある。NK細胞活性の測定方法は非常にシンプルである。培養した白血病細胞K562に放射性同位体の ^{51}Cr 、または蛍光性のあるEuでラベルしておく。また、採血した血液よりNK細胞を分取する。ラベルした白血病細胞と、採取したNK細胞を3時間共存させ、死滅した白血病細胞の割合を測定するのである¹²⁾。一般に、ガン患者から採取したNK細胞では、この数値、すなわちNK細胞活性は低く、健常者では高い。

健常者であっても、ガン細胞、あるいはその前駆細胞が一日に数千個も発生していると言われていたが、いわゆるガンにならずに健康を保持出来るのは、NK細胞やその他の免疫細胞が健全に機能しているからである。逆に、この免疫機能が低下した場合にガンに侵されてしまうのである。NK細胞を賦活すること、すなわちNK細胞活性を上昇させる事は、非常に意義深い事と言える。

ABPCの飲用前後におけるNK細胞活性の測定 (*in vivo*) をパイロット的に行った(図

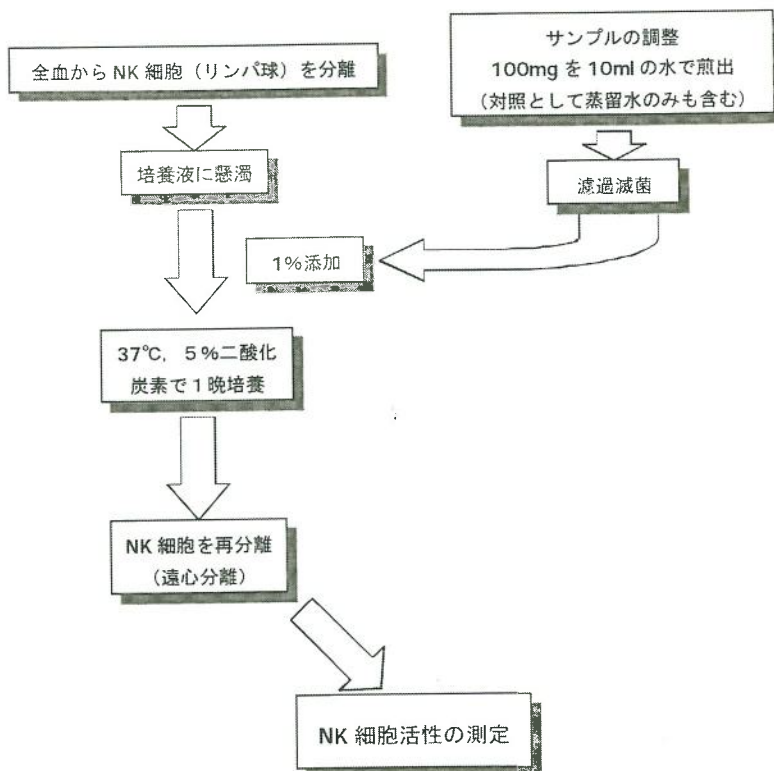


図5 *in vitro*におけるNK細胞活性の測定方法

4)。ABPCを一週間飲用後にはいずれのケースでもNK細胞活性が高まった。同様試験では、アガリクス茸煎出液を飲用した場合には、活性化したケースと、ほとんど変化が見られなかったケースがあった。アガリクス茸煎出液そのものでは β -D-グルカンの分子量が比較的大きいため、消化器系が衰弱化した人の場合はあまり効果がみられないケースがあると考えられるが、ABPCでは、酵素処理によって低分子化されているため、消化器系が衰弱化した場合であっても吸収されたり、腸管免疫が活性化されるためと考えられる。

*in vivo*におけるNK細胞活性の測定では個体差が大きいため、同一サンプルの評価は可能であるが、多種サンプルの評価をすることは難しい。そこで、採取したNK細胞にサンプルの抽出液を細胞培養液に添加し、一晚培養した後にNK細胞活性を測定した(*in vitro*)。対象として水を添加した物も測定し、比較した(図5)。

*in vitro*におけるNK細胞活性試験においても、ABPCには免疫賦活効果があることが分かった(図6)。しかし、*in vitro*における試験では、*in vivo*における変化ほど大きな賦活効果は見られなかった。体外に分取して培養している為、他の組織からの相乗効果が期待出来ない為、あるいは処理時間が一晚であり、比較的短い為と考えられる。この評価方法を用いて、培養条件、酵素処理条件を検討し、更なる食効の向上を目指す。

5. スケールアップ

需要の拡大に伴い、ABPC生産のスケールアップを試みた。まず、2tのタンクを設置し、培養を試みた。長期培養により、攪拌装置、エア等からの雑菌混入を防ぐため、出来るだけ単純構造のタンクを設計した。2tのタンクを用いた培養試験では①ばつき量は細菌等の培養と比べるとはるかに少ないこと、②菌糸がマリモ状になり、ある程度大きくなると自然に分かれるため、積極的な攪拌は必要な

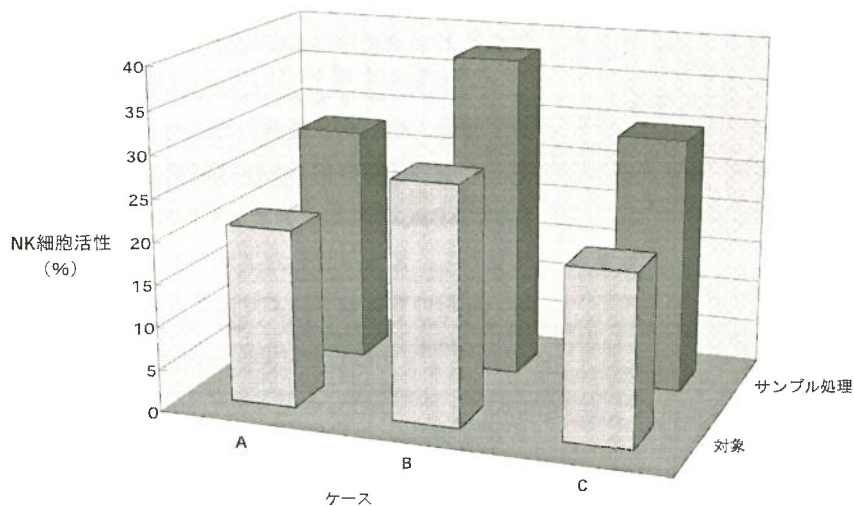


図6 *in vitro*処理したABPCのNK細胞活性

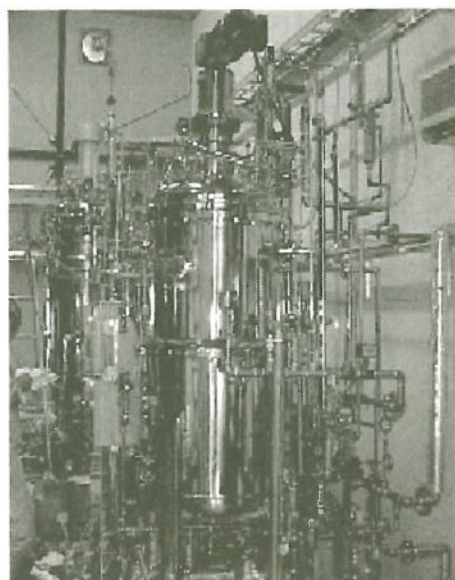


図7 大規模培養シードタンク

いこと、の2点が明らかになった。それを元に更にスケールアップし、15tタンクを設置し、大規模培養を開始した。大規模培養の試験では、①培養条件によって成分はあまり変化しないこと、②培養条件によって収率が異なること、③シード率は1.5%程度が最も効率が良いこと、等が明らかになった。

6. 保存性と製剤化

アガリクス茸を菌糸培養し、酵素処理したものは、可溶性多糖の濃度が高いため粘性が高く乾燥が難しい。しかし、乾燥しないまま

では保存性が悪く、利便性も低い。その為、保存性と製剤化の為に乾燥酵母をキャリアとして利用する事とした。乾燥酵母の添加によって乾燥、粉末化が可能となった。酵母の食効としては整腸効果と、免疫賦活効果もあるので、ABPCのキャリアとしては最適である。すなわち、低分子化したアガリクス由来成分は、酵母の整腸効果により効率的に摂取することが出来るのである。

7. 最後に

このようにして、液体菌糸培養、酵素処理、酵母添加、乾燥を経て、製剤化している。食品として食効の高いキノコ類はそのまま利用する他、培養、酵素処理技術を導入する事により、更にその有効性を高める事が出来る。現在、様々な食品の研究が行われ、製薬には無い食効が数多く報告されている。今後更に研究が進展し、新しい技術を導入することによりその食効を更に高める事が出来る事と思われる。

食品は健康を維持する為に最も重要であると考え。飽食の時代にあって、炭水化物やタンパク質等の代表的な栄養素は十分な中で、ガン、糖尿病を代表とする生活習慣病は年々増加している。食品による病には、やはり食品で対処するのが最善と考える。当社では、いわば「健康維持食品」を開発し提供することにより、より多くの方が健康で幸福な生活を送ることが出来る事を熱望する。

引用文献

- 1) 水野卓：なぜ姫マツタケは効くのか、創樹社（1987）
- 2) 岩出亥之助、伊藤均：奇跡の姫マツタケ、地球社（1982）
- 3) 藤宮芳章、小堀英和、大志万浩一、曾田良、海老名卓三郎：日本食品科学会誌 45：4 246-252 (1998)
- 4) 水野卓、河岸洋和、伊藤均、志村圭志郎：静岡大学農学部報 38：29（1988）
- 5) 水野卓、伊藤均、志村圭志郎、川出光生、萩原俊彦、中村卓二：抗腫瘍活性を有する中性多糖体の製法、特開昭64-67195（1989）
- 6) 水野卓、伊藤均、志村圭志郎、川出光生、萩原俊彦、中村卓二：抗腫瘍活性を有する酸性多糖体の製法、特開昭64-67194（1989）
- 7) 水野卓、伊藤均、志村圭志郎、川出光生、河岸洋和、萩原俊彦、中村卓二：抗腫瘍剤（核酸）、特開昭64-67127（1989）
- 8) 水野卓：The Chemical Times, 131：13（1989）
- 9) Kawagishi,H., Katsumi,R., Sazawa, T., Mizuno, T., Hagiwara, T., Nakamura, T.：Carbohydr. Res., 183：150（1988）
- 10) 伊藤均、志村圭志郎：第46回日本癌学会総会記事, p346（1987）；第47回日本癌学会総会記事, p503（1988）
- 11) 堀内勲：生理活性物質及びその製造方法、特開平10-287584(1997)
- 12) Nagao, F., Yabe, T., Xu,M., Yokoyama, K., Saito,K., Okumura, K.：Immunol. Inves-tigatuion, 25：5&6 507-518（1996）

◀国内情報▶

ウイルスを利用した赤潮対策研究の現状と将来

水産庁 瀬戸内海区水産研究所・赤潮環境部

長崎 慶三

貝類斃死の原因となる有害赤潮藻ヘテロカプサに対して選択的に感染・溶藻する天然ウイルスが発見された。ウイルスの特異的殺藻性を利用してヘテロカプサだけを選択的に駆除することで、貝類養殖産業に対してきわめて有用な技術支援が達成されるものと期待される。本稿では、ヘテロカプサを宿主とする新奇ウイルス (HcV) に関するこれまでの研究成果を中心に、赤潮対策研究の現状と将来展望を紹介する。

1. はじめに

1980年代末にわが国に突如出現し定着した新型赤潮原因プランクトン「ヘテロカプサ・サーキュラリスカーマ (図1)¹⁾」は、カキ、アサリ、アコヤガイ等の貝類を選択的に攻撃し死滅させる性質を持つ²⁾。従来まで知られていた赤潮プランクトンの多くは、主に魚類養殖に対して被害を与えるものであったが³⁾、ヘテロカプサの出現により魚類養殖のみならず貝類養殖も赤潮の脅威に曝されることとなった。1998年に広島名産の養殖カキにもたらされた未曾有の赤潮被害 (被害額約39億円) はその一例である。

ヘテロカプサは、1988年夏に高知県浦ノ内湾で初めて確認されて以来、驚異的な速さでその分布域を広げてきた。2000年現在のヘテロカプサ発生域の南端は熊本県、北端は福井県、東端は静岡県にまで達している。これまでのヘテロカプサ分布域の拡大傾向に鑑み、今後のさらなる赤潮発生域の拡大ならびに諸外国での赤潮の発生が強く懸念される。このため、貝類養殖業を抱える各地方自治体からは、安全かつ効果的な赤潮対策に関する迅速な研究開発が強く望まれている。しかし残念なことに、科学技術の成熟期といわれる21世紀を迎えようとする現代に至っても、有効な赤潮防除技術は未だ確立されていない。これ

NAGASAKI Keizo

〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5

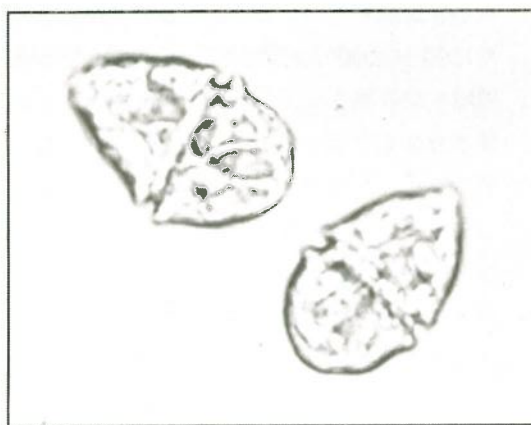


図1 有害赤潮藻ヘテロカプサの顕像、細胞長径は約20 μm

まで、物理化学的手法を用いた様々な赤潮防除のアイデアが提案されてきた^{4)~7)}。しかしながら、適用規模、コスト、安全性などの問題点が解決されず、いずれのアイデアも実用化には至っていないのが現状である。世界的な食糧問題に直面する新世紀を迎えるに当たり、水産業に甚大な被害をもたらす有害赤潮の予知技術・防除技術を構築することは、タンパク資源の多くを海洋に依存する我が国にとって国家的急務の一つであるといえる。

こうした背景の下、自然海水中に住む微生物の力を利用した「生物学的赤潮防除」の可能性が近年注目されるようになった⁸⁾。いかなる赤潮も時間の経過とともに消滅する⁹⁾。この事実は、海洋環境中に赤潮を抑制・除去しようとする自然の力、言い換えれば天然の抗赤潮作用とも呼ぶべき恒常性維持機能

(元々の状態に戻そうとする働き)が存在していることを示している。筆者らは、ヘテロカプサに対する特異的攻撃性を持つ天然微生物の分離を5年間にわたり試みた結果、ヘテロカプサに感染し死滅させるウイルス(HcV:図2)の分離に成功した。

2. 天然ウイルスHcVによるヘテロカプサ赤潮防除の可能性

HcVは、粒径約0.2ミクロン(1ミリの5000分の1)の2本鎖DNAウイルスである。HcVに感染したヘテロカプサ細胞は徐々に運動性を失い、48-72時間以内に死滅する。このとき死滅したヘテロカプサから1細胞あたり1300-1600個の複製された子孫HcV粒子が環境中に放出され、これらが未感染のヘテロカプサ細胞に対して新たな感染を引き起こす。

HcVの特徴として特筆すべきは、その宿主特異性がきわめて高く、有害赤潮藻ヘテロカプサのみを選択的に死滅させる点にある。これまでの筆者らの実験では、ヘテロカプサ以外の海産植物プランクトン24種に対する影響は認められていない。この事実、HcVが天然の海洋環境中でヘテロカプサ赤潮の動態を

特異的に左右する生物因子として存在している可能性を示している。これらの知見に基づき、筆者らは、HcVの生物農薬的应用によりヘテロカプサを選択的に駆除する技術の開発を目指している。本研究の主目的は、自然のウイルスが備え持つ殺藻作用(抗赤潮活性)を利用した、海に対する異物の投入を伴わない赤潮防除の可能性を探ることにある。その実用化の可能性を検討するには、「適用規模」「施用効果」「コスト」「安全性」といった点を十分に吟味する必要がある¹⁰⁾。

まず「適用規模」については、ウイルス自体に備わっている自己複製能がこの問題をクリアする鍵となる。HcVは、宿主であるヘテロカプサ細胞を破壊することによってのみ自己増殖し、宿主細胞が存在する環境下では、約5-6日かけて200万倍以上に増える。したがって、適時に比較的少量のウイルスを投入することで広範囲の赤潮を制御し得るのではないか。今後、HcVの増殖特性をさらに詳細に検討することで、その可能性についてより現実的な論議が可能となろう。

第二に「コスト」について。現在、小規模ながら室内実験系でHcVの培養を比較的安価に行うことができる。培養に特殊な機器や試薬は不要である。HcVの最大収量(現時点で

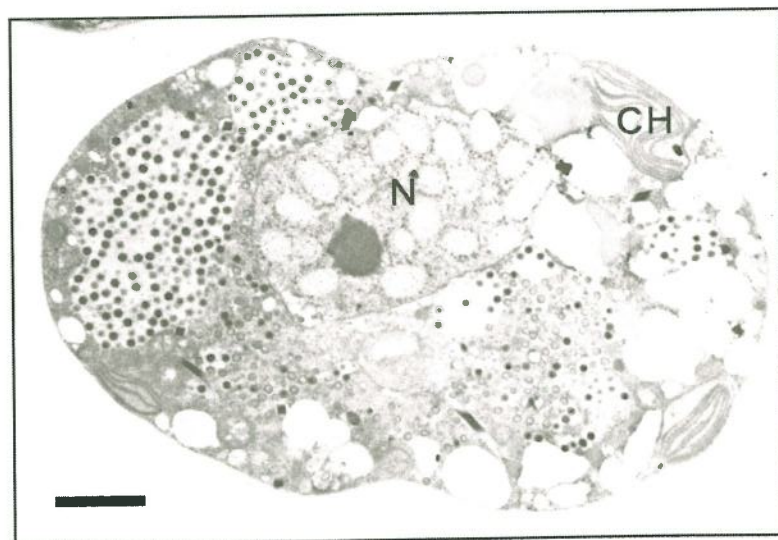


図2 HcVに感染し死滅途上にあるヘテロカプサの透過型電子顕微鏡像、細胞質内にある多数見える黒っぽい粒子がHcV。N、核；CH、葉緑体、バーは2 μ m

は1cc当たり数千万個)をさらに高めるべく培養法を改善し、大量生産システムを構築することができれば、低コストでの製剤頒布が可能となろう。今後の課題として、HcVの製剤化技術および長期安定保存技術を早急に開発する必要がある。

第三に「施用効果」について。一般にウイルスによる生物駆除を考える場合、ウイルスに対する抵抗性を持つ宿主生物の出現が最大の障壁となる。すなわちウイルスへの抵抗性を備えたヘテロカプサ細胞が出現した場合、HcVは赤潮への駆除効果を発揮しない可能性がある¹¹⁾。こうした点に鑑み、筆者らは、これまでに西日本各地から分離された18株のヘテロカプサについてウイルス抵抗性のチェックを行った。その結果、実験に供したすべてのヘテロカプサ株がウイルスに対して感受性を示すことを確認した。この結果は、HcVによるヘテロカプサへの高度な殺藻効果を期待させるものである。

そして第四に「安全性」の問題。HcVは自然の生態系の中から分離されたものであり、人為的な遺伝子操作の手が一切加わっていない。天然の赤潮制御因子であるHcVを抽出し拡大利用することで赤潮を防除する技術、すなわち「環境にやさしい赤潮防除技術」の確立に向けた研究は、産業的にも学問的にも意味深い試みといえるだろう。さらに、本ウイルスの宿主特異性はかなり高い。生物農薬的な応用を考えている以上、HcVがターゲットとなる生物種(ヘテロカプサ)のみに特異的に作用し、それ以外の生態系構成要素にはできるだけ影響しないことが望ましい。HcVの宿主特異性をさらに詳細に解析することは、ウイルスの現場応用の可能性を吟味する上で欠かせない要件となろう。

3. ウイルスを用いた赤潮対策研究の将来展望

生物間の相互作用による制御力を利用して有害生物を選択的に防除すること。これが生物農薬の概念である。農業分野ではいくつか

の生物利用農薬がすでに実用化されており、現在も生態系との調和を考慮した新しい病害虫対策の一環として、各種病害虫に対する天敵微生物の使用が従来の化学農薬に代わる手法としてさかんに研究されている。これに対して、水産分野への生物農薬という概念の導入は、農業における田畑(閉鎖系)とは全く異なる「海」という開放系がその使用の場となるため、規模・安全性などの問題が解決されず、大きく立ち後れているのが現状である。HcVという生物農薬のツールとして格好の条件を備えた生物因子に関する研究を推進することで、水産分野での天敵生物利用の可能性が必然的に、測られることとなろう。

現在、ウイルスの製剤化技術及び大量培養技術の構築に焦点を当てた研究が、エス・ディー・エスバイオテック社つくば研究所により進められつつある。また一方で、筆者らの研究グループでは、HcVの現場環境中での挙動、生活史、増殖特性、遺伝情報等に関する基礎研究を十分に行い、HcVの生理学的性状、生態学的性状、および分子生物学的性状を明らかにするための研究を計画している。これらの基礎的知見の集積は、開発しようとする新技術の理論的裏付けを成すのみならず、散布後のウイルスの挙動把握、安全性の保証、散布規模の概算、散布時期の決定、散布技術の開発など、実用化に向けて必要な数多くの情報ならびに技術を提供するものである。宿主側のウイルス抵抗性発現機構、宿主細胞間におけるウイルスによる遺伝子の平行移動や、ヘテロカプサ以外の第3宿主の存在の可能性など、まだいくつもの解明すべき難問が山積しているが、基礎研究と実用化研究との有機的連携により、抗ヘテロカプサ赤潮製剤の開発にかかる時間を飛躍的に短縮することが可能になるものと期待される。

文献

- 1) Horiguchi, T. (1995). *Phycol. Res.*, 43, 129-136
- 2) 玉井恭一 (1999), 日本プランクトン学

会報, 46, 153-154

3) Hallegraeff, G. M. (1993), *Phycologia*, 32, 79-99

4) 丸山俊朗ら (1984), 日本水産学会誌, 50, 457-463

5) ムハマド シャヒドール ハクラ (1991), 水産増殖, 39, 141-145

6) 村田寿ら (1989), 日本水産学会誌, 55, 1075-1082

7) 茂野邦彦ら (1980), 昭和54年度赤潮対策技術開発試験報告書, pp. 14-41

8) 石田祐三郎 (1994), 赤潮と微生物-環境にやさしい微生物農薬を求めて, 9-21, 恒星社厚生閣, 東京

9) Nagasaki, K. et al (1994), *J. Plankton Res.*, 16, 1595-1599

10) 長崎慶三 (1998), *Microb. Environ.*, 13, 109-113

11) Nagasaki, K. et al (1999), *J. Plankton Res.*, 21, 2219-2226



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
および高血圧に關与するヒト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
……………竹原利明
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) 基礎的研究推進事業 (若手研究者支援型) 課題
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▶

飼料中アミノ酸組成の改善による 豚からの窒素排泄量低減技術

農林水産省 九州農業試験場

梶 雄 次

畜産業から排出される窒素は水質悪化の原因となりうるため、規制が厳しくなる方向にある。これに対応する一つの方向として、家畜体内から排泄される窒素量を低減する技術が開発された。通常、豚に給与される飼料中蛋白質には、豚が生産性を保つために必要な量（要求量）を上回るアミノ酸が含まれている。飼料中のアミノ酸組成を要求量に近づけ過剰なアミノ酸を削減することによって、尿中への窒素排泄量は35%低減が可能である。

1. はじめに

畜産業から排出される窒素は、富栄養化による水質の悪化や硝酸性窒素による地下水汚染の原因となりうる。そのため、窒素の排出について法的な規制が設けられているが、これらの規制は強化される方向にある。水質汚濁防止法は平成10年10月に改定され、畜産業に関わる排水基準は、それまでの最大値700mg/L（日間平均350mg/L）から、最大値260mg/L（日間平均200mg/L）に引き下げられたが、平成15年には再改定が予定されている。また、環境庁は平成11年2月に硝酸性窒素を環境基準の項目に追加し、地下水等の水質汚濁を防止する観点から規制の検討を行っている。さらに平成12年4月には、排水中の濃度による規制に代わる窒素の総量規制について、中央環境審議会で検討が開始されている。

畜産業の維持・発展のためには、このような窒素の排出規制に対する動向に対応するとともに、環境への配慮を積極的に進めていく必要がある。本稿では、豚体内から排泄される窒素量を栄養管理の面から低減する技術について紹介する。

2. 窒素排泄量低減技術の基本的な考え方

KAJI Yuji

〒861-1192 熊本県菊池郡西合志町須屋2421

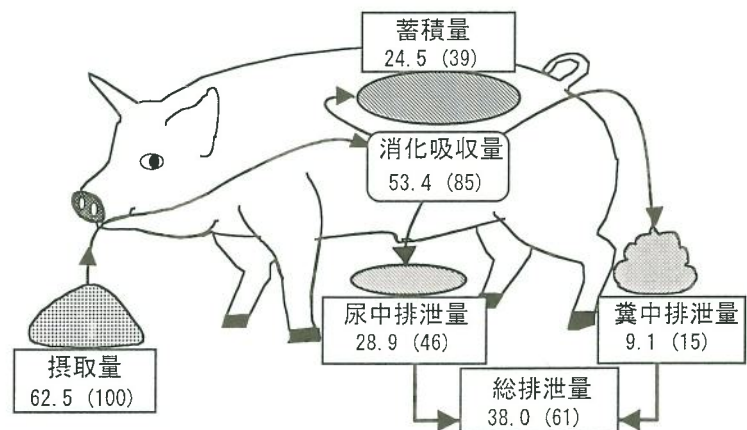


図1 CP14%飼料を体重80kgの豚に給与したときの窒素代謝量 (g/日)

()内の数値は窒素摂取量を100%としたときの相対値

家畜が正常に発育し生産を行うためには、飼料から蛋白質を摂取する必要がある。家畜体内では摂取された蛋白質は、アミノ酸にまで分解され吸収されて体蛋白質の合成に使われるが、余剰なアミノ酸のアミノ基は最終的に尿素として尿中に排泄される。これを窒素代謝の観点から示したのが図1である。図1に示されるように、通常の飼料を豚に給与した場合の尿及び糞中への窒素排泄量は3 : 1程度で、尿中への排泄量が多い。これらのことから、豚体内からの窒素排泄量を低減するためには、筋肉等体蛋白質の合成（窒素の体内蓄積）に必要とする量以上の過剰なアミノ酸（蛋白質）の給与をできるだけ避けることが、その基本的な考え方となる。

3. 窒素排泄量低減飼料の設計

上記の基本的な考え方を実際に飼料の配合・給与へ反映させるためには、第1にアミノ酸の必要量（要求量）を的確に把握する、第2にできるだけアミノ酸要求量に近い（過剰なアミノ酸の少ない）飼料を配合して給与する必要がある。アミノ酸要求量の的確な把握については、生産性（1日増体量）に応じたアミノ酸要求量の算定法が、日本飼養標準・豚りに掲載されているのでそちらを参照していただきたい。

以下に第2の点について解説する。図2に飼料中の粗蛋白質（CP）含量が異なる飼料の必須アミノ酸含量を、アミノ酸要求量に対する割合で示した。通常の飼料では、多くの場合に穀類や大豆粕等の飼料原料に由来するアミノ酸で要求量が満たされている（要求量に対する充足率は100%以上、CP16%飼料を参照）。飼料中のリジン含量が要求量に一致するまでCP含量を下げても、他のアミノ酸は要求量を上回っている（CP14%飼料を参照）。さらに、飼料中のCP含量を下げると必

須アミノ酸含量が要求量を下回り、アミノ酸欠乏飼料となる。必須アミノ酸が不足した飼料を給与すると、豚の発育速度が遅くなり生産性は低下する。この様に飼料中CP含量を低下させた場合に、豚で欠乏しやすい必須アミノ酸はリジン、トレオニン、メチオニン（含硫アミノ酸）、トリプトファンであるが、これらのアミノ酸の結晶は飼料添加物として認可されている。低CP飼料に欠乏するアミノ酸を添加してアミノ酸要求量を充足させることにより、豚の発育を回復させることは可能である。このような低CPアミノ酸添加飼料では、飼料中のアミノ酸組成は要求量に近づき、要求量を上回る過剰なアミノ酸が削減されるために、これに応じた窒素排泄量の低減が期待できる。

4. 低CPアミノ酸添加飼料による窒素排泄量の低減効果

低CPアミノ酸添加飼料による窒素排泄量の低減効果を明らかにする目的で、われわれが行った窒素出納試験の結果を表1に示した。対照区の飼料として穀類等の飼料原料に由来するアミノ酸で全てのアミノ酸要求量を満たし、リジン含量を要求量に一致させたCP14%の飼料を設計した。一方、低CPアミノ酸添加区の飼料は、まず蛋白質の供給源である大豆粕の配合割合を減らし、その分トウモロコシの割合を増やした低CP飼料を設計して、これに飼料原料由来のアミノ酸のみでは明らかに欠乏するリジンとトレオニンを要求量を満たすように添加した。これらの飼料を体重75~95kgの豚に給与したところ、窒素摂取量は低CPアミノ酸添加区の方が少なかったが、窒素蓄積量は両区で同じであり筋肉等蛋白質の生産性は維持されていた。尿中への窒素排泄量は、低CPアミノ酸添加区で有意に低下しており、対照区に対して窒素排泄量は35%低減した。動物は余剰なエネルギーを脂肪として蓄えることができるが、余剰のアミノ酸を長期的に蓄える機構が存在しない。一方で、蛋白質の蓄積能力には上限が

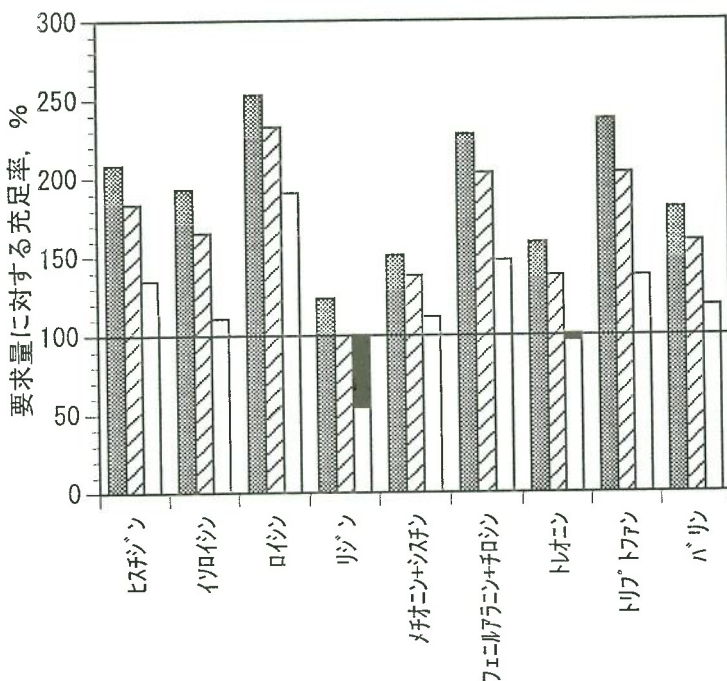


図2 飼料中CP含量の低下にともなう過剰アミノ酸の削減
 ■CP16%飼料 ▨CP14%飼料 □アミノ酸欠乏飼料
 ■添加結晶アミノ酸

あるため、余剰のアミノ酸は速やかに分解され窒素は尿中に排泄される。窒素蓄積量は両区で同じであり、尿中への窒素排泄量が低CPアミノ酸添加区で低いのは、蓄積されなかった余剰の窒素が削減されたためである。このことは、吸収された窒素の蓄積割合（窒素の蓄積率）が、低CPアミノ酸添加区で有意に高くなっていることに示されている。消化吸収されずに糞中へ排泄された窒素量は両区で差がない。

5. 低CPアミノ酸添加飼料の給与による脂肪蓄積量増加の可能性

低CPアミノ酸添加飼料を給与した場合に、脂肪蓄積量が増加することが報告されている。その原因は2つ考えられる。

第1は、アミノ酸要求量の把握が不的確であり、給与飼料中のアミノ酸が欠乏した場合である。古谷ら²⁾は、低CPアミノ酸添加飼料の窒素低減効果を明らかにする目的で、体重70～105kgまでの豚の1日増体量が850gであると想定して飼料設計し試験を実施した。飼料中アミノ酸含量が要求量を十分に上回っていた対照区では1日増体量が想定値を大きく上回り、低CPアミノ酸添加区の1日増体量はこれより有意に低い値であった。背脂肪の厚さは、飼料摂取量が低CPアミノ酸添加区で若干少ないにもかかわらず、約5mm有意に厚くなった。アミノ酸が不足した条件で豚を飼育すると、1日増体量が劣り、脂肪蓄積量が増加することが多くの文献で報告されている。このような危険性を回避するためには、飼育する豚の1日増体量を的確に把握しそれに応じたアミノ酸要求量を算定することが重要であり、飼料原料中のアミノ酸組成も実際の分析値を用いるべきである。

第2の原因として考えられるのは、過剰なアミノ酸の削減によりエネルギーが節約されて脂肪蓄積に向けられることである。Nobletら³⁾はCP17.8%の対照飼料とCP15.3%の低CPリジン添加飼料を体重20kgの豚に7週間給与して、窒素及びエネルギー出納を測定し

表1 窒素出納の結果

	低CPアミノ酸 添加区	対照区	相対値	P 危険率
飼料中CP含量, %	10.8	14.0		
窒素出納(g/日)				
摂取量	51.8	62.5	83	0.030
蓄積量	24.5	24.5	100	0.987
尿中排泄量	18.8	28.9	65	0.001
糞中排泄量	8.5	9.1	93	0.240
総排泄量	27.3	38.0	72	0.003
吸収窒素の蓄積率, %	47.3	39.2	121	0.024

注) 相対値は対照飼料区の成績(100%)に対する低CPアミノ酸添加飼料区の成績の割合

た。その結果、低CPリジン添加区の1日あたりの尿中窒素排泄量が5.8g少なく、熱生産量が67kcal少なかった。前者は尿中に排泄される窒素化合物自体のエネルギーが節約されたことを示し、後者は蛋白質の異化により発生する熱エネルギーが節約されたことを示す。これらのエネルギー節約量を合計し、窒素1gあたりの数値に換算すると18.6kcalとなる。古谷らは上述の文献で、対照区の豚が体重30kgから105kgになるまでに3696gの窒素が尿中に排泄されたと報告している。摂取した可消化エネルギー量が同じでも、低CPアミノ酸添加飼料の給与により尿中窒素排泄量が35%低減すれば、24,060kcalが節約されて体脂肪量が2.5kg増加することになる。これは標準的な豚の出荷体重(110kg)での体脂肪量30kgの8.3%に相当し、背脂肪が約2mm厚くなることを意味する。

6. おわりに

豚からの窒素排泄量低減技術は、これまで積み重ねられてきたアミノ酸要求量の研究を基盤とした応用技術であり、ほぼ完成した技術である。しかし、低CPアミノ酸添加飼料の給与による脂肪蓄積の増加は、豚肉(枝肉)の格付(価格)低下に結びつく可能性がある。エネルギーの分配を脂肪蓄積が起こりにくい

方向に誘導する研究や、脂肪蓄積量のより少ない豚の育種が進展することを期待している。

文献

1) 農林水産技術会議事務局 (1998), 日本

飼養標準・豚, 中央畜産会, 東京.

2) 古谷 修ら (1997), 日本養豚学会誌, 34, 15-21.

3) Noblet, J. et al (1987), J. Anim. Sci. 65, 717-726.



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: 八塚信明)
- 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

◀国内情報▶

毛色関連遺伝子の多型を用いた豚品種の推定

農林水産省 畜産試験場育種部 遺伝子機能研究室

三橋 忠由

ブタの毛色には、第6番染色体短腕にあるメラノサイト刺激ホルモンレセプター(MC1R)遺伝子の型が関係している。MC1R遺伝子の第2膜貫通領域付近の塩基配列型により、褐色種(デュロック種)、中国黒色種(梅山豚)、西洋白色種(ランドレース種、大ヨークシャー種)の推定が可能であった。国内でいうところの純粋黒豚=パークシャー種のMC1R型は白色豚と同じであり、これら2品種は識別できなかった。しかし、第8番染色体短腕にあるKIT遺伝子には白色品種と有色品種との間で違いが見られ、この情報を用い、西洋白色種とパークシャー種を識別することが可能であった。さらに、KIT遺伝子のイントロン多型には東洋種特異的あるいは西洋種特異的な配列型が存在し、これにより国内のパークシャー種(東洋型)とハンブシャー種(西洋型)の推定が可能と思われた。

1. はじめに

スーパーでは「黒豚」の表示を多く見かけるようになったが、消費者等から「本当の黒豚であるか疑問」、「ランドレースなどと交配すると白い豚になる。白い豚を黒豚と表示するのはどうか」といった意見があがっていた。このため「黒豚」について、純粋パークシャー種同士の交配による産子とする、ことになった。しかし、食肉になった段階で純粋パークシャー種であることが分かるのか、という疑問が生じる。

我々は、毛色関連遺伝子の多型から豚の品種を推定しようと試みた。なぜなら、通常、ブタの品種を決めるには白、茶、黒等の毛色が大きな役割を果たしているからである(図1)。このことは、毛色を支配する遺伝子の配列には品種内では異ならず、品種間でのみ異なる部分が存在するであろうことを示す。

ここで問題となっていた「黒豚」とは鼻端、尾端と四肢端の計6箇所が白く「六白」といわれているパークシャー種のことである。パークシャー種の脂肪は融点が高く、肉には甘みがあり特においしいとされてきた。しかし、一腹産子数が少なく、体重の増加も遅いため

MIHASHI Tadayoshi
〒305-0901 茨城県つくば市荃崎町池の題台2

飼養頭数は徐々に減少し、平成9年2月時点では全国で約12万頭(全体の約1.8%)となっていた。

2. MC1R遺伝子

平成10年6月頃、DNAレベルでの豚の品種識別を目指し、畜産試験場とSTAFF研究所は交流共同研究の中で毛色関連遺伝子のDNA多型に関する研究を始めた。毛色は実験家系を用いた連鎖解析の結果からブタ第6番染色体上にその支配領域があることが分かっており、その候補遺伝子はメラノサイト刺激ホルモンレセプター(MC1R)遺伝子であった。国内の主要品種は毛色において異なることから、MC1R遺伝子の解析を行えば主要な品種については交雑種かを知ることができると予測され、MC1Rの塩基配列測定を行った。

ランドレース種(白色)、大ヨークシャー種(白色)、デュロック種(褐色)、パークシャー種(黒色六白)、ハンブシャー種(黒色白ベルト)、梅山豚(黒色四肢端白)、モンカイ(黒色)、ニホンイノシシ(野生褐色)について、MC1R遺伝子の第2膜貫通領域を含む664bpの塩基配列を調べた。遺伝子増幅のためのプライマーの設計はデータベース

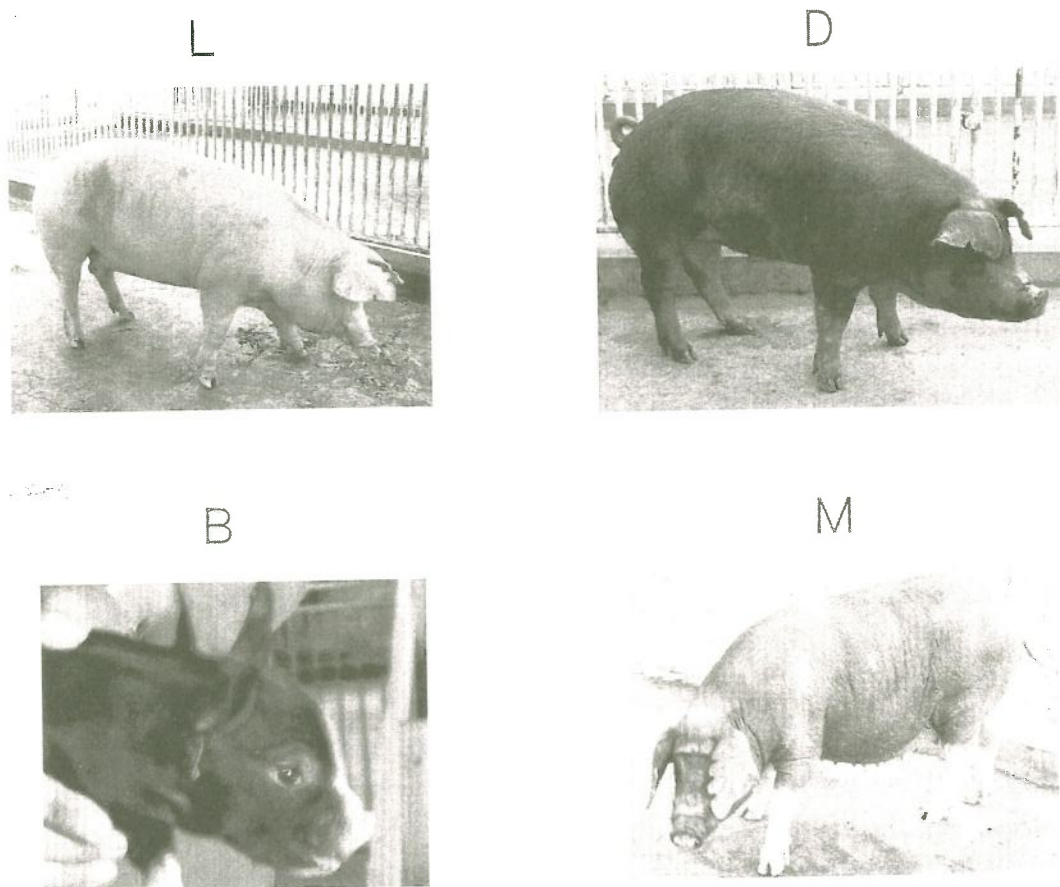


図1 豚主要品種とその毛色

- L. ランドレース種. 毛色は白色であり成長も繁殖性も良好とされる。
- D. デュロック種. 毛色は褐色であり肉質がよいとされる。
- B. バークシャー種 (子豚). 鼻先, 尾端, 四肢端が白い (六白)。肉質が良好であるが産子数が少なく, 増体も小さい。
- M. メイシャントン (梅山豚). 黒色で畜産試験場保有の個体は四肢端が白い。産子数が多い (16頭程度)。

(GenBank)に登録されているウシ, ヒト, マウスの当該遺伝子の情報から共通性の高い配列を作ることにより行った。

各ブタ品種のMC1R遺伝子の塩基配列決定を行った結果, 8箇所に塩基配列の違いを認めた。違いの認められた部分をアミノ酸の翻訳単位コドンで示した(表1)。コドン90, 97, 116, 119, 159, 161, 163, 238において塩基置換が観察され, コドン116, 163はアミノ酸の変化を伴わない置換, その他の変異は全てアミノ酸の変化を伴う置換であった。なお, コドン番号はマウスのMC1R遺伝子の配列の番号に倣った。

品種を簡易に識別するという目的で, 塩基配列の違いが明らかになった部分を制限酵素

断片長多型によって検出することを試みた(図2)。制限酵素断片長多型はRFLP (Restriction fragment length polymorphisms)と呼ばれ, 生物の個体間で遺伝子の塩基配列の異なる部位に制限酵素切断部位が存在すると, 制限酵素切断断片のサイズが異なることを利用してその遺伝子の多型を解析するものである。

研究の途中, 平成10年11月にスウェーデンのグループから, バークシャー種についての情報は含まれていなかったが, 複数の品種についてMC1R遺伝子の多型測定の結果が公表された¹⁾。同じ品種についての測定結果は双方一致していた。また, バークシャー種については, 調べた範囲では西洋白色種と同じ型

表1 各品種に認められたMC1R遺伝子の配列

					コドン番号							
					90	97	116	119	159	161	163	238
M1	ニホンイノシシ	シ	シ		GTG	CTG	AAC	GAC	GCG	CGG	ATT	GCG
M2	ニホンイノシシ	シ	シ		---	---	---	---	---	---	---C	---A
M3	大ヨークシャー	シ	シ		---	---	---T	A--	---	---	---C	---
	ランドレース	シ	シ									
	パークシャー	シ	シ									
	ハンブシャー	シ	シ									
M4	デュロック	シ	シ		---	---	--T	A--	---	T--	---C	---
M5	メイシャン	シ	シ		---	---	--T	---	-T-	---	---C	A--
M6	モンカイ	シ	シ		A--	-C-	---	---	---	---	---C	---A

配列番号M1はニホンイノシシ6個体からの配列である。ニホンイノシシ2個体はM1およびM2のヘテロ型であった。M3に示す塩基配列は、大ヨークシャー6個体、ランドレース2個体、パークシャー8個体、ハンブシャー8個体からのものである。またランドレースでは上記のM3に示す塩基配列のホモ型2個体以外に、M3およびM4のヘテロ型が2個体、M4のホモ型が2個体であった。M5はデュロック6個体からの配列である。メイシャン6個体とモンカイ3個体を調べた結果、すべての個体はM6に示すタイプのホモ型であった。

を示しており(表1)、MC1Rの遺伝子型のみでは識別できないこともわかった。

3. KIT遺伝子

MC1R遺伝子の情報からだけでは、国内で問題となっていた西洋白色種(ランドレース種や大ヨークシャー種)とパークシャー種の識別ができなかった。そこで、毛色に関連するとされるもう一つの遺伝子、KIT遺伝子の塩基配列調査を行った。なお、KIT遺伝子に関する知見は既にヨーロッパのグループにより得られていたことを明記しておく。

大ヨークシャー及びランドレースの白色は優性である。白色の理由が、KIT遺伝子の重複と重複遺伝子における変異によることがJohansson等²⁾、Markland等³⁾により示されていた。

すなわち、遺伝子は普通は1対と思われがちだが西洋白色種のKIT遺伝子は重複しており、イントロン18に4塩基対の欠失をもつ遺伝子がある。白色豚は、計2対4つのKIT遺伝子を持つことになる。また、白色が優性であることを考慮すると、有色ブタと交配されて生まれた白色豚は3つのKIT遺伝子を持つ、ということにもなる。そして、3つか4つあるKIT遺伝子の1つか2つかは、エクソン17とイントロン17の境界に変異をもつ。変異型はイントロン17の最初の塩基がグアニン(G)からアデニン(A)に変化している。こ

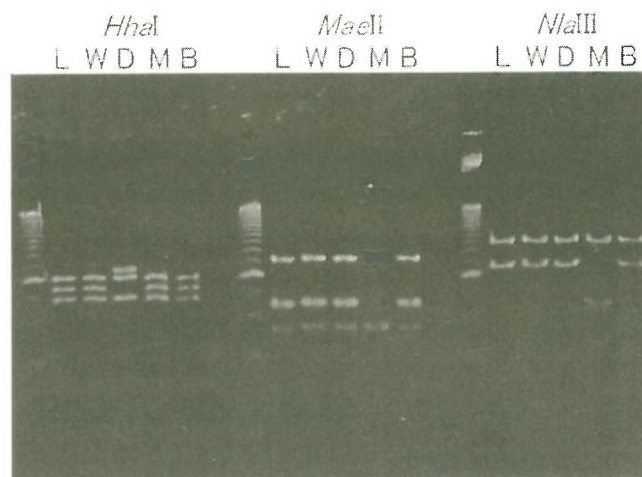


図2 MC1R遺伝子の制限酵素多型測定結果

L:ランドレース種(白色)。W:大ヨークシャー種(白色)。D:デュロック種(褐色)。M:メイシャン(黒色主に四肢端白)。B:パークシャー種(黒色六白)

のにより、その転写産物はエクソン17を欠く。このようなKITは(KIT遺伝子から作られる受容体)正常な機能を欠いており、これが色素細胞の分布に影響していると推定される。

KIT遺伝子はブタ第8染色体の短腕に存在し、ヒトでは約70K bpの長さを持つ。KIT遺伝子のエクソン16から19にわたる約4Kbpについて、MC1R遺伝子の場合に加えヨーロッパイノシシ(野生褐色)とユカタンマイクロブタ(黒色)の塩基配列を調べた。

われわれの研究の中でも全ての試料に関して上記の知見は矛盾のないことが確認された。すなわち、西洋白色種と有色種の違い(表2の1313番目)、イントロン18内の4塩基

表2 KIT遺伝子において塩基配列の品種間差が認められた部分

position	398	549	595	659	695	844	884	958	959	1313	1342	1632	1724	1837	1979	1986
K 1	T	A	A	T	C	G	C	C	A	G	G	G	C	A	A	A
K 2	-	-	-	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-
K 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	-
K 4	C	G	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	T	-	T	G
K 5	C	G	-	-	-	-	A	G	-	A	-	-	T	-	T	G
K 6	C	G	-	-	-	-	-	G	A	-	-	-	T	-	T	G
K 7	C	G	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	T	-	T	G
K 8	C	G	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	T	-	T	G
K 9	C	G	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	T	-	T	G
K10	-	-	T	-	-	A	-	G	-	-	A	-	-	-	T	G
K11	-	-	-	-	T	-	-	T	G	-	-	A	-	G	T	G
position	2073	2179	2295	2313	2314	2360	2377	2391	2429	2449	2470	2472	2530	2600	2611	2622
K 1	G	C	G	C	C	C	C	G	C	G	G	C	T	G	A	C
K 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 3	-	-	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K 4	-	G	-	-	-	-	T	C	-	-	-	A	-	A	G	-
K 5	-	G	-	-	-	-	T	C	-	-	-	A	-	A	G	-
K 6	-	G	-	-	-	-	T	-	-	-	-	A	-	A	G	-
K 7	-	G	-	-	-	-	T	-	-	-	-	A	-	A	G	-
K 8	-	G	-	-	-	-	T	-	-	-	-	A	-	A	G	-
K 9	-	G	-	-	-	-	T	-	-	-	A	A	-	A	G	-
K10	-	-	A	T	A	T	-	-	*	A	-	-	-	-	G	T
K11	A	-	A	T	A	-	-	-	*	A	-	-	G	-	G	T
position	2663	2674	2680	2717	2834	2840	2899	3020	3049	3154	3207	3221	3258	3296	3317	3323
K 1	A	C	T	C	A	A	G	G	C	A	C	A	G	T	T	T
K 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-
K 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-
K 4	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 5	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 6	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 7	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 8	G	-	C	-	-	T	-	A	-	G	T	C	A	C	C	C
K 9	G	-	C	-	-	T	A	A	-	G	T	C	-	C	C	C
K10	G	G	C	T	G	T	-	-	A	G	-	C	-	C	C	C
K11	G	-	C	T	-	T	-	-	A	G	-	C	-	C	C	C
position	3341	3373	3387	3420	3482	3597	3666	3705	3737	3773	3884	3885	3886	3887		
K 1	G	G	G	A	G	G	A	G	A	C	A	G	T	T		
K 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
K 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
K 4	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	-	-	-	-		
K 5	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	-	-	-	-		
K 6	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	-	-	-	-		
K 7	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	-	-	-	-		
K 8	A	-	A	-	A	-	G	A	-	-	*	*	*	*		
K 9	A	-	A	-	A	-	G	A	-	T	-	-	-	-		
K10	-	T	-	G	A	T	G	A	G	-	-	-	-	-		
K11	-	T	-	G	A	T	G	A	-	-	-	-	-	-		

測定した部分の約半分のみを表示している。K1：ニホンイノシシ，K2：メイシャンおよびパークシャー，K3：モンカイ，K4：ヨーロッパイノシシ（ヨーロッパイノシシとデユロック各1個体は，どちらも配列K4とK5のヘテロ接合体であった。）。K6～K8：大ヨークシャーおよびランドレース各1個体，K9：ハンブシャー，K10：パークシャー，K11：ユカタンマイクロプタ

対の有無（表2の3884～3887番目）が確認された。

この塩基配列情報により西洋白色種と有色種が識別可能となり，前述のMC1R遺伝子の情報と組み合わせることにより，主要な品種の推定が可能になった。

しかし，同じ白と黒の体毛色持つパークシャー種（黒色六白）とハンブシャー種（黒色白ベルト）はMC1R型もKIT遺伝子の型も同じであり識別することができず，後述するKIT遺伝子のイントロンの塩基配列情報を用いる必要があった。

4. KIT遺伝子のイントロン多型

パークシャー種とハンブシャー種はどちらも白黒の体表面色を持ち，前述までの配列情報では識別できなかった。だが，KIT遺伝子のイントロン部分に両品種の推定に用いることができると思われる多型が存在していた。イントロン部分の配列比較の結果，以下のような特徴が認められた。

- ①パークシャー種の配列はニホンイノシシ，梅山豚，モンカイの配列と類似しており，東洋起源と推察される。

②ハンブシャー種はヨーロッパイノシシ、大ヨークシャー種、ランドレース種、デュロック種と類似しており、西洋起源と推察される。

③鹿児島県産の一部のパークシャー種の配列にはユカタンマイクロプタと類似しているものが存在する。

このようなイントロンの塩基配列の解析から、調査したパークシャー種は東洋起源と思われる配列またはユカタンマイクロプタ類似の配列を持つことがわかり、KIT遺伝子959番目の塩基多型により識別できると思われた(図3)。

パークシャー種はイギリスにおいてその造成には中国種を用いた¹⁾とされている。また、鹿児島県にはかつてパークシャー種を島豚と呼ばれる豚と交配した経緯があるとのことである。

以上のように2つの毛色関連遺伝子の塩基配列多型を複数の制限酵素を用いた切断長多型で検出することにより、日本における主要なブタ品種、白色品種(ランドレース、大ヨークシャー)、デュロック、パークシャー、ハンブシャーを食肉段階で推定できると考えられた。なお、本方法はハム・ソーセージ等の熱加工処理を行った製品についても応用可能であった。

5. おわりに

国内で特に問題となっていたのは、ランドレース種と大ヨークシャー種、デュロック種の交配から造られる三元交雑種(白色)と純粋パークシャー種(黒色六白)との識別であった。この点に関しては本研究は答えることができたと考える。

鹿児島県のパークシャー種が持つ東洋起源型を英国に現存する伝統的パークシャー種が持っているか、は興味あるところである。英国のパークシャーにおいて育種されたパークシャー種は中国種を遺伝資源として用いた¹⁾ことから、伝統的英国パークシャー種がニホンイノシシや中国豚が保持している東洋

起源型を保持している可能性が考えられる。この件に関しては、すでに英国と連絡を取っているが、英国におけるパークシャー種育種グループの了解がなければDNA試料の入手等が行えないことから、可能であれば、是非明らかにしたいと思っている。

なお、本研究はJRA(日本中央競馬会)の助成により、畜産試験場、家畜衛生試験場、(社)農林水産先端技術産業振興センター(STAFF)との交流共同研究「家畜ゲノム解析研究」の中で実施されたものである。

文献

- 1) Kijas, J.M.H., Wales, R., Tornsten, A., Chardon, P., Moller, M. and Anderson, L. (1998). Melanocortin Receptor 1 (MC1R) Mutations and Coat Color in Pigs, *Genetics*, 150:1177-1185.
- 2) Johansson, M.M., Chaudhary, R., Hellmen, E., Hoyheim, B., Chowdhary, B., Anderson, L. (1996). Pigs with the dominant white coat color phenotype carry duplication of the KIT gene encoding the mast/stem cell growth factor receptor, *Mammalian Genome*, 7:822-830.
- 3) Markland, S., Kijas, J., Rodoriquetz-Martinez, H., Ronnstrand, L., Funa, K., Moller, M., Lange, D., Edfors-Lilja, I. and Anderson, L. (1998). Molecular basis for the dominant white phenotype in the domestic pig. *Genome Research*, 8:826-833.
- 4) 内藤元男監修(1992), 畜産大辞典, 1183, 養賢堂, 東京

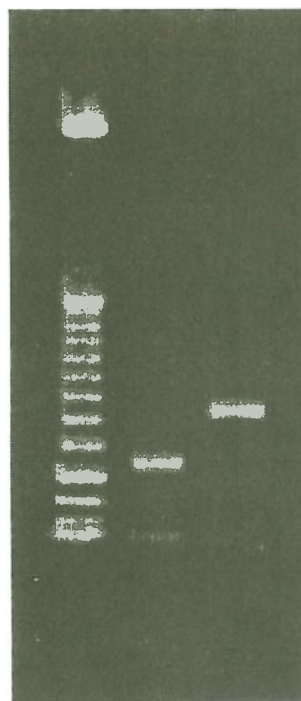


図3 制限酵素Sma Iによるパークシャーとハンブシャーの識別。
B:パークシャー種
H:ハンブシャー種

◀地域の先端研究▶

イチジクのフィッグ型品種に着生する雄ずいを利用した交雑育種

福岡県農業総合試験場 豊前分場

野 方 仁

イチジクは雌性雌雄異株で、カプリフィッグ型（雄株）とフィッグ型（雌株）に区分される。「蓬莱柿」や「榊井ドーフィン」などの食用として栽培されている品種はフィッグ型で、果実内に雌花だけを着けるとされてきた。しかし、フィッグ型に区分される品種において、きわめて少ない割合であるが雌花に雄しべが着生することを見つけた。この雄しべから採取した花粉を利用して、フィッグ型品種同士を交雑し、実生を育成中である。

1. はじめに

イチジク (*Ficus carica* L.) が、わが国に導入されたのは寛永年間とされ、古くから家庭果樹として親しまれている。近年、消費嗜好の多様化で需要が増加し、栽培しやすく、収益性が高いことなどにより水田転換作物として注目され、全国各地で植栽が進み約1700haの栽培面積がある。主要品種は「榊井ドーフィン」と「蓬莱柿」の2品種のみで、両品種とも果実が80g前後と大きく収量も多いが、肉質が粗く糖度が低いなど品質面で欠点がある。そこで福岡県農業総合試験場豊前分場では1989年から育種を開始し、これまでに「姫蓬莱」を育成している¹⁾。

イチジクは雌性雌雄異株で、前年生枝上に夏果を、新梢上に秋果を着生し、果実の内部に多数の小花が密生する隠花果を形成する。イチジクは隠花果内の小花の形態によって、雄花および雌花が着生するカプリフィッグ型と雌花のみが着生する可食のフィッグ型に大別され、フィッグ型は結実に関する特性から園芸学的に、結実に受粉が必要なスミルナ、夏果が単為結果するサンベドロ、夏果、秋果とも単為結果する普通の3型に分けられる²⁾。これまでのイチジクの交雑育種では、花粉親としてはカプリフィッグ型の品種が利用され、フィッグ型が用いられることはなかった。

NOGATA Hitoshi

〒824-0038 行橋市西泉2-4-1

ところが、1997年にフィッグ型品種「蓬莱柿」の一部の夏果で小花に雄ずいが着生しているものを見つけ、それから得られた花粉を利用してフィッグ型品種同士の交雑にも成功した。ここでは、イチジクの育種の現状、フィッグ型に着生する雄ずいの特徴、フィッグ型に着生する雄ずいを利用した育種の進捗状況などを紹介する。

2. イチジク育種の現状

イチジク育種は、枝変わりの利用（「サマーレッド」：「榊井ドーフィン」の着色系枝変わり）、コルヒチン処理による4倍体作出³⁾の報告もあるが、主に交雑によって行われている。雌性雌雄異株であるイチジクの果実は、通常花粉媒介昆虫（イチジクコバチ科）の存在のもとに、カプリフィッグ型品種の花粉をフィッグ型品種に受粉することで結実する。日本に花粉媒介昆虫が存在しないため、偶発実生は全く存在していない。イチジクの人工交配は、他の作物と大きく異なり、カプリフィッグ型品種（花粉親）の夏果の花粉を、フィッグ型品種（種子親）の秋果内部の雌花に受粉することで行われている⁴⁾。日本で交雑により育成された品種は、戦前の「谷川」と平成の「姫蓬莱」の2品種のみである。

3. 雄ずい着生の品種間差異

表1 フィッグ型品種の雄ずい着生の品種間差異

品種名 ^z	型 ^y	1997年秋果		1998年夏果		1998年秋果	
		調査果数(果)	雄ずい着生果数(果)	調査果数(果)	雄ずい着生果数(果)	調査果数(果)	雄ずい着生果数(果)
谷川	Sp	—	—	16	8	—	—
ビオレー・ドーフィン	Sp	—	—	20	0	—	—
サンペドロ・ホワイト	Sp	—	—	9	0	—	—
Difori Mavri	Sp	—	—	13	4	—	—
ロイヤル・ビンヤード	C	50	0	2	0	50	0
アーテナ	C	50	0	1	1	50	0
ニグローネ	C	50	0	10	0	50	0
ブラックフィッグ	C	50	0	11	0	50	0
アーチブ・ファンゲン・ブラック	C	26	0	1	0	18	0
バナーネ	C	50	0	5	1	50	0
蓬萊柿	C	300	0	306	132	300	0

z 1998年に夏果の収穫のあった品種のみ記載

y Spはサンペドロ, Cは普通型品種

1997~1998年に「蓬萊柿」の夏果で発見された雄ずいが他のフィッグ型品種でも同様に存在するか、また、夏果と秋果で着生状況に差があるかを確認するために試験を行った。サンペドロ型4品種と普通型25品種を供試して、1997年は秋果、1998年は夏果と秋果について雄ずいの着生した果実数を調査した。その結果、サンペドロ型品種の「谷川」、「Difori Mavri」および普通型品種の「アーテナ」、「バナーネ」、「蓬萊柿」の成熟した夏果内部の小花に雄ずいの着生するものがいくつか認められた。また、調査したすべての品種で秋果には1997年、1998年の2カ年とも雄ずいの着生はなかった(表1, 図1)。イチジクの夏果は着果数が少なく、年間の調査果実数に限りがあるので、雄ずいが認められなかった品種についても引き続き着生の有無に

ついて試験を行っている。

4. フィッグ型品種に着生する雄ずいの特徴

1998年にフィッグ型品種に着生する雄ずいの特徴を明らかにするために、カプリフィッグ型品種に着生する雄ずいと比較を行った。7月上旬中旬に場内ほ場に栽植中の普通型品種「蓬萊柿」とカプリフィッグ型品種「カプリフィッグ6085」、「カプリT」およびカプリフィッグ型の場内育成系統「VC-180」を供試し、1小花当たりの花糸数、葯の成熟程度を調査した。さらに「蓬萊柿」の夏果について、雄ずいの着生した小花の果実内での着生部位および1果当たりの着生数を調査した。1小花当たりの花糸数は



図1 「蓬萊柿」の夏果に着生した雄ずい

表2 普通型品種「蓬萊柿」とカプリフィッグ型品種の雄ずいの比較

品種名	1小花当た ^z り花糸数	葯の成熟程度(個) ^y			
		0	1	2	3
蓬萊柿	1.1±0.0 ^x	120	399	47	0
カプリフィッグ6085	3.6±0.1	0	3	0	361
カプリT	3.6±0.1	2	0	0	390
VC-180	4.2±0.1	2	46	0	372

z 「蓬萊柿」の花糸は少なくとも1個の葯が着生したものを数えた

y 0は葯が完全にかけているもの、1は葯の成熟が不完全なもの、2は葯の成熟がほぼ完全で少し開葯しているもの、3は葯が十分に開葯しているもの

x 平均値±標準誤差

表3 「蓬莱柿」の雄ずい着生部位

着生部位 ^z	雄ずい着生 ^y 小花数(花)	雄ずい着生小 花の割合(%)
果頂部	140	53
赤道部	110	41
果柄部	16	6

^z 果実を縦に3等分して、それぞれ果頂部、赤道部、果柄部とした
^y 雄ずいの着生した132果について調査

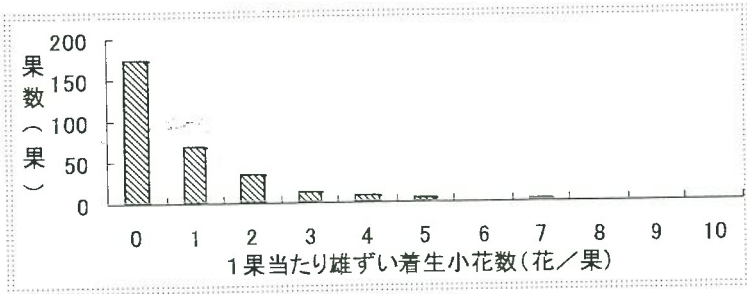


図2 「蓬莱柿」の1果当たり雄ずい着生小花数^a
^a調査果数は306果で、平均は0.87花/果

カプリフィッグ型3品種が4本前後であるのに対して、「蓬莱柿」は1.1本で少なかった。また、葯の成熟程度はカプリフィッグ型3品種はほとんどの開葯しているのに対して、「蓬莱柿」では葯の形態形成が不十分で欠けているか不完全なものが多く、完全に開葯しているものはなかった(表2)。「蓬莱柿」の果実内の雄ずい着生部位は果頂部から赤道部にかけて多かったが、果柄部にも少数存在した(第2表)。また1果当たりの雄ずい着生小花数は、0花のものも多く最大で9花であったが平均0.87花と少なかった(表3, 図2)。

カプリフィッグ型品種の雄花は果頂部付近

表4 「蓬莱柿」の作型による雄ずい着生の相違

作型 ^z	園	雄ずい着生果の割合(%)	
		夏果	秋果
加温	行橋 A	3	0
	行橋 B	3	0
	行橋 C	0	0
露地	行橋 D	63	0
	行橋 E	93	0
	犀川	37	0
	豊津	57	0

^z 加温栽培の夏果は5月下旬、秋果は7月中旬、露地栽培の夏果は7月上旬中旬、秋果は8月下旬に調査

に多数着生し¹⁾、1小花当たりの花糸数が4本前後でほとんど開葯しているのに対して、普通型品種「蓬莱柿」に着生する雄ずいは、果頂部から赤道部に着生するものが多く、1果当たりの雄ずい着生小花数と1小花当たりの花糸数が少なく、葯の形態形成が不完全である。したがって、フィッグ型品種の夏果から交配に必要な花粉量を確保するには、多数の果実が必要となる。

5. 作型によるフィッグ型品種の雄ずい着生の相違

1998年に作型による「蓬莱柿」の雄ずい着生の相違について検討を行った。福岡県内の「蓬莱柿」について、1月加温のビニルハウス栽培園3カ所と露地栽培園4カ所で、雄ずいの着生程度を調査した。加温栽培園では2カ所で夏果に雄ずい着生が認められ、その着生果の割合は3%であった。露地栽培園では全園で夏果に雄ずい着生が認められ、その着生果の割合は37~93%でばらつきがあるものの加温栽培園と比べて多く雄ずいが着生した。また両作型とも秋果には雄ずい着生はなかった(表4)。つまり、雄ずい着生は夏果のみで、作型や園により着生割合が異なっていることが明らかになった。

6. おわりに

イチジク属はその花粉媒介昆虫イチジクコバチは緊密な関係を維持して進化してきた¹⁾といわれている。イチジクとイチジクコバチの共生関係において、フィッグ型に雄ずいが着生することは互いの種の維持の点で全く意味のないことのように思えるが、フィッグ型の雌花に着生する雄ずいの花粉の成熟期と、秋果の雌花の雌ずいの成熟期が一致することは大変興味深い。

しかしながら、フィッグ型に着生する雄ずいを利用することにより、フィッグ型同士の交雑が可能になり、交雑組合せの範囲が著しく広まった。現在豊前分場では、フィッグ型

同士の交雑である「蓬莱柿」×「蓬莱柿」、
「榊井ドーフィン」×「蓬莱柿」から得られた
実生約200本をほ場に定植しており、これ
からも組合せを増やしていきたい。

フィッグ型の雄ずい着生程度が夏果と秋果
で、また、作型によって異なっていることは、
雄ずい着生を人為的に制御できる可能性を示
している。フィッグ型に着生する雄ずいの花
粉を利用した育種を効率的に進めるため
には、雄ずいの着生の誘導が最大の課題にな
ると考えられる。

文献

1) 粟村光男・矢羽田二郎・野方仁・正田

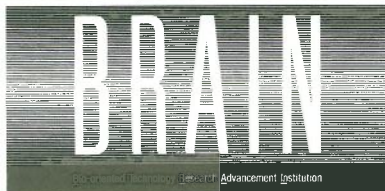
耕二・金房和己. 1998. イチジク新品種
“姫蓬莱”の育成. 福岡農総試研報. 17:
115-118.

2) 河瀬憲次, 1972, 果樹園芸大事典,
p936-938, 養賢堂, 東京

3) 古川誠, 1997, コルヒチン処理による4
倍体イチジク (*Ficus carica* L.) の作出,
園学雑, 66 (別2)

4) STOREY, W.B. 1975. Figs. p568-589. In:
J.J. anick and J.N. Moore(eds.). Advances
in fruit breeding. Purdue Univ. Press,
West Lafayette, Ind.

5) YOKOYAMA, J. 1994. Molecular
Phylogeny and Coevolution. Plant
Species Biol. 9: 163-167.



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内
第 80 号

2000 (平成12) 年 7 月15日発行

総 説

味のメカニズム 栗原堅三

国内情報

脳における味覚の認識 近藤高史・鳥居邦夫
脂肪のおいしさ 今泉正洋・伏木 亨

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

..... 畠山勝徳・高橋剛志・日向康吉

米品質測定評価装置の開発 杉山隆夫

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 宮岡俊輔

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 齊藤保典

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 ... (抄訳: 木村直子)

分裂酵母のヘキソース輸送体 ... (抄訳: 赤尾 健)

自家不和合性の花粉決定因子,

ついに発見さる (抄訳: 岩井純夫)

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

..... (抄訳: 木苗貴秀)

酵素を利用した魚油の香り成分の改良

..... (抄訳: 大栗智昭)

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

ースウェーデン農科大学における1年

..... 前田守弘

◀文献情報▶

胚発生における早期妊娠因子 (EPF) の必要性

Early pregnancy factor is required at two important stages of embryonic development in the mouse.

Athanasas-Platsis S, Corcoran CM, Kaye PL, Cavanagh AC and Morton H. University of Queensland, Department of Surgery, Clinical Sciences Building, Royal Brisbane Hospital, Australia

Am. J. Reprod. Immunol.; 43: 223-233 (2000)

早期妊娠因子 (Early Pregnancy Factor: EPF) は1974年にMortonらによって初めて報告され、その後の研究において、ヒトをはじめとするほとんどの哺乳動物において妊娠期間にある母体血中で検出されることが明らかとなった。また、その最大の特徴は受精後数時間という極めて早い時期に母体血中に出現する点であり、このことから胚の着床時に免疫抑制物質として機能していると言われている。EPFはMortonらによって報告されて以来、多くの研究者によってその単離精製が試みられ、近年、分子シャペロンの一種であるcpn 10と相同な物質であると報告された。しかし、その報告には異論を唱える研究者も多く、未だ明確な解答は得られていない。また、機能解析の研究においては、EPFが妊娠早期から検出されることから受精直後におけるEPFの重要性を述べるに留まっている。本論文において筆者らは、抗EPF抗体を用いて *in vivo* および *in vitro* の両方で胚発生におけるEPFの重要性を検証し、着床期におけるEPFの重要性を述べている。

筆者らはまず *in vivo* の実験として、交配させたメスマウスの前着床期にあたる day 2-3 および着床前後期にあたる day 3.5-4 の時期に抗EPF抗体を投与し、その時の胚発生、着床数を測定、比較し、胚の着床に対する影響を調べている。また、*in vitro* の実験として、day 1 のメスマウスから回収した受精卵および day 3 のマウスから回収した桑実胚を抗

EPF抗体を添加した培地で培養し、EPFの発生に対する影響を調べている。その結果、*in vivo* の実験では、前着床期に抗EPF抗体を投与した場合は対照区と比べ有意な違いは認められなかったが、着床前後期に投与した場合は対照区と比べ30%程度しか着床せず、また、これらの着床していない胚はハッチングしていないことが観察された。一方、*in vitro* の実験では day 1 の受精卵における抗EPF抗体の影響はなかったが、day 3 の胚では高濃度の抗体でその発生が妨げられたと述べている。以上のことから、EPFは着床前胚の発生には影響しないが、それらが着床するためには必要であることが明らかとなった。つまり、早期前着床期ではEPFは胚発生に働くのではなく、母体免疫の抑制に機能している可能性が示唆された。また、*in vitro* の実験によって桑実胚からプラストシストまでの発生時には成長因子としてEPFが機能する可能性が示唆された。したがって、本論文からEPFは胚発生における2つの重要なステージ、前着床期と着床前後期にそれぞれ、着床を助ける免疫抑制物質、胚発生を助ける成長因子として必要不可欠であることが示唆された。

家畜としてのウシやウマは年一産が基本であり、人工授精を行っても産仔が得られなかった場合、農家の経済的打撃は大きい。そのため、人工授精を施した雌畜が妊娠したかどうか、あるいは妊娠が維持されているかの確認は非常に重要である。EPFは受精が成立すれば、その翌日には検出が可能であるため、その点から家畜の早期妊娠診断法および胚発生のモニタリングへの応用が期待されている。しかし、測定方法の煩雑さから実現には至っていないようである。今後の研究の発展に大いに期待したい。

(抄訳：横尾正樹，東北大大学院農学研究科)

◀文献情報▶

塩ストレス下での酵母遺伝子の発現誘導のDNAチップによる解析

The Transcriptional Response of Yeast to Saline Stress

Francesc Posas, James R. Chambers, John A. Heyman, James P. Hoeffler, Eulalia de Nadal, and Joaquín Ariño

Department de Bioquímica i Biologia Molecular, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra E-08193, Barcelona, Spain.

J. Biol. Chem., 275, 17249-17255 (2000)

酵母は全6000遺伝子の配列が明らかにされており、その研究はDNAチップ技術に関して最も先進した領域の一つと言える。近年DNAチップを用いたゲノムレベルでの環境応答に関する報告が増えつつある。一方、酵母はその細胞のイオン輸送系、カチオン耐性機構、シグナル伝達経路等が高等植物や真菌類のそれと類似することから、塩ストレス耐性機構の研究にとって優れたモデルの一つと考えられている。今回は、酵母の全ゲノムのDNAチップ解析を用いた、酵母細胞の塩ストレスに対する転写応答に関する報告を紹介する。

主な検討として、二つの異なる塩ストレス強度と二つの異なるタイミングでの遺伝子発現を解析している。ストレス (0.4M NaCl, 10min) を付加した酵母の全遺伝子の約7% (461遺伝子) が5倍以上に誘導された。興味深いことに、その条件において3倍以上に誘導された1427遺伝子の約80%はストレス条件 (0.4M NaCl, 20min) においては誘導レベルが半分以下になり、それらの発現が非常に一過性のものであることを示した。ストレス条件 (0.4M NaCl) において発現したのと類似した遺伝子群が、より強いストレス条件 (0.8M NaCl) にさらした細胞内においても発現上昇したが、この場合の転写応答は遅れた (10minにおいて3倍以上に誘導された

870遺伝子の約60%が20minにおいて誘導レベルが1.25倍以上になった)。また、特にストレス条件 (0.4M NaCl, 10min) において顕著に発現誘導された遺伝子が機能毎にグループ・レビューされており、既報との矛盾が無いことを示している。加えて、浸透圧ストレス下でのシグナル伝達に重要であることが知られている Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) の転写制御への役割を検証するため、MAPKをコードする *HOG1* (high osmolarity glycerol response) 遺伝子の欠損株の転写応答をテストしたところ、塩ストレスに強く応答した大部分の遺伝子の誘導が抑制されたことから、その誘導がMAPKの存在に強く依存していると結論づけた。塩ストレス条件下においてMAPKの欠損が転写応答に及ぼす影響を全ゲノムレベルで解析した報告は新規であるとのことである。問題は解析の信頼性であるが、ノーザンブロッティングによる結果との矛盾は1点だけあったらしい。しかしそれは繰返し測定によりRNAの増幅・精製ミスであることが確認できたとのことで、既報のデータと比較するにも信頼性・安全性の点で十分であると筆者は主張していた。

産業利用など応用的な側面を考えた場合、信頼性・定量性に関してもう一步の感があったDNAチップ解析であるが、チップ解析のみから詳細な考察・論文化ができる段階に入ってきたようである。今後も信頼性・定量性のさらなる向上による、酵母の種々の環境応答解析及びそれを応用した産業利用の著しい迅速化が期待される。

(抄訳：楠田大輔，カルピス(株)基盤技術研究所)

◀文献情報▶

メチル化に影響を与えずに
メチル化された遺伝子の
サイレンシングを解除する
MOM遺伝子の突然変異Disruption of the plant gene *MOM* releases
transcriptional silencing of methylated genesPaolo Amedeo, Yoshiki Habu, Karin Afsar,
Ortrun Mittelsten Scheid & Jerzy
Paszowski

Friedrich Miescher Institute, Switzerland

Nature, 405, 203-206 (2000)

遺伝子導入では、導入された遺伝子の発現が不活性化してしまういわゆるジーンサイレンシングがしばしば問題となっているが、逆に遺伝子発現を抑制する手段として積極的に利用もされている。ジーンサイレンシングは大きく分けて2種に類別される。転写が抑制されるtranscriptional gene silencing(TGS)と、転写後のプロセスに抑制が起こるpost transcriptional gene silencing (PTGS)である。TGSの場合、発現が不活性化された遺伝子は高度にメチル化されていることが報告されている。これまでに、突然変異によりTGSを解除する遺伝子として、アラビドプシスの*ddm1*などがクローニングされているが、それらは低メチル化突然変異だった。つまりゲノム全体のメチル化レベルが低下することによって、TGSが起きた遺伝子座のメチル化レベルも低くなり、TGSが解除されるものだった。

ところが、本報告でクローニングされたMOM遺伝子は、突然変異が起こるとTGSが解除されるが、遺伝子発現が再活性化した遺伝子座のメチル化のレベルは高いまま変化がなかったのだ。

本報告の著者らは、まず、T-DNAタギングによってTGSに関連した遺伝子を同定することを試みた。材料には、導入されたハイグロマイシン耐性遺伝子がメチル化されてTGSを起こしたアラビドプシスの系統を使い、これにアグロバクテリウムを感染させ、

T-DNAの挿入による突然変異を誘発した。この後代から、ハイグロマイシン耐性遺伝子の発現が再活性化したものが1系統見出され、その原因となった劣性の突然変異遺伝子は*mom1*と名付けられた。*mom1*によって遺伝子発現が再活性化された遺伝子座のメチル化レベルはサイレンシングが維持されている系統とほぼ同じだった。また、遺伝子発現が再活性化された遺伝子座のメチル化レベルはその後9世代を経ても高いままであった。MOM遺伝子の配列はクロマチン再構築に関与するSWI2/SNF2などと一部相同性があった。

TGSを解除する*ddm1*突然変異は、世代を重ねるにつれて、生育異常が起きて様々な突然変異が蓄積していくことが知られている。これはゲノム全体の低メチル化により遺伝子発現の調節異常や、通常はメチル化によって転移が不活性化されているトランスポソンの活性化が起こるためと考えられている。しかし、*mom1*の場合は*ddm1*のように生育異常や突然変異の蓄積を伴わなかった。

MOM遺伝子はTGSの機構の中で、メチル化による遺伝子発現調節の下流に位置して、メチル化をサイレンシングの信号として認識するために必要なものかもしれない。だが、*mom1*がほとんどのメチル化部位の認識能力を失っているとすれば、*mom1*にも*ddm1*と同じような生育異常が起こるはずである。しかし、*mom1*の生育は正常であることから、*mom1*による高度にメチル化された遺伝子の発現活性化は、染色体上の限定された領域で起こっていると考えられる。

また、もう一つの可能性として、MOM遺伝子はメチル化とは独立した遺伝子発現の制御系の一部なのかもしれない。

いずれにしても、TGSの全貌を解明するにはさらに多くの突然変異体の解析が必要であろう。特に、別の論文で報告された*sil1*と*sil2*は*mom1*とよく似た性質を持つが、本報告による対立性検定の結果、*sil1*及び*sil2*は*mom1*とは異なる遺伝子座であった。これらの遺伝子のクローニングも興味深い。

(抄訳：清水圭一、鹿児島大学農学部)

◀文献情報▶

スフィンゴシン-1-リン酸受容体は脊椎動物の心臓の発生において細胞移動を制御する

A sphingosine-1-phosphate receptor regulates cell migration during vertebrate heart development

Erik Kupperman, Songzhu An, Nick Osborne, Steven Waldron & Didier Y. R. Stainier

Nature, 460, 192-195 (2000)

脊椎動物の発生形態は複雑な行程から構成されている。手足のような器官は左右一対で形成され、消化器官のような臓器は一つの器官として形成されるが、その過程は各器官によって異なっている。そのうち心臓の器官形成は非常に複雑な過程を必要とすることが知られている。生物において協調した細胞の移動は、胚発生、器官形成、創傷治癒や免疫応答といった多くの根本的な生体過程に必須である。心臓の形成でも細胞集団が胚内の特定の位置を目指して移動することがそのステップの第一段階となっているが、その詳細なメカニズムはいまだに未解明な部分が多い。本論文においてErik Kuppermanらは、これまでcardia bifida（心臓不形成による致死）の研究のために遺伝子モデルとして用いられてきたゼブラフィッシュから、細胞移動を調節する遺伝子*miles apart*を見出し、*mil*遺伝子産物の生化学的及び機能的特性について報告している。

ゼブラフィッシュ*hand2*タイプにおける*mil*変異はcardia bifidaと心筋分化の重篤な欠損の原因となる。*mil*変異体の心筋分化におけるそれぞれの細胞の自律性を分析するために、細胞移植が行われた。この結果、野生型胚に移植した変異株由来の細胞は特定の位置に正常に移動するのに対し、変異株胚に移植した野生株由来の細胞は正常に移動できないことが明らかとなった。このことから、*mil*遺伝子は個々の細胞の移動を調節するのでは

なく、移動を可能にする環境づくりに関与していると考えられた。

次に心筋細胞の移動が胚発生にどのように調節されているか、またそれにおける*mil*遺伝子の位置付けを調べるために、*mil*遺伝子のポジショナルクローニングがなされた。得られた異なる2つのクローンのうち1つはメチルトランスフェラーゼを、もう1つはリゾスフィンゴ脂質レセプターと高い相同性をもつGタンパク質共役受容体をコードしており、後者が*mil*遺伝子由来のタンパク質であると考えられた。またMilはリゾスフィンゴ脂質レセプターのなかでもスフィンゴシン-1-リン酸レセプターと高い相同性を示していた。

スフィンゴシン-1-リン酸がスフィンゴシン-1-リン酸レセプターに作用すると細胞内Ca²⁺濃度が上昇すること、またMAPキナーゼが活性化されることが知られている。そこで*mil*遺伝子を導入したJT/Mil細胞に対するスフィンゴシン-1-リン酸の作用を調べたところ、細胞内Ca²⁺濃度の上昇とMAPキナーゼの活性化が確認された。このことから*mil*遺伝子はリゾスフィンゴ脂質Gタンパク質共役型受容体ファミリーに属するタンパク質を指令していることが明らかになった。さらに、スフィンゴシン-1-リン酸がMilタンパク質のリガンド分子であること、それがいくつかの下流の信号伝達系を活性化し、変異体ではこれが活性化されないことが示された。

脊椎動物の発生形態における細胞内伝達の流れには多くの種類のリガンドが存在する。これまで脊椎動物の胚で細胞移動を調節する因子としては、胚内に広まり細胞表面に結合するペプチドやタンパク質が知られてきた。今回、本論文により初めて脂質代謝物が細胞移動に関与することが明らかにされ、その物質がスフィンゴシン-1-リン酸であることが示された。これらの結果は今後、心臓の器官形成における両側心臓原基の融合過程に関する分子レベルの手がかりとなってくれるであろうと考えられる。

(抄訳：吉戒和剛，マルハ株式会社中央研究所)

◀海外便り▶

マツノザイセンチュウの故郷に 材線虫病微害化の手がかりを求めて —ミズーリ大学における一年間—

農林水産省 森林総合研究所九州支所
中村 克典

1. はじめに

1998年11月から1年間、科学技術庁長期在外研究員としてアメリカ合衆国ミズーリ大学コロンビア校に滞在し、研究する機会を与え



ミズーリ大学の象徴、ジェシーホール（建物）とカラムズ（石柱）

られた。ミズーリ州は地図の上ではアメリカのちょうど真ん中あたり（中西部と言われる）に位置し、ミシシッピ川とその最大支流ミズーリ川に沿って広がる内陸州である。州としては日本人になじみの薄いミズーリであるが、州の二大都市セントルイスとカンザスシティ（カンザス州に隣接、都市域の大部分がミズーリ側にある）は昨今のダリグ人気も相まって日本でもよく聞く地名となっている。ミズーリ大学は1832年創立、ミシシッピ川以西で初の大学として知られる。本校のおかれるコロンビア市はミズーリ大学の他に2つの大学を抱え、人口7万人の大半が直接・

NAKAMURA Katsunori

〒860-0862 熊本市黒髪4-11-16

間接に大学関係者という、典型的な大学町であった。

2. 在外研究の背景と概要

日本でマツノザイセンチュウが流行性のマツ枯れ（マツ材線虫病）の病原体と確認されてから8年後の1979年、ミズーリ大学の研究者によりコロンビア近辺のマツ枯死木からマツノザイセンチュウが発見された。当初は日本からの侵入が疑われたものの、しばらくしてこの線虫はもともとアメリカに分布していたことが明らかとなった。さらにその後の交配実験やDNA解析により、日本で猛威をふるっているマツノザイセンチュウは逆に北米由来であることが強く示唆されるに至った。マツノザイセンチュウは北米原産のマツに対してほとんど病原性を示さず、したがってアメリカにおける材線虫病は外国産マツの庭木、植栽木の病害にすぎない。原産地アメリカで材線虫病が激害化しない理由として、まず第一に土着のマツが材線虫病に対し抵抗性であることがあげられるが、他にもマツノザイセンチュウの媒介昆虫（ベクター）の線虫伝播能力や生残過程に関わる要因などが関与している可能性も考えられる。筆者の在外研究は、原産地における材線虫病の土着病的なあり方を日本との比較という観点から検討し直し、その中から日本の材線虫病を微害化するためのヒントを探り当てようとするものであった。滞在先のミズーリ大学は、アメリカにおける材線虫病の発見以降も森林昆虫学教室のマーク＝リニット教授を中心に材線虫とその媒介昆虫との相互作用に関する研究が精力的に進められてきた場所であり、また近傍

に材線虫病被害マツ林が散在する絶好のロケーションにあった。

在外研究では、現地マツ林において材線虫病罹病木の発生経過をモニタリングするとともに、ピネン-エタノールを誘引剤とした昆虫捕獲器を用いて当地におけるマツノザイセンチュウの媒介昆虫 *Monochamus carolinensis* (日本での主要媒介昆虫マツノマダラカミキリと同属) の発生状況や天敵・競争者相を調査した。この結果、材線虫病感受性とされるヨーロッパアカマツでの罹病木の発生時期やその病徴進展は日本のアカマツ・クロマツとはいくぶん異なったものであること、当地における *M. carolinensis* の競争者相は貧弱であること、コクヌスト科に天敵として有望なものがあることなどが明らかとなった。これらはいずれも日米での材線虫病の発生形態の違いの要因となっている可能性が考えられる。室内実験では、リニット教授の研究室に蓄積された技術を習得、応用して、腹部第一気門を人為的に閉鎖した *M. carolinensis* 成虫の飛翔能力測定を行った。この実験は、媒介昆虫に運ばれるマツノザイセンチュウが昆虫の気管深くに侵入する事実をうけ、日米の媒介昆虫間における線虫による気管系閉塞への反応程度の差を模擬的に検出することを目的としていた。実験の結果、腹部第一気門の人為的な閉鎖は *M. carolinensis* 成虫の飛翔能力に影響せず、成虫飛翔時の酸素要求は他の気門からの給気でまかなわれたものと推測された。したがって、腹部第一気門の人為的な閉鎖は上記研究目的を達するための方法としては不適と考えられた。

3. 大学で思ったこと

アメリカでは各州に「Land-grant university」なる大学が存在し、ミズーリ大学もそのひとつである。これらの大学は州から土地の提供を受けて成立した見返りとして、教育、研究、普及の三つの機能を果たすことで州に対し貢献することが求められる。大学の機能として「普及」があることは日本人的な感覚

からはしっくりしないが、この機能が大学を地域に開かれたものになっている役割は確かである。

ミズーリ大学に限らず、アメリカの大学には歴史を感じさせる立派な建造物がよく見られる。これらの建物は単なる展示物ではなく、内装に手を加えられ今でも立派に機能している。また、1892年に火災に見舞われた校舎の焼け残りの6本の石柱は永久保存され、今ではミズーリ大学ひいてはコロンビア市のシンボルとなっている。歴史ある建造物を消耗品にしない技術と哲学には大いに感銘を覚えた。

昆虫学講座内には、分類、行動、生理から作物保護といった農学部の定番的な研究室に加え法医昆虫学の研究室があって、そのような研究領域を知らなかった筆者には新鮮であった。昆虫学の科学警察分野への応用（主に変死体の死亡時刻、死亡場所の推定）をめざすこの分野は昆虫学の新しい展開として注目されているとのことである。学内に設置された農務省の生物防除研究施設が昆虫学講座に組み込まれていたり、林学科の入るビルに農務省林業局の分室が納まっていたりという、官学間の敷居の低さはまた驚きであった。

その他にも、学内行政の透明性、民主性や分業に根ざした各人の独立の尊重、外国人留学生や研究者の受け入れ態勢の充実など感心させられる点は多かったが、行き過ぎた分業



ヨーロッパアカマツ林内での誘引トラップを用いた昆虫捕獲調査

や効率主義、企業資本導入などの弊害ととれる部分もまた見受けられ、考えさせられることが多かった。

4. ミズーリでの生活

アメリカというと犯罪大国のイメージがつきまとうが、大学町コロンビアは治安もよくのんびりした住みやすい所であった。気候は内陸性そのもので、たった一年の滞在で冬は-20℃から夏は40℃まで経験できた。雨や雪は基本的に少ないが、降るときはまとめて降り、現地での正月三が日は大雪でアパートに閉ざされていた。春から夏にかけては雷雨も多く、ひょうや竜巻を伴うことも珍しくない。実際、竜巻は筆者の滞在中も近郊で数回発生し、5月には隣州オクラホマで死傷者200人を越す大きな竜巻被害があった。郊外の住居は土地の起伏を利用して半分埋まったような形になっていることが多く、そこに作られた地下室は竜巻の際の避難壕にもなる。アパートでも避難用の地下室のあるところが多いらしいのだが、自分の所にはなくてがっかりした。

コロンビアの生活では案外身近に野生動物が多い。リスは町中でも珍しくなく、ウサギも大学構内をうろついていた。アパートの裏の池にはガチョウがやってきて、優雅ではあ

るが芝生を糞だらけにするので困った。山に調査に出ればシカ、アライグマ、ハコガメ、ワイルドターキーと遭遇することもしばしばであった。ただ、シカの多い森林にはダニもまた多く、辟易させられた。オポッサムはよく路上で轢かれて死んでいたが、大きなシカも結構轢かれていたのには驚いた。他にスカンクやビーバーも珍しくはないそうで、お目にかかれず残念であった。

5. おわりに

アメリカにおける材線虫病研究は、この病気が自国のマツ林にとって脅威でないことが判明して以降、衰退の一途をたどっている。しかし、アメリカの研究者は今なお欧米における材線虫病研究をリードする存在であり、またアメリカにおける材線虫病の土着病的なあり方は、日本から見れば、被害を微害化するためのヒントに満ちている。アメリカにおける材線虫病研究の継続とさらなる発展を願ってやまない。

最後に、貴重な体験に満ちた在外研究の機会を与えて下さった科学技術庁、農林水産技術会議ならびに森林総合研究所の関係者の皆様、ミズーリでの研究と生活を支えて下さったリニット教授をはじめとする昆虫学講座関係の皆様に心より感謝申し上げます。

生研機構からのご案内

平成12年度「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」採択研究課題について

応募のあった187課題の中から次の10課題が採択されました。

研究課題名(研究代表者氏名及び所属)	研究チーム構成	
「インスレーターの作用機構の解明と有用生物作出技術の開発」 赤坂 甲治(広島大学大学院理学研究科)	田嶋 正二 (大阪大学たんぱく質研究所) 安江 博 (農林水産省畜産試験場) 吉田 和哉 (奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス学科) 松岡 雅雄 (京都大学ウイルス研究所)	①
「カイコの遺伝子機能解析システムの構築」 田村 俊樹(農林水産省蚕糸・昆虫農業技術研究所)	三田 和英 (科学技術庁放射線医学総合研究所) 小林 正彦 (東京大学大学院農学生命科学研究科)	⑤
「広範な特性の米及び変異米の食味特性の解明及び新評価技術」 大坪 研一(農林水産省食品総合研究所)	佐藤 光 (九州大学大学院農学研究院)	②
「植物ホルモン情報伝達の分子機構解明による植物機能改変 =形態形成の人為的コントロールを目指して=」 小松 節子(農林水産省農業生物資源研究所)	北野 英己 (名古屋大学大学院生命農学研究科)	①
「生体関連触媒を用いる植物資源からの高分子新素材の創出」 宇山 浩(京都大学大学院工学研究科)		③
「ダイオキシン類の微生物分解系を用いた環境修復のための基盤研究」 大森 俊雄(東京大学生物生産工学研究センター)	若木 高善 (東京大学大学院農学生命科学研究科)	④
「ニワトリモノクローナル抗体の作成技術・実用化技術の開発に関する研究」 松田 治男(広島大学生物生産学部)		⑤
「マメ科植物等のゲノム分析による根粒形成機構の系統的解明」 川崎 信二(農林水産省農業生物資源研究所)	佐伯 和彦 (大阪大学大学院理学研究科) 原田 久也(千葉大学園芸学部)	①
「葉緑体の増殖制御技術の開発と応用に関する先導的研究」 黒岩 常祥(東京大学大学院理学系研究科)	河野 重行 (東京大学大学院新領域創成科学研究科) 高野 博嘉(熊本大学理学部)	①
「ラショナル・プロテイン・デザインおよびセレクション法の確立による「スーパープロテイン」の創生」 多比良 和誠(東京大学大学院工学系研究科)	長谷川 典巳(山形大学理学部) 小林 秀行 (農林水産省食品総合研究所)	⑤

注1：分野欄の○の中の数字は、それぞれ次の研究分野を示す。

- | | |
|------------------------------|-------------------|
| ①：生物機能解明・生産力向上分野 | ②：高機能・高品質食品分野 |
| ③：生物系素材分野 | ④：生物機能利用による環境改善分野 |
| ⑤：共通基盤研究その他生物機能の高度利用のための研究分野 | |

注2：採択課題の並びは研究課題名の五十音順である。

生研機構からのご案内

「新事業創出研究開発事業」課題採択について

1. 生物系特定産業技術研究推進機構では、政府のミレニアム・プロジェクトの一環として、平成12年度から新事業創出研究開発事業を実施します。
2. 新事業創出研究開発事業は、(1) 21世紀に向け新産業、新雇用の創出をめざすこと、(2) 産学官の連携を図り、特に産業界の参加を必須として、より効果的な研究体制としてコンソーシアム（研究共同体）を設定すること、(3) 豊かで健康な食生活と安心して暮らせる生活環境の実現を基本テーマに、21世紀へ向け発展が見込まれる生命科学等の分野を対象とすること等を特徴としており、これらを踏まえ、健康の維持増進、食料問題への貢献、環境問題への対応、生物機能の活用等に配慮して、健康機能性作物、環境ストレス対応植物、新生物農薬、新機能酵素、遺伝子操作技術などのテーマについて民間企業、国立試験研究機関、大学等に対する募集を行いました（研究期間は5年間。12年度の予算は全体で11億円）。
3. 平成12年4月、5月に行った課題の募集に対して60課題の応募がありました。

これらの提案課題について、学識経験者から構成される選考委員会（次頁）において、①新事業創出への貢献、②新規性・独創性、③産業競争力等の視点から審査を行い、この結果、採択課題として次の5つのコンソーシアムと24課題を決定しました。

【コンソーシアム1：健康機能性作物】

近年取り出された「作物の食用部分に機能性ペプチド（タンパクを構成するアミノ酸のつながり）を集積させる遺伝子」を活用し、糖尿病、肥満予防、スギ花粉症等に効果のあるイネを開発し、毎日の食生活を通じて生活習慣病等を予防しうるコメなどの開発をめざします。

糖尿病患者はその予備軍を含めると1600万人、肥満は2300万人、スギ花粉症は10人に1人にも及ぶともいわれ、これらの機能を持つ各種のコメが開発されることによって、国民の健康の維持増進に向け、大きな効果が期待されます。

○スギ花粉症に効果のあるペプチド含有米の開発

農林水産省農業生物資源研究所 高岩文雄室長（技術コーディネーション担当）

- 血糖コントロール作用を持つペプチド含有米の開発 (株)三和化学研究所
- 肥満防止効果を有する機能性共役脂肪酸の含有米・野菜の開発 (株)植物工学研究所
- 感染予防効果を有するラクトフェリン（鉄タンパク）含有米の開発 全国農業協同組合連合会
- 抗生物質マーカーの残らない方法で上記遺伝子を導入した組換えイネの開発 (株)日本製紙

【コンソーシアム2：環境ストレス対応植物】

(1) 環境ストレス耐性植物の開発

近年取り出された「低温、乾燥、塩分等の環境ストレスへの耐性の発現を強く促す遺伝子群」を用い、冷害、干ばつ等に強いイネ、劣悪環境下でも植林が可能なユーカリ等を開発します。

これらの植物の開発により、自然環境の変化に対する耐性が強く、また、従来では十分な生産の望めなかった厳しい条件下での農業生産等を通じ、食料の安定供給、環境問題に向け寄与することをめざします。

○環境ストレス耐性遺伝子（DREB等）の提供

農林水産省国際農林水産業研究センター 篠崎 和子主任研究官（技術コーディネーション担当）

- 環境ストレス耐性イネ、花きの開発 (株)日立製作所
- 環境ストレス耐性樹木の開発 王子製紙(株)
- 環境ストレス耐性芝の開発 海水化学工業(株)

(2) 環境浄化・モニタリング植物の開発

動物の肝臓から取り出された「毒物に反応し、解毒酵素を作る又は遺伝子発現を制御する遺伝子」等を用い、

ダイオキシン、PCB等土壤中の有害物質を吸収・解毒するためのサツマイモ等の環境浄化植物及び有害物質の種類や量によって花の色が変化する環境モニター植物（ペチュニア等）を開発します。

これらの植物の開発を通じ、環境汚染問題に対応し、国民が安心して暮らせる社会の実現に貢献することをめざします。

○P450（毒物から自らを防護するタンパク）遺伝子の提供

神戸大学 大川秀郎教授（技術コーディネーション担当）

農林水産省農業生物資源研究所 大川安信上席研究官

○ダイオキシン、PCB等化学物質の浄化植物の開発、植物の根張り性向上

（株）豊田中央研究所

○環境モニタリング植物の開発

サントリー（株）

【コンソーシアム3：新しい生物農薬の開発】

国内に広く生息する畑作物、野菜、果樹等の重要害虫（ミダレカクモンハマキ、ハスモンヨトウ）に効果のあるウイルス農薬の開発とその利用法の確立を図ります。また、モンリオール議定書により2005年に全廃することが国際公約になっている臭化メチルに替わる微生物を活用した新たな土壤消毒技術を開発します。

これらの生物農薬によって、化学農薬の使用が軽減され、環境に優しい防除技術の普及が見込まれます。

○ウイルス農薬の効果の強化及び安定性に関する基盤的技術の開発

東京農工大学農学部 国見裕久教授（技術コーディネーション担当）

○害虫防除用ウイルス農薬の開発

日本化薬（株）

○微生物を活用した土壤消毒剤（臭化メチル代替技術の開発等）

出光興産（株）

【コンソーシアム4：食品の機能を高めるための新機能酵素の開発】

ドメイン・シャッフリング（タンパクの機能領域入替え）等の新しい技術により酵素の改変を行い、虫菌予防、整腸作用、免疫増強等の新しい機能をもつ各種のオリゴ糖を効率的に生産する酵素を開発します。

これにより、新たな機能をもった食品が開発され、新しい分野の需要が開拓されることが期待されます。

○分子デザインに基づく新機能酵素の開発技術

農林水産省食品総合研究所 林 清室長（技術コーディネーション担当）

○虫菌予防、整腸作用等の機能を持つオリゴ糖を生産するための酵素の開発

（株）林原生物化学研究所

○免疫調節機能を持つオリゴ糖を生産するための酵素の開発

日本食品化工（株）

○感染防御機能を持つオリゴ糖を効率的に生産するための酵素の開発

昭和産業（株）

○整腸、ミネラル吸収促進の機能を持つオリゴ糖を生産するための酵素の開発

（株）明治製菓

【コンソーシアム5：遺伝子の分子レベル操作技術の開発】

我が国の研究・技術水準が国際的に高いナノテクノロジーの分野において、光ピンセット技術等のレーザー技術を用いた新たな遺伝子操作法の開発等をめざすもので、これにより欧米の特許技術に依存しない、国産技術に基づいたバイオ関連産業の発展が期待されます。

○遺伝子工学における分子操作技術の開発

京都大学大学院工学研究科 鷺津正夫教授（技術コーディネーション担当）

○遺伝子工学における分子操作技術開発のためのレーザー・マニピュレーターの開発

（株）モリテックス先端技術研究所

○細胞機能解析チップの開発

（株）島津製作所

○光による機能性成分の微量分析システムの開発

浜松ホトニクス（株）

選考・評価委員（五十音順敬称略）

委員長 児玉 徹（信州大学教授）

委員 栗飯原景明（元大妻女子大学教授）、大澤勝次（北海道大学教授）、大滝義博（株）ジャフコ特別顧問）、大類 洋（東北大学教授）、梶原敏宏（日本植物防疫協会会長）、佐々木堯（開放的融合研究推進事務局研究総括責任者）、中村靖彦（NHK解説委員）、町田泰則（名古屋大学教授）、三浦宏文（工学院大学教授）

生研機構からのご案内

平成12年度「新規融資課題募集」について

生研機構では、ただいま平成12年度の新規融資課題を募集しております。(締切り間近お急ぎ下さい。)
貴社の研究開発に生研機構の融資制度をぜひご活用下さい。

○一般融資制度 (平成12年度下期募集期間：平成12年7月31日～9月29日)

融資対象である試験研究の成功度を5段階評価し、企業の研究開発に対するリスクを軽減するため試験研究の成功度が低くなった場合には、貸付利率を低減する融資制度です。

○特別融資制度 (平成12年度募集期間：平成12年4月3日～9月29日)

融資対象である試験研究の成功度を5段階評価し、企業の研究開発に対するリスクを軽減するため試験研究の成功度が低くなった場合には、貸付元本を減免する融資制度です。(最大減免率は50%)

※制度の詳細、借入相談等お問い合わせは、下記までお気軽にご相談下さい。

生研機構新技術開発部融資課 (担当：落合、山野、羽田)

Tel. 03-3459-6565 Fax. 03-3459-6566 E-mail: yushi@tokyo.brain.go.jp

BRAINセミナー：作物改良へのゲノム情報の応用

日時：平成12年9月29日(金) 13:15～17:30

場所：生物系特定産業技術研究推進機構 大会議室 東京都港区虎ノ門3-18-19 虎ノ門マリビル2階

司会：貝沼 圭二 生物系特定産業技術研究推進機構 理事

演題及び講師：

作物改良へのゲノム情報の応用 (通訳付き)

Dr. Alan Myers アイオワ州立大学 生物化学・分子生物学科長

BRAINテクノフォーラム

ゲノム解析ワンダーランドからの贈り物—畜産の新たな展開を考える—

主催：生物系特定産業技術研究推進機構、(社)畜産技術協会

日時：平成12年10月10日(火) 13:00～17:00

場所：虎ノ門パストラル 新館4階 桜の間 東京都港区虎ノ門4-1-1 TEL. 03-3432-7261

司会：安江 博 農林水産省畜産試験場

演題及び講師：

ポストシーケンス時代のマウスゲノム解析

城石 俊彦 国立遺伝学研究所系統生物研究センター

ゲノム解析を用いた肥満糖尿病ラットの病因診断

渡辺 武 大塚製薬(株)大塚GEN研究所

ヒト22番染色体のシーケンシング完了とその意義

菟島 伸生 慶應義塾大学医学部

BRAINセミナー、BRAINテクノフォーラムのお申し込み

ご希望の講演会名、住所、氏名、所属、連絡先 (Tel. Fax. E-mail等) を明記の上、お申し込み下さい。

参加費は無料です。メ切は開催日の1週間前とさせていただきます。

なお、メ切前でも定員になり次第締め切らせていただく場合もございます。予めご了承ください。

お申し込み先：生研機構企画部企画第1課 (担当：原田、稲田、勝呂)

Tel. 03-3459-6565 Fax. 03-3459-6566 E-mail: kikaku@tokyo.brain.go.jp

編集後記

◆ブレインテクノニュース第81号をお届けします。本号の表紙写真は、ご覧のようにおしいそなイチジクで、福岡県総合農業試験場豊前分場の野方 仁氏に提供して戴きました。イチジクは、氏の紹介にもあるように江戸時代初期の頃から家庭の果樹としてお馴染みのものですが、食用品種の品種改良の研究は割合に新しく、その現状と課題を紹介して戴きました(24頁地域の先端研究)。

◆本号の総説には、「食用キノコ」を取り上げ、その有用物質の成分について静岡大の河岸洋和氏に、関連して国内情報として有用物質の生産と利用について(株)応微研の堀内 勲氏に執筆して戴きました。

◆そのほかの国内情報では、赤潮対策へのウイルス利用について水産庁瀬戸内海区水産

研究所の長崎慶三氏、環境問題で屢々問題になる豚糞への窒素排泄に関する低減技術について農水省九州農業試験場の梶 雄次氏、最近の豚肉流通・消費現場で問題となった“黒豚表示”に、一石を投ずることとなった毛色関連遺伝子多型による品種推定の研究について農水省畜産試験場の三橋忠由氏に、それぞれ紹介して戴きました。また、海外便りでは、農水省森林総合研究所九州支所の中村克典氏に、激害型マツ枯れの原因線虫マツノザイセンチュウに関連した在外研究の経験を記して戴きました。

◆次号以降も有益な研究情報を提供したいと存じますので、読者各位におかれましても、忌憚のないご要望・ご意見をお寄せ下さいますようお願いいたします。

(島山記)

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81号)

平成12年9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 虎ノ門マリンビル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