

平成15年 3月15日発行(隔月 1回15日発行)

ISSN 1345-5958 CODEN : BTEEEC

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 95 号

MARCH 15, 2003



細断型ロールベアラの開発

生研機構畜産工学研究部飼料生産工学研究

志藤博克

目 次

総 説

- イネゲノム塩基配列重要部分の高精度解読終了とその意味 1
 佐々木卓治 (独立行政法人 農業生物資源研究所 ゲノム研究グループ)

国内情報

- イネミトコンドリアゲノムの全構造決定 7
 西川智太郎・門脇光一 (独立行政法人 農業生物資源研究所 遺伝資源研究グループ)
 ホウ素トランスポーターの同定と植物のホウ素輸送における役割 12
 三輪京子・藤原 徹 (東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命化学専攻)
 コメの糊化特性にアミロペクチンの側鎖構造を支配する遺伝子が関与している
 ことを解明 16
 中村保典 (秋田県立大学 生物資源科学部)
 珪藻に感染する新奇ウイルスの発見 21
 長崎慶三 (独立行政法人 水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所 赤潮環境部)
 催涙因子合成酵素「LFS」の発見と、「涙の出ない新しいタマネギ」の開発 24
 今井真介・柘植信昭・朝武宗明・永留佳明・澤田 博
 (ハウス食品株式会社ソマテックセンター)
 細断型ロールペーラの開発 28
 志藤博克 (生物系特定産業技術研究推進機構畜産工学研究部飼料生産工学研究)

地域の先端研究

- 新しい肉用アヒル「大阪種」 32
 出雲章久・笠井浩司 (大阪府立食とみどりの総合技術センター 食品・資源部)

文献情報

- 異なる細胞種由来のクローンウシにおけるテロメア長の著しい違い 35
 N. Miyashita et al. (Biology of Reproduction, 66, 1649-1655, 2002)
 抄訳: 下司雅也 (独立行政法人 農業技術研究機構畜産草地研究所)
 ポリアクリルアミド及びアルギン酸に固定化した β -グルコシダーゼの熱及び
 タンパク質分解安定性 36
 N. Ortega et al. (J. Chem. Technol. Biotechnol., 73(1), 7-12, 1998)
 抄訳: 西村新吾 (カルピス株式会社 基盤技術研究所)
 タコ筋肉中のタンパク質分解酵素の性状と超高压処理による影響 37
 J. L. Hurtrado et al. (J. Food Science, 67(7), 2555-2564, 2002)
 抄訳: 木村郁夫 (日本水産株式会社 中央研究所)

海外便り

- 潮間帯湿地雑草における植食性昆虫と天敵類の群集生態学
 - 米国メリーランド大学における半年間 - 38
 松村正哉 (独立行政法人 農業技術研究機構 九州沖縄農業研究センター)

- (原著者訂正) 15

表紙写真説明

従来の飼料用トウモロコシの収穫調製は、フォレージハーベスタ、伴走ワゴンまたはダンプカーによる運搬、ホイールローダ等によるサイロ詰めという一連の作業を効率的に行うためには5~6名以上が必要であった。今回開発した、細断型ロールペーラと対応バールラップによるトウモロコシ収穫調製では、作業員2名で省力的かつロスが少ない能率的な作業が可能となった。詳細については、国内情報28頁をご覧ください。

◀総説▶

イネゲノム塩基配列重要部分の 高精度解読終了とその意味

独立行政法人 農業生物資源研究所 ゲノム研究グループ
佐々木卓治

わが国を中心とした国際イネゲノム塩基配列解読プロジェクトは2002年12月にイネゲノム塩基配列重要部分の高精度解読を終了した。開始以来ほぼ5年間の努力の成果である。この膨大な情報はこれから多くの研究や応用場面で有効に利用されることは間違いない。これまでに得られた、高精度塩基配列を利用した解析例をいくつか示し、高精度解読の重要性と今後の利用策を述べる。

1. はじめに

イネの全遺伝情報の根幹であるゲノム塩基配列を全て決定する計画が立てられたのは今から約7年前の1997年であった。当時、塩基配列解読効率でキーとなる自動シーケンサーの解読能力は1日1台あたり最大で50kb程度であった。しかも試料の泳動はガラス板の薄い隙間に形成したアクリルアミド層に数 μ lずつを狭い横間隔に、相互に混入しないように乗せて行わねばならず、多くの人手を必要とし、経費もかかり、また、イネのゲノムサイズ400Mbを10倍量読んで高精度データを得ようとすると、シーケンサーを20台揃えてフルに稼働したとしても4,000日以上かかるプロジェクトであり、とても10年間での解読実現は無理だろうと予想していた。しかし、何種類かの「神風」が吹き、2002年12月18日に小泉総理大臣が世界に向けて重要部分配列解読終了宣言を行ったことは既にご存じのことと思う。最初の神風はシーケンサーにガラス板に代わりガラス毛细管が導入され、革命的能率化が起きたこと、2番目の神風はこのプロジェクトがミレニアム研究に組込まれ多くの予算が投入されたこと、3番目は対応次第では逆風になったかもしれない民間会社からのデータ提供である。特に毛细管（キャピラリー）シーケンサーはイネゲノム塩基配列解読プロジェクトのために開発されたか

SASAKI Takuji

〒305-8602 つくば市観音台2-1-2

のようであった。この導入は鋳型DNAの調製、鋳型DNAのジデオキシ法による反応、反応物のシーケンサーでの解析の一連の工程を96穴プレートで行うことを可能にし、これらの工程の省力化（ロボット導入）を促した。現在では1台のシーケンサーは1日に400kbの解読能力がある。こうした最新機器にはそれにふさわしい鋳型DNAを与えてやらなくてはならない。この要求に見合った、信頼できるゲノム塩基配列を得るために必要な染色体上に正しく整列化した鋳型DNA（物理地図）の重要性については、本誌92号で既述しているので参照されたい¹⁾。

2. 高精度ゲノム塩基配列の用途

2-1. イネゲノム構造の理解

まず、2002年12月時点の、わが国が担当している6本の染色体のPAC/BACによる物理地図作成状況を図1に示した（図1）。第8染色体を除き、セントロメアはギャップとして残り、また最末端（テロメア）に相当するクローンは6本全てについてまだ得られていない。セントロメア長はFISH法により測定されているので²⁾、その他の各染色体部分の長さはPAC/BACが存在すればそれらの塩基配列情報から重なり部分を除去して求め、ギャップ部分長は遺伝距離から換算して得ている。第1染色体の場合、ギャップ長はすべてファイバーFISH法により実測している³⁾。この結果、6本全てにおいてPAC/BACによ

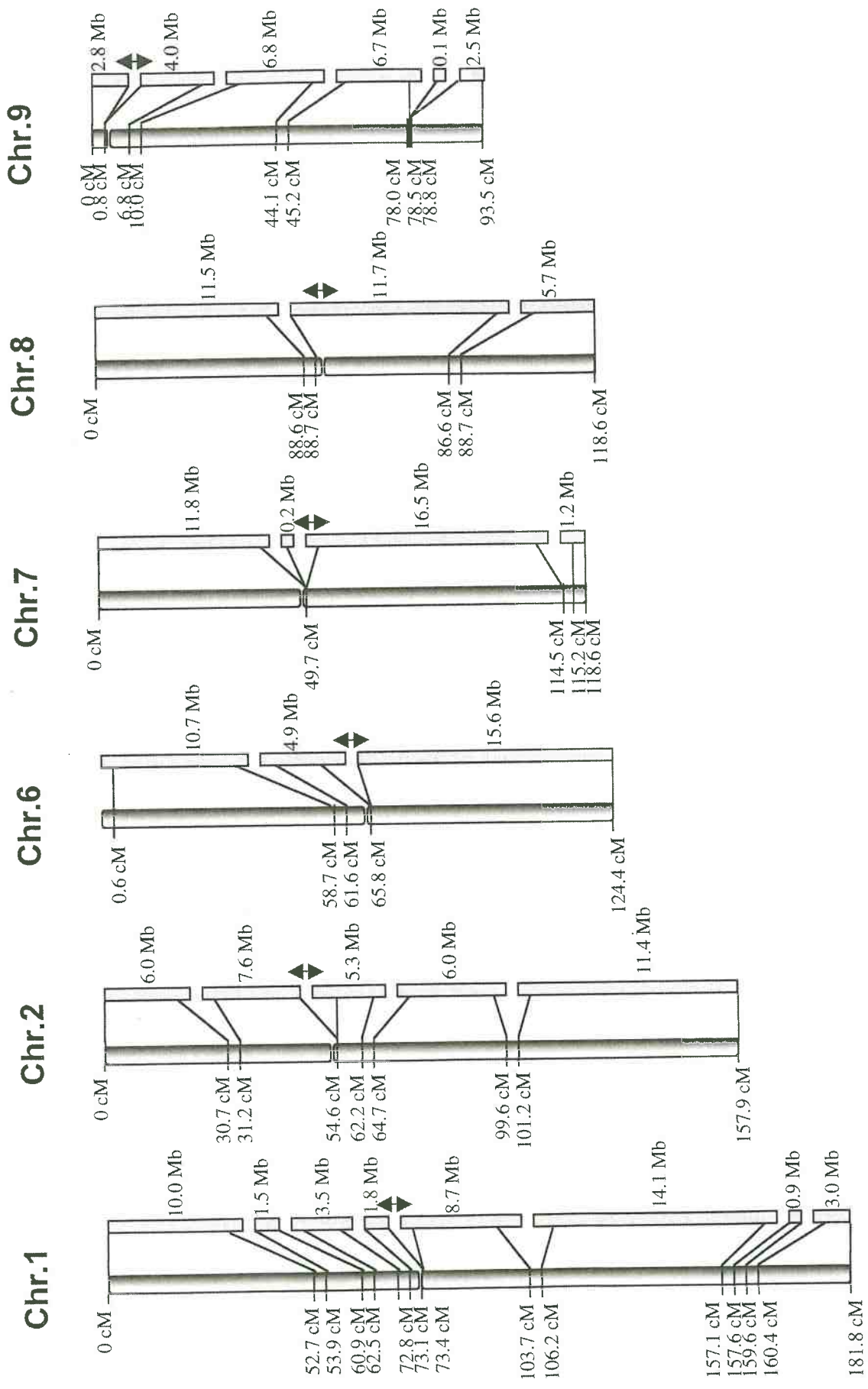


図1 わが国が担当している6本の染色体の最新の物理地図
 図中、連鎖地図(左)と物理地図(右)が対になって描かれている。物理地図上のギャップの位置は連鎖地図左側の遺伝距離と対応させてある。物理地図右側の数字は各コンテイングの長さ(Mb)を示す。物理地図左に示してある矢印はセントロメアの位置を示す。

る染色体の再現率は96%以上となっている。これらは現在利用できる可能な限りのクローンや付随する部分配列やフィンガープリントデータを利用して出来上がった地図であり、ギャップとして残された領域および各染色体のテロメア領域を今後埋めるには別種のクローンライブラリーの探索が必要となろう。ま

た、各ギャップ長の決定をファイバーFISH法により行うことも必要である。わが国が担当している以外の6本については米国が担当している第3および第11染色体での再現率が90%程度と低いことを除けば、ほぼわが国の担当分と同レベルにある。

この物理地図上のPAC/BACをシーケンス

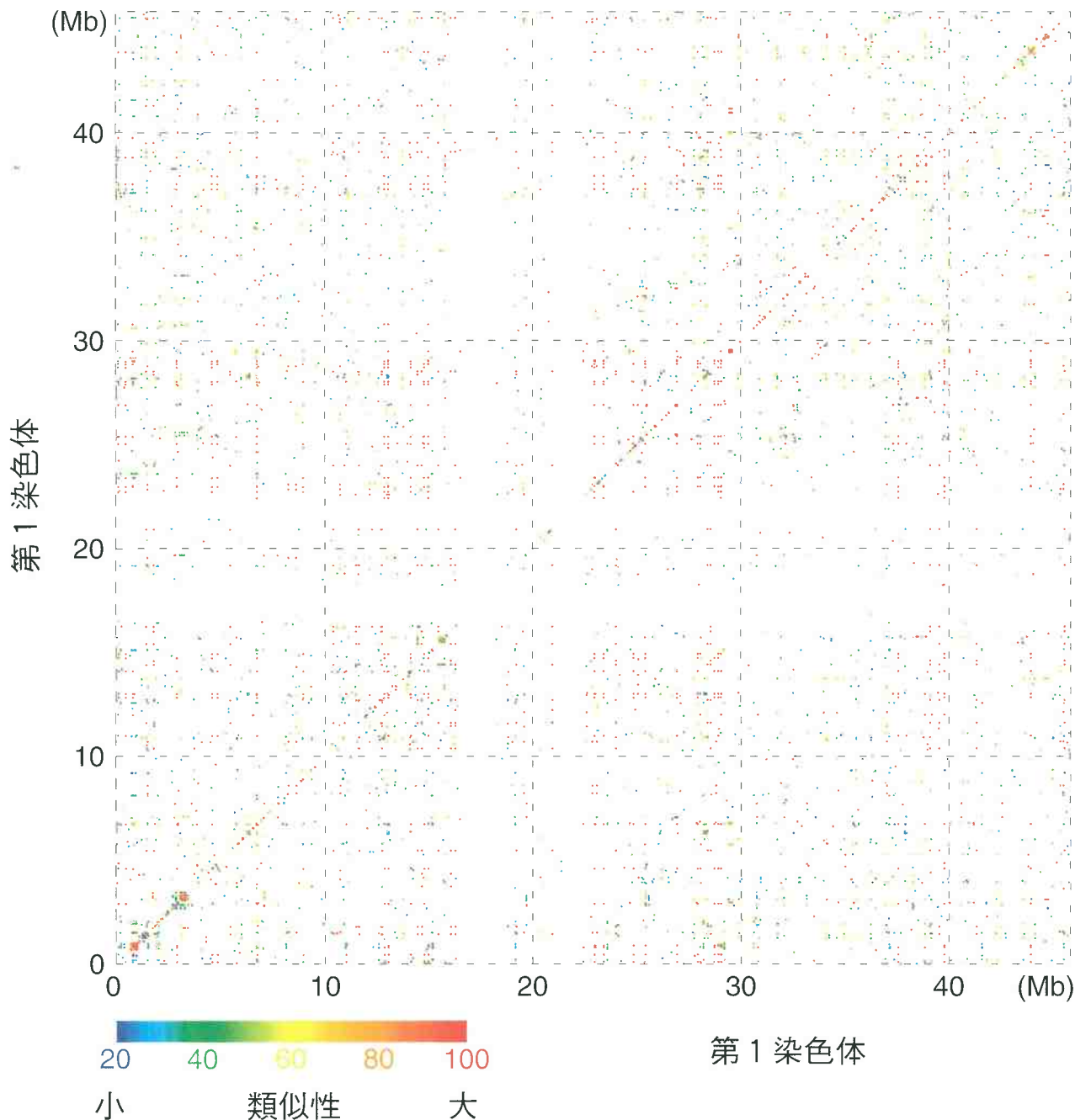


図2 イネ第1染色体で予測された遺伝子が重複して存在することを示す図
 仮想転写産物（タンパク質）を縦横両軸上に置き、各タンパク質間のアミノ酸配列が50%以上の類似性を示す場合、点を与えた。赤い色ほど類似性が高い。自己同士の場合は除いてある。

解析して得た配列データの利用法としてまず考えられるのは、配列のどこにどんな遺伝子が存在するのかの予測であろう。第1染色体の予測結果については既に発表した⁴⁾、イネゲノム全体について12月に得られた高精度配列データに対してギャップは許容して予測すると、全体の非重複解読長367Mbに対して62,000個の遺伝子が得られた。これはあくまでも遺伝子予測プログラムのみを利用して得られた値であり、研究者の目による吟味は行われていない。しかし、これまでにほぼ完全解読が終了した第1および第4染色体において、研究者が吟味して得た遺伝子数および遺伝子密度も今回ゲノム全体について得た値と大きく隔たる値ではなかった。第1染色体について予測された遺伝子の転写産物の分布を見る目的で縦横両軸にこれらを置き、各転写産物を比較し、予測タンパク質のアミノ酸配列間で50%以上の類似性が存在する対の場合に点を与えると、自己同士の場合を除去しても、ほぼ対角線上に多数の点が並ぶ(図2)⁵⁾。このように染色体全体にわたって明確な遺伝子の連続重複が観察された例は他の生物では知られていない。シロイヌナズナの場合には5本の染色体間で重複が知られているが、イネの場合のように遺伝子数が多いわけではない⁶⁾。イネにおけるこの特徴は第1染色体以外でも観察されるのか否か、現在検証中であるが、イネではこのように同類遺伝子が重複して存在し、それぞれの遺伝子に転写調節因子や配列が存在して、多様なケースに対応して発現調節が行われているのではないだろうか。ゲノム塩基配列解読を協調して行った国際コンソーシアムでは、高精度配列から読みとれるイネゲノムのいろんな特徴をまとめる計画である。それを通してゲノム構造についても新たな特徴が明らかになると期待される。

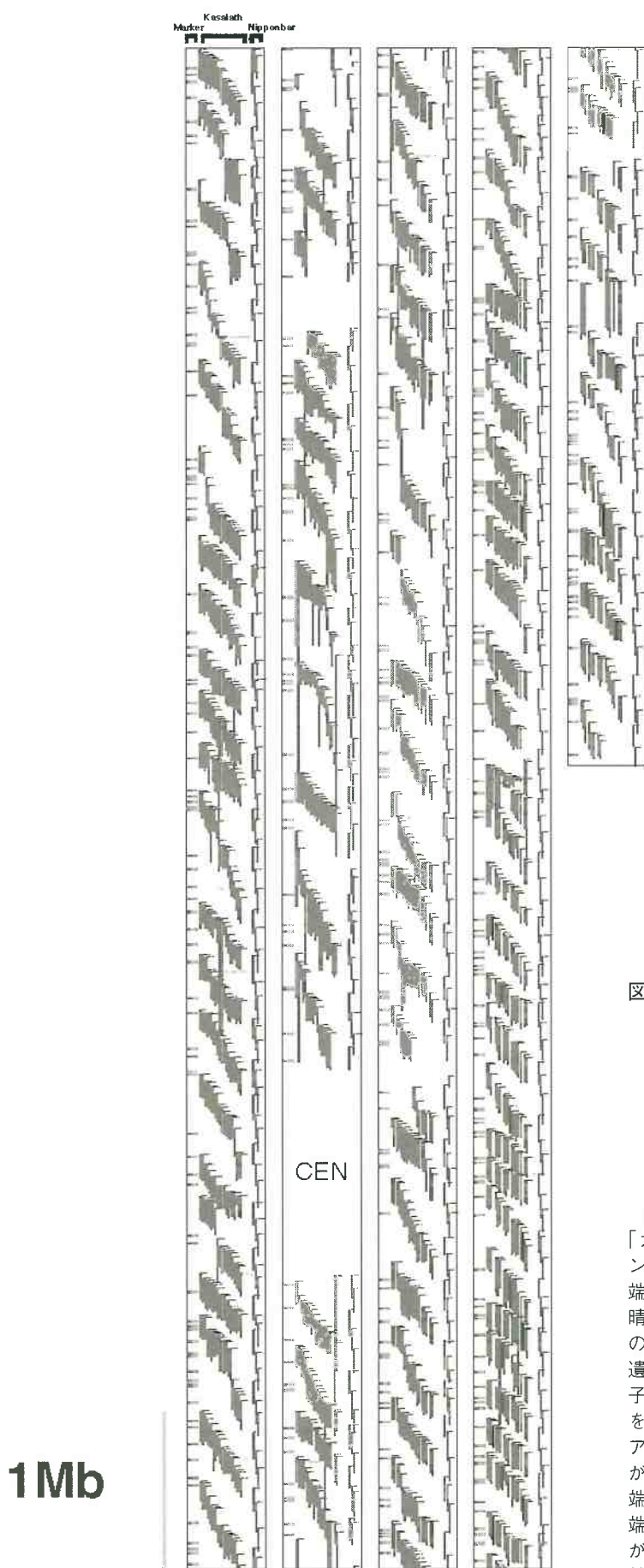
2-2. 他種ゲノムとの比較の標準塩基配列

国際コンソーシアムが全力をあげて高精度解読に取り組んだイネは日本型イネ品種「日本晴」である。これは「日本晴」が、わが国が

1991年に開始した本格的イネゲノム解析プロジェクトにおいて遺伝地図作成用集団の片親として、あるいは発現遺伝子カタログ作成および酵母人工染色体を利用したクローン作成の材料として使われ、塩基配列解読の基本素材あるいは情報源となっていたからである。しかも、これらの実験に一貫して利用されたのは農業生物資源研究所のイネゲノム研究チームが栽培していた「日本晴」であった。これほどまでにイネの塩基配列解読の対象品種にこだわったのは、厳密に言えば品種はクローンではなく同一品種名でも変異の可能性があること、また、イネにはわが国で栽培されている日本型イネに限ってみても多くの品種があり、品種間での塩基配列のわずかな違いが品種という形質の違いをもたらしているもので、標準となる配列が今後の遺伝子機能解析あるいは育種上必要な多数のアリルの発見に必須だからである。

これまでに日本型イネ同士の塩基配列を広いゲノム領域にわたって比較した研究例はまだないが、遺伝子が存在しない一部の領域における塩基置換を「日本晴」「こしひかり」「きたあけ」の3種類の品種で調べた結果によると、0.04~0.05%の一塩基置換変異頻度(SNP, Single Nucleotide Polymorphism)であると報告されている⁵⁾。「日本晴」とインド型イネの塩基配列の比較は中国で栽培されている品種「Guangluai 4」の間で、第4染色体において2.3Mbにわたり行われた⁶⁾。それによると、まず第1点として、予測される遺伝子の順序は両者間で同一であり転座は起こっていないこと、第2点として挿入・欠失の起こっている箇所は両者で大きく異なっていること、第3点としてこの領域でのSNPは9,056ヶ所(268塩基に1箇所のSNP, 0.37%)であること、が明らかにされた。この値は日本型イネ同士を比較したのと同様の方法で「日本晴」と「Guangluai 4」間で観察されたSNP頻度0.68%⁵⁾よりも低く、遺伝子内部でのSNP頻度は日本型とインド型の2亜種間では低いことが推察される。

SNPは今後新たなアリルの発見に大きく貢



献すると思われるが、その情報を表現形質と関連付けて、多くの品種や亜種、あるいは栽培種に近縁の野生種イネから収集することが必要になる。この目的のために「日本晴」以外の品種や亜種については、それぞれの群の比較基準となる物理地図が望まれる。我々は「日本晴」高精度ゲノム塩基配列を用いれば、他品種イネの物理地図がどの程度容易に作成できるのかを示すためにインド型イネ品種「カサラス」を例にして取組んだ。まず行

図3 「日本晴」イネ第1染色体の高精度塩基配列を利用して作製されたインド型イネ「カサラス」のBACコンティグ図。

多数重なっているのが「カサラス」BACクローン、各四角の箱の中で右端にある重なりが「日本晴」コンティグ。各四角の左端に示された横棒は遺伝マーカーと発現遺伝子マーカーの存在位置を、CENはセントロメアを示す。図の左側上端が第1染色体の短腕末端、順次図の下端から上端に再度戻ってたどりながら、右側下端が長腕末端になる。

うことは、BACライブラリーの作成である。ゲノムの10倍当量程度に相当する数万クローンの規模とし、これら各クローンの両末端の塩基配列を読む。現在はBACクローンDNAの調製も96穴プレートで行え、キャピラリー型シーケンサーによりBAC DNAを鋳型にした場合の反応産物の解読も可能となり、短期間で多量の末端配列データが収集できる。この中から「日本晴」の特定の領域の塩基配列に対応する配列をBLAST（類似性検索プログラム）を用いて探し出す。更に候補BACクローンの存在箇所を確認するために、「日本晴」ゲノムに位置づけた遺伝マーカーや発現遺伝子マーカーの存在をPCRで確認する。第1染色体についてこの方法を用いたところ、第1染色体の90%に相当する、「カサラス」BACクローン合計1,950個から構成される22個のコンティグ（連続して重複したBACクローンの集団）が形成された（図3）。このように高精度「日本晴」ゲノム塩基配列がイネ他品種の迅速な物理地図作成に有効であることが示された。

新たなアレルの獲得には、単純反復配列（SSR, Simple Sequence Repeat）の繰返し単位数の違いの利用も有効である。高精度「日本晴」配列中に見いだされる繰返し配列を挟む配列を利用してPCRプライマーを設計することで2,240個の新たなSSRマーカーが作出されている⁷⁾。従来はSSRマーカーの作出は時間と経費がかかることから、はかどっていなかったが、今後は更に情報が増えることが期待できる。

3. おわりに

イネの高精度重要部分ゲノム塩基配列は、

今後更に完全解読を目指して、現在は物理地図上および配列上ギャップにとどまっている領域の克服が図られる計画である。これには約2年間が必要だと見られている。完全解読により更に詳細なイネゲノムの構造や遺伝情報が得られる。同時に、これらを用いたイネの科学が大きく進むと期待される。それは生理生化学的研究であったり、遺伝学的研究であったりするであろうし、新たな手法や考え方を産むであろう。そのような研究成果をコマを実らせる植物としてのイネの改良につなげていくことを忘れないように心がけたい。

なお、本稿に述べた成果は農林水産省イネ・ゲノムプロジェクト「イネ・ゲノムの全塩基配列の解明」の課題1101, 1103, および1201により得られたものである。

文献

- 1) 佐々木卓治 (2002) *ブレインテクノニュース* 92, 1-6
- 2) Cheng, Z. et al., (2002) *Plant Cell*, 14, 1691-1704
- 3) Sasaki, T. et al., (2002) *Nature*, 420, 312-316
- 4) The Arabidopsis Genome Initiative, (2000) *Nature*, 408, 796-815
- 5) Nasu, S. et al., (2002) *DNA Research*, 9, 163-171
- 6) Feng, Q. et al., (2002) *Nature*, 420, 316-320
- 7) McCouch, S. R. et al., (2002) *DNA Research*, 9, 199-201

◀国内情報▶

イネミトコンドリアゲノムの全構造決定

独立行政法人 農業生物資源研究所 遺伝資源研究グループ

西川 智太郎 ・ 門脇 光一

イネのミトコンドリアゲノムの全構造を決定した。この成果は、トウモロコシ、コムギ等の主要な穀類を含む単子葉植物で世界初の報告例である。イネにおいて、既に葉緑体ゲノムの構造決定は完了しており、核ゲノムについても解読がほぼ終了している。本ゲノムの決定と併せると、イネ細胞を構成する全てのゲノム構造が明らかとなったため、これら情報はイネを理解することはもちろん、穀物全体の研究に利用されることが期待される。

1. はじめに

ゲノム解析手法を用い、生命の設計図であるゲノムの遺伝子情報をすべて解読する研究は、世界各国で精力的に実施されている。植物細胞には3種類のゲノム(核、葉緑体、ミトコンドリア)が存在し、その協調発現により生命が営まれている。そのため、3つのゲノム全てについて解読することは、植物の生命活動を理解するためには極めて有効な手法である。ミトコンドリアは、細胞におけるエネルギー生産を担う小器官であり、ミトコンドリアゲノムの変異が花粉不稔や罹病性と関係していることが、これまでに証明されている¹⁾。

イネ、トウモロコシ、コムギ、オオムギなどに見られるように、世界の主要な食料は単子葉のイネ科植物でほぼ占められているが、これらの主要穀物を理解するためのモデル植物として、イネの遺伝子情報の一刻も早い完全な解読が期待されていた。これまでに、イネ葉緑体ゲノムの全構造は1989年に決定されており²⁾、イネ核ゲノムの全貌も2002年末に明らかになった³⁾。もう一つのゲノムであるミトコンドリアゲノムの構造については、構造の決定が期待されていたとともに、世界中で主要穀物のミトコンドリアゲノム全構造決定について、激しい一等賞争いが続いてきた。

NISHIKAWA Tomotaro, KADOWAKI Koh-ichi
〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2

2. 植物のミトコンドリアゲノムの特徴

動物のミトコンドリアゲノムや同じ細胞質オルガネラゲノムである葉緑体に比べて、植物のミトコンドリアゲノムの解析が遅々として進んでいなかったのには訳がある。以下に3つの主要な理由を述べる

(1) 複数の分子種から構成されている

単一環状構造をしているヒトミトコンドリアゲノムなどとは異なり、高等植物ミトコンドリアゲノムは、多数の環状DNAが存在しており、それらがセットとして初めてゲノムとして機能する。この構造はマルチパーティ構造と呼ばれる。このため、ミトコンドリアゲノムの断片の塩基配列を決定してつなぎ合わせていっても、容易にその全容を把握することが出来ない。

(2) 転写後に遺伝子情報の書き換えが起きる

高等植物のミトコンドリアゲノムでは、転写後にメッセンジャーRNAが修飾を受け遺伝子情報の書き換えが起きる。この機構はRNAエディティングと呼ばれ、DNA上のC(シトシン)がRNA上でU(ウラシル)に置換される。これにより修飾される塩基の位置によっては、翻訳開始コドンの出現、翻訳終止コドンの出現、アミノ酸置換が生じる。この他にも、転写後にシスあるいはトランススプ

ライシングによりメッセンジャーRNAが成熟するものもあるため、ゲノムのDNA配列の決定だけでは、遺伝子情報を解読することは不可能である。

(3) ゲノムサイズが大きい

植物のミトコンドリアゲノムは一般的に大型で、200kbから2,400kbの大きさであると言われており、イネは当初492kb程と推定されていた⁴⁾。ヒトが16.7kbなので、イネは約30倍の大きさがある。

3. イネミトコンドリアゲノムの構造の概略

このような状況の中、我々はイネミトコンドリアゲノムの解読を完了し、2002年11月に国際誌にて公表した⁵⁾。それまで植物でミトコンドリアゲノムの解読が終了していたのは、ゼニゴケ⁶⁾、シロイヌナズナ⁷⁾、テンサイ⁸⁾のみであり、主要作物、そして単子葉植

物においては初めての決定例であった。これによってイネでは、葉緑体、核、そしてミトコンドリアと、3種類のゲノム構造全てが明らかとなることとなり、農作物で初めて、細胞内の3つの全てのゲノムの協調発現を解明することに道筋をつけることができたのである。

ゲノムの全長は490,520bpであり、G+C含量は43.8%であった(図1)。G+C含量の高い領域は、*rrn5*, *rrn18*, *rrn26*といったリボソームRNA領域や、*nad7*遺伝子に見られ、一方葉緑体由来配列のG+C含量は低かった。また、ゲノム中には1 kb以上の長い反復配列が6つ存在し、それぞれ3.1, 4.1, 4.7, 23.0, 46.1, 46.6kbの長さであった。これらを合わせると、127.6kbもの長さになり、全ゲノムの26%を占めていた。ゲノム上には、既知遺伝子35、リボソームRNA遺伝子3、偽リボソームタンパク質遺伝子2、tRNA遺伝子17、偽tRNA遺伝子5が存在することが明らかとなった。後述するように、これらの

表1 植物のミトコンドリアゲノムにおける遺伝子多様性

遺伝子	イネ	シロイヌナズナ	テンサイ	ゼニゴケ
<i>nad7</i>	+	+	+	ψ
<i>sdh4</i>	-	ψ	-	+
<i>ccmC</i>	+	+	ψ	+
<i>ccmFN</i> (<i>ccmFN1</i> + <i>ccmFN2</i>)	+	-	+	+
<i>ccmFN1</i>	-	+	-	-
<i>ccmFN2</i>	-	+	-	-
<i>rpl2</i>	+	+	-	+
<i>rpl6</i>	-	-	-	+
<i>rpl16</i>	+	+	-	+
<i>rps1</i>	+	-	-	+
<i>rps2</i>	+	-	-	+
<i>rps8</i>	-	-	-	+
<i>rps10</i>	-	-	-	+
<i>rps11</i>	ψ	-	-	+
<i>rps13</i>	+	-	+	+
<i>rps14</i>	ψ	ψ	-	+
<i>rps19</i>	+	ψ	-	+

+: 有り, -: 無し, ψ: 偽遺伝子

遺伝子の存在性は他の植物のミトコンドリアゲノムとは異なっていた。ミトコンドリアゲノムの塩基置換速度は核や葉緑体ゲノムの置換速度に比べて極めて遅いことが知られており、それとは対照的に、構造そのものは動的に変化していることが明らかとなった。

イネミトコンドリアゲノムでは、既知及び推定タンパク質遺伝子のORF（タンパク質をコードする読み枠）は、計45存在するが、これらについてRNAエディティング解析を行った。33ORF及び1偽遺伝子において、計491のゲノム中のシトシン塩基が、メッセンジャーRNAではウラシル塩基に置き換わっていた。*ccmC*遺伝子では、ORF中最も多い36サイトものエディティングサイトが存在する。一方、*rps12*遺伝子のようにエディティングサイトが存在しないものもあった。また、偽遺伝子の中にも、偽*rps11*遺伝子のように4サイトにエディティングが存在するものも有れば、偽*rps14*遺伝子のようにエディティングが存在しないものもあった。

4. 植物ミトコンドリアゲノムの遺伝子多様性

これまでにゼニゴケ、シロイヌナズナ、テンサイの3植物のミトコンドリアゲノムの構造が明らかとなっているが、これらとイネのミトコンドリアゲノムとの間に、遺伝子存在性に関わる多様性を明らかにすることが出来た（表1）。リボソームタンパク質遺伝子を中心として、イネのミトコンドリアゲノムに存在している遺伝子が他の植物のミトコンドリアゲノムでは消失していたり、他の植物のミトコンドリアゲノムで存在している遺伝子がイネでは消失していた。これ以外にも、tRNA遺伝子の存在性も植物間で多様性が大きく、今回の解析によって、植物のミトコンドリアゲノムの著しい遺伝子多様性が明らかになった。

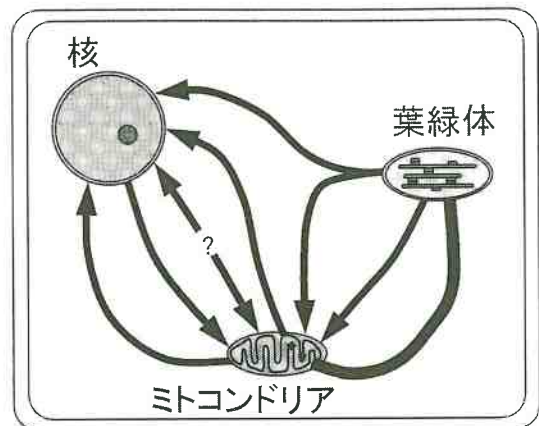


図2 イネミトコンドリアゲノムにおけるDNA断片移動の模式図

5. 動的なゲノム構造

ミトコンドリアゲノムには、ミトコンドリア自体の配列に加えて、他ゲノム由来の配列も存在した。イネミトコンドリアゲノムにおいては、葉緑体ゲノムと核ゲノム由来の配列は、それぞれ6.3%、13.4%であった。この事実の意味するところは、ゲノム間でDNA断片のやりとりが存在した、ということである。3ゲノム間での相同性を解析したところ、移動は高頻度で生じていることが明らかとなった（図2）。ミトコンドリアから核へは、リボソームタンパク質遺伝子やtRNAの配列が、核からミトコンドリアへは、トランスポゾンやレトロトランスポゾンの配列が移動していた。また、由来不明の配列が、核とミトコンドリア両者に存在していたり、葉緑体の同一領域の配列が、核とミトコンドリアへ移動していた。さらに、葉緑体からミトコンドリアへと移動した配列がその後、さらにミトコンドリアから核へと移行したケースも明らかになった。葉緑体からミトコンドリアへ移動した配列の中には、tRNAの配列も幾つかあり、ミトコンドリアゲノムはそれら葉緑体ゲノム由来tRNAをすっかりミトコンドリアの遺伝子発現に利用していることも明らかとなった。

今回3種類のゲノム全ての構造が明らかになることによって、このように高等植物の3

つのゲノムが流動的にDNA断片をやりとりしていた動態（ダイナミズム）を明らかにすることができた。今後研究が進展することにより、DNA断片のやりとりだけでなく、ゲノム間の遺伝子情報のクロストークなどがさらに明らかとなるであろう。

6. おわりに

本成果は、トウモロコシ、コムギ、オオムギなどの主要穀物および単子葉植物のミトコンドリアゲノム情報のスタンダードとして今後の解析に利用されるであろう。研究の進んでいるヒトでは、ミトコンドリアに起因する遺伝病は数十パーセントに上ることが明らかにされているが、植物のミトコンドリアに起因する遺伝現象の報告は限られている。DNA配列情報とともに遺伝子情報をも解読した今回のイネミトコンドリアゲノム情報は、植物のミトコンドリアが果たしているであろうさまざまな役割を今後詳細に解明するための基盤情報となり得る。また葉緑体同様、

ミトコンドリアゲノムは母親からしか遺伝しないため、農作物などの育種における母親の役割を、遺伝子レベルで議論することが初めて可能になった。

文 献

- 1) Rottmann, W. H. et al. (1987), EMBO J. 6, 1541-1546
- 2) Hiratsuka, J. et al. (1989), Mol. Gen. Genet. 217, 185-194
- 3) <http://www.nias.affrc.go.jp/project/inegenome/index.htm>
- 4) Iwahashi, M. et al. (1992), Theor. Appl. Genet. 84, 275-279
- 5) Notsu, Y. et al. (2002), Mol. Gen. Genomics. 268, 434-445
- 6) Oda, K. et al. (1992), J. Mol. Biol. 223, 1-7
- 7) Unseld, M. et al. (1997), Nat. Genet. 15, 57-61
- 8) Kubo, T. et al. (2000), Nucleic. Acids. Res. 28, 2571-2576



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内

第 94 号

2002 (平成14) 年11月15日発行

総 説

日本産乾シイタケと中国産乾シイタケとの
判別手法の開発 …………… 時本景亮・寺島和寿

国内情報

米のDNA品種判別技術の開発—コシヒカリ判別用
プライマーセットの開発……………大坪研一・中村澄子
DNAマーカーによるイグサ品種「ひのみどり」の
識別技術開発 ……斎藤 彰・飯牟禮和彦・奥泉久人
高純度の絹蛋白質セリシンを産生する蚕品種
「セリシンホープ」の育成

……………山本俊雄・宮島たか子・間瀬啓介・飯塚哲也
すり身排水からのDNA及びEPA含有油脂の
新規回収法……………高橋力一
千葉県かん水抽出フルボ酸の水稻苗生育へ与える
諸効果 ……………山田パリーダ・山口達明

地域の先端研究

花色素分析を活用したトルコギキョウ
新花色品種の育成
……………間藤正美・柴田 浩・佐藤孝夫・檜森靖則

文献情報

ヒツジの子宮内膜におけるGM-CSF量の調節
……………(抄訳：下司雅也)
酵母における窒素制御 ……………(抄訳：家藤治幸)
rheインはTGF- β によって誘導される尿管管上皮
細胞の肥大や細胞外マトリックス産生制御する
……………(抄訳：織田浩司)

海外便り

反芻動物における脂肪組織分泌ホルモン(レプチン)
に関する研究—西オーストラリア大学と
CSIROでの1年間— ……………角川博哉

◀国内情報▶

ホウ素トランスポーターの同定と 植物のホウ素輸送における役割

¹東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命化学専攻 ²PRESTO, JST
三輪京子¹・藤原 徹^{1, 2}

ホウ素は植物の必須元素の中では至適濃度範囲が狭い元素であり、欠乏や過剰障害が起こりやすい。これは、ホウ素が植物に受動的に吸収されるためであると、長い間考えられてきた。2000年になって、他の必須元素と同様に、植物はホウ素を積極的に吸収し地上部へ輸送していることが示された¹⁾。われわれのグループでは、ホウ素の輸送体を生物界で初めて単離し、植物のホウ素輸送における役割を明らかにした²⁾。生物におけるホウ素の輸送を制御する可能性が開かれた。

1. はじめに

ホウ素は植物の必須元素であり、植物は土壤溶液中のホウ酸を吸収している。ホウ酸は中性溶液中では電荷を持たない分子状のホウ酸 (H_3BO_3) として存在しており、降水量の多い地域では土壌から溶脱しやすい。中国では、揚子江周辺から南部にかけて広大なホウ素欠乏地帯が広がっており、綿花やナタネの主要な収量阻害要因となっている。逆に乾燥地ではホウ素が蓄積しやすく、米国のカリフォルニアやオーストラリアにはホウ素過剰地帯が広がっている。ホウ素は最近まで、植物にのみ必須な元素であると考えられてきたが、数年前に動物でも必須であることが示された³⁾。ホウ素は植物においては細胞壁に主に存在してペクチンの架橋をすることが知られており^{4, 5, 6)}、ホウ酸によるペクチンの架橋が生育に重要であることが示されている⁷⁾。

2. ホウ素の植物による吸収

生物の吸収実験には放射性同位元素がトレーサーとして用いられることが多い。しかし、ホウ素の場合は放射性同位元素の半減期は短く、吸収実験には使えない。ホウ素の定量は比色法が用いられてきたが感度は高くなかった。比色法の検出感度の範囲では、植物のホ

Miwa Kyoko, Fujiwara Toru

〒113-8657 文京区弥生1-1-1

ウ素濃度は培地中のホウ素濃度にほぼ比例する。このことから、ホウ素は受動的に吸収されると考えられてきた。また、吸収されたホウ素の地上部への輸送は蒸散流によって起こることが知られており、ホウ素は植物の必須元素では例外的に、受動的に吸収され体内を移行すると考えられてきた。ホウ酸のpKaは9.24であり、中性溶液中では電荷を持たない分子として存在する。そのため、生体膜の脂質二重層を比較的透過しやすく、受動吸収の理由であると考えられてきた。

最近、ICP-MSを用いてホウ素のppbレベルの高感度検出が可能になるに従って、植物は低濃度 (μM 程度) ホウ酸にさらされると、ホウ素を能動的に吸収し地上部へ輸送していることが明らかにされるようになってきた¹⁾。

3. ホウ素トランスポーターの単離

シロイヌナズナ *bor1-1* 変異株 (図1) は野生型と比べて、正常な生育に高濃度のホウ素を必要とする変異株で、ホウ素栄養に関するシロイヌナズナ変異株としては、世界で初めて単離されたものである⁸⁾。 *bor1-1* 変異株は北海道大学の内藤哲教授によって発見された⁹⁾。当時、北大グループでは植物ウイルスの増殖に関する変異株PD114の研究を行っていたが、研究室で使用していた水耕液のストックを作り替えた時、他の株には異常が見られないのに、PD114株の稔実だけが悪くなってし



図1 シロイヌナズナ *bor1-1* 変異株

3 μ Mのホウ素を含む水耕液で栽培した *bor1-1* 変異株 (右) と野生型株 (左)。若いロゼット葉の展開が抑制されている。

まった。ホウ素欠乏はナタネに不稔を引き起こすことが知られており、内藤先生はストック溶液のホウ素濃度が低く、野生型株には影響が出ないものの、PD114株はホウ素欠乏に感受性が高くなっているのではないかと考えた。そこで、開花しているものの結実していないPD114株にホウ酸を与えたところ、数日後に結実が見事に回復した。遺伝解析を行ったところ、この表現型の原因となった変異は、植物ウイルスの増殖に関わる変異とは別個のものであった。その後、PD114株からはウイルス増殖に関わる宿主因子である *TOM1* 遺伝

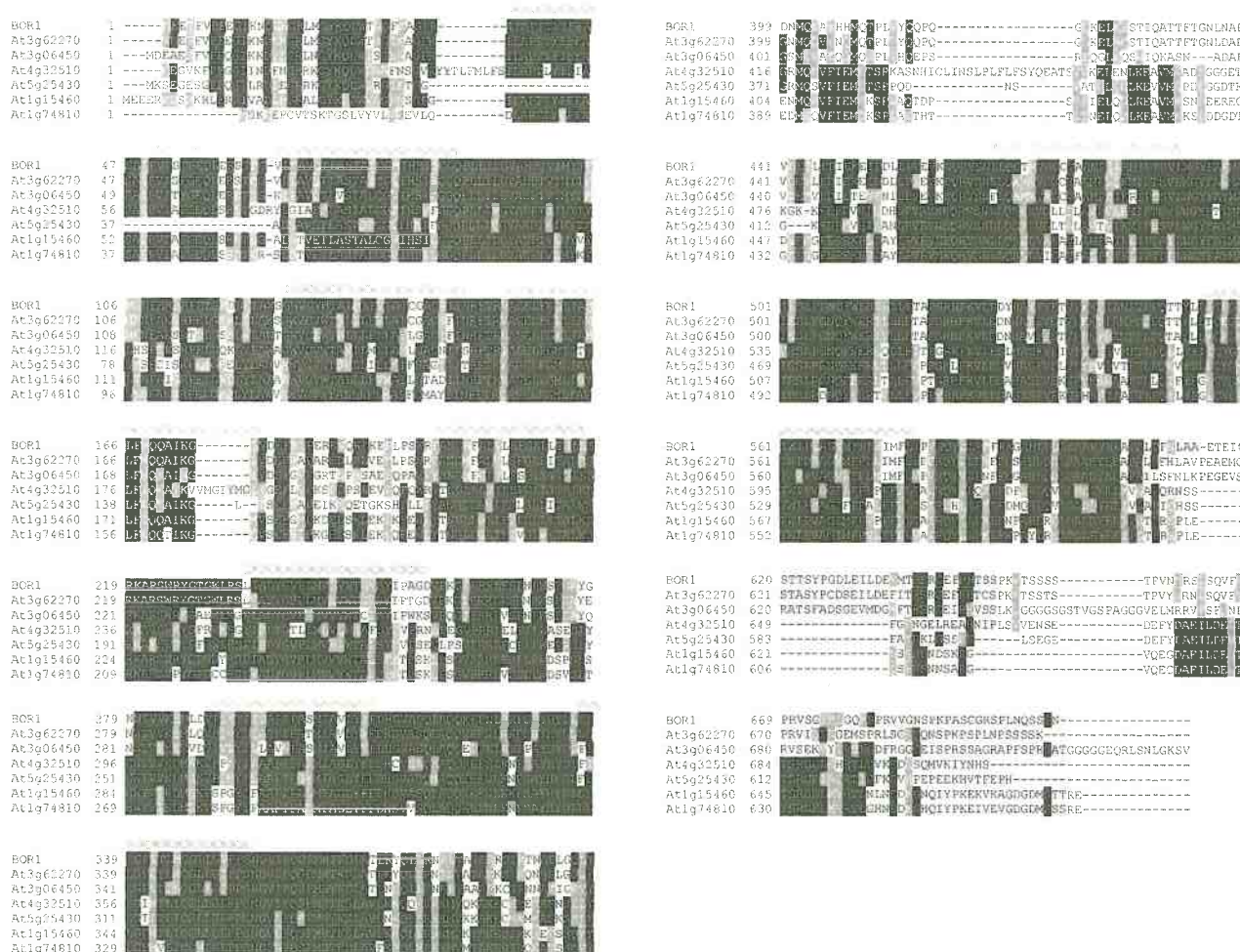


図2 シロイヌナズナの *BOR1* 相同遺伝子

シロイヌナズナに存在する *BOR1* 相同遺伝子6つと *BOR1* の推定アミノ酸配列を CLUSTALW プログラムによって最も相関性が高くなるようにアライメントした。同一および相関するアミノ酸を黒および灰色で示した。配列上部に灰色で示した領域は TMpred プログラムによって推定される *BOR1* の10個の膜貫通領域を示す。*BOR1* の他、At3g62270, At3g06450, At1g15460 の cDNA が単離されている。

子とホウ素トランスポーターBOR1遺伝子が同定された。この「一粒で二度おいしい」変異株¹⁰⁾は、幸運とそれをつかむ洞察力によって、単離されたのである。

*bor1-1*変異株は地上部のホウ素濃度が野生型植物より低く⁸⁾、このことが、低ホウ素濃度での生育障害の原因であると考えられる。ホウ素の安定同位体を用いたトレーサー実験を行ったところ、ホウ素の根への取り込みは野生型植物と同様で、受動的な吸収を示すが、導管液の濃度、地上部への輸送の段階でホウ素濃度の濃縮が起らないことが明らかになった²⁾。*bor1*の原因遺伝子BOR1を同定したところ、後述するようにホウ素のトランスポーターをコードしていた²⁾。

4. BOR1の構造と相同遺伝子

BOR1は704アミノ酸からなり、10個の膜貫通領域を持つと予想されるタンパク質である(図2)。BOR1とGFP融合タンパク質を発現させると細胞膜に局在することから、BOR1は細胞膜に局在する膜タンパク質であると考えられる²⁾。

BOR1に相同な遺伝子はシロイヌナズナゲノムにはBOR1を含めて7個存在している。これらの遺伝子間の相同性は全体的に高く(図2)、これらの遺伝子産物にもホウ素輸送能がある可能性がある。これらの遺伝子のうち、4つはcDNAクローンが単離されており、発現している。また、イネ、トウモロコシ、カボチャ、ナタネなどcDNAの網羅的な解析が進められている植物においてはBOR1の相同遺伝子が見つかる。

BOR1に相同な遺伝子は、酵母や動物にも存在する。ここ数年、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュなどでもホウ素が正常な分化に必須であることが示されてきている¹¹⁾。BOR1に相同な遺伝子は植物のみならず、真核生物で一般にホウ素の輸送に関与しているのかもしれない。

5. BOR1の活性と発現

これまでの遺伝学、生理学的な解析に基づく、BOR1はトランスポーターである可能性が考えられる。これを検証するため、BOR1を酵母で発現させ、ホウ素の吸収実験を行った。酵母を0.5mMのホウ酸にさらし、菌体内の可溶性ホウ素濃度を測定した²⁾。その結果、BOR1の発現によって、酵母の菌体内のホウ素濃度が低下した(図3)。このことは、BOR1がホウ素のeffluxタイプのトランスポーターであることを示唆している。

BOR1プロモーターとGFP融合遺伝子の発現は根のpericycleで強く観察される²⁾。Pericycleは導管の外側でカスパリー線の内側に位置しており、BOR1タンパク質はシンプラスミックに輸送されてきたホウ素を導管へ排出する機能を担っていると考えられる。

BOR1は環境中のホウ素濃度が低い際に必

細胞内
ホウ素の
相対濃度

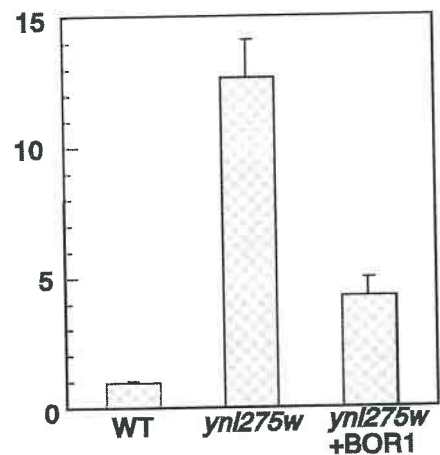


図3 BOR1の発現による酵母のホウ素濃度の変化

酵母の野生型株(WT)、*YNL275w*遺伝子破壊株(*ynl275w*)、破壊株にBOR1を発現させたもの(*ynl275w*+BOR1)を、0.5mMのホウ酸に1時間さらした後の菌体内の可溶性ホウ素濃度を測定し、野生型株の濃度に対する相対値で表示した。*YNL275w*遺伝子破壊株では野生型株に比べてホウ素濃度が高いが、BOR1の発現によって低下した。

須な積極的なホウ素の地上部への輸送を担うトランスポーターであると考えられる。

6. 今後の展望

これまで植物のトランスポーターを酵母の変異株を用いて単離することが良く行われてきたが、本研究はシロイヌナズナの研究から酵母YNL275w遺伝子の機能が明らかにされた、珍しい例である。BOR1は生物界で初めて単離されたホウ素トランスポーターである。本研究を契機に生物におけるホウ素輸送機構が解明され、ホウ素の生物における輸送の制御が可能になる可能性が考えられる。このような技術が開発されれば、作物のホウ素欠乏や過剰症の緩和につながっていくと考えている。

文献

- 1) Dannel, F. et al. (2000) : Aust J Plant Physiol. 27, 397-405
- 2) Takano, J. et al. (2002) : Nature 420, 337-340
- 3) Fort, D.J. et al. (1998) : Biol Trece Elem Res 66, 237-260
- 4) Kobayashi, M. et al. (1996) : Plant Physiol 110, 1017-1020
- 5) Ishii, T. & Matsunaga, T. (1996) : Carbohyd Res 284, 1-9
- 6) O'Neill, M.A. et al. (1996) : J Biol Chem 271, 22923-22930
- 7) O'Neill, M.A. et al. (2001) : Science 294, 846-849
- 8) Noguchi, K. et al. (1997) : Plant Physiol 115, 901-906
- 9) 藤原 徹, 高野順平, 野口享太郎 (2003) : 細胞工学 22, 52-53
- 10) Frommer W.B. and von Wiren, N. (2002) : Nature 410, 282-283
- 11) Rowe, RI and Eckhert, CD (1999) : J Exp Biol 202, 1649-1654

原著者名, 修正のお知らせ

本誌第94号(平成14年11月15日発行)総説所載の「日本産乾シイタケと中国産乾シイタケとの判別手法の開発」の著者について、筆者の時本景亮氏より、下記のように共著にしたい旨申し出がありましたので、その旨お知らせ致します。(編集部)

時本景亮 (TOKIMOTO Keisuke)¹・寺島和寿 (TERASHIMA Kazutoshi)^{1, 2}

¹財団法人きのこセンター菌茸研究所

²科学技術振興事業団

◀国内情報▶

コメの糊化特性にアミロペクチンの側鎖構造を支配する遺伝子が関与していることを解明

秋田県立大学 生物資源科学部
中 村 保 典

従来コメの品質に対するデンプンの影響は、大部分アミロース含有量の差異に基づいて論じられてきた。最近、デンプンの70-80%を占めるアミロペクチンの構造変異は極めて多様であり、デンプンの物性・品質を大きく左右することがわかってきた。ここでは、日印コメの糊化特性を決定している遺伝子の働きを中心に研究の現状を紹介する。

1. はじめに

デンプンは植物の生産する化合物の中で最も多量に人類に利用されている。食糧、食品にとどまらず工業品素材としても広く利用・応用されている。デンプンはアミロペクチンとアミロースから成るが、アミロペクチンの分岐構造は高次に規則性を有しており、ランダムな分岐構造を持つグリコーゲンとは異なる際立った特徴を持っている。アミロペクチン分子の構造に関する私たちの理解は必ずしもまだ十分とはいえないが、クラスターと呼ばれる単位構造が極めて多数タンDEM状に連結し、分子量が 10^8 - 10^9 のオーダーに及ぶ巨大ポリグルカンである。クラスターを構成している α -1,4グルカン鎖は α -1,6結合を介して分岐しているが、分岐結合はクラスターの基部に局在しているため、 α -1,4グルカン鎖同士は平行に配位する傾向にあり、平行部分がDP（重合度）10以上の隣り合う鎖同士はクリスタル領域で2重ラセンを形成する。こうした構造はこの部分の疎水性を画期的に高め、デンプン特有の糊化性・粘性など、品質や食味に関わる物性に大きく影響すると考えられる（図1）。

アミロペクチンのクラスター構造の変異がデンプンの物性を大きく左右することは想像に難くないが、クラスターの長さは植物種によらずほぼ一定の値を示すことから、① α -

NAKAMURA Yasunori

〒010-0195 秋田市下新城野

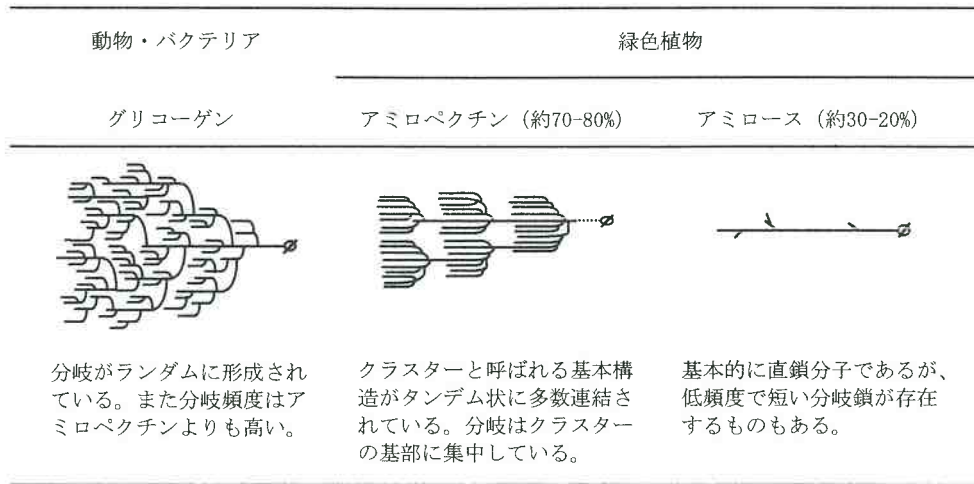
1,6結合の位置、②クラスターを構成する α -1,4鎖の総数、③ α -1,4鎖の長さなどが変異の重要な要因となるであろう。

アミロペクチンの生合成過程は、グリコーゲンよりもはるかに多数の遺伝子が関与し高度に制御されているシステムである。合成に関与するADPグルコースピロフォスホリラーゼ（AGPase：グルコース供与体であるADPグルコースの生成反応）、スターチシンターゼ（SS： α -1,4鎖の伸長反応）、デンプン枝作り酵素（BE： α -1,6結合の形成反応）、デンプン枝切り酵素（DBE： α -1,6結合の加水分解反応）の4クラスの酵素はいずれも複数のサブユニットまたはアイソフォームを有する。各酵素は異なる役割を担い、さまざまにアミロペクチンの分子構造に影響している可能性が高い¹⁾。

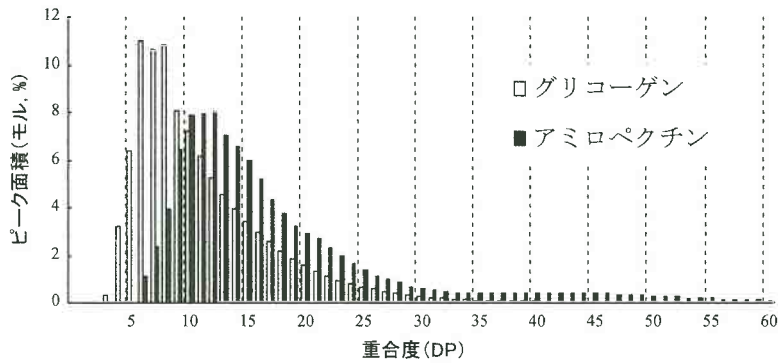
2. ジャポニカ米、インディカ米のデンプン特性

栽培イネの品種は、ジャポニカ型とインディカ型に大別される。両者のデンプンの品質や物性には違いがあることが広く知られている。ジャポニカ米の多くはネバネバとした日本人好みの性質を示す。一方インディカ米の多くは炊いたときパサパサとした食感があり、ピラフなどの食材に向いている。ジャポニカ型デンプン粒はインディカ型に比べてアルカリ溶液中で崩壊し易く、その原因遺伝子（アルカリ崩壊性遺伝子、Warth & Darabsett、

A. 生物における貯蔵性ポリグルカンの構造



B. α -1,4鎖長の分布



C. クラスターの内部構造

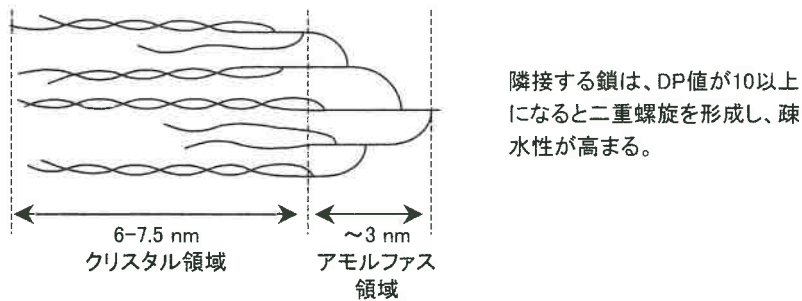


図1 アミロペクチンの分子構造

Bでは、アミロペクチンの α -1,6分岐結合を加水分解後、アミロペクチンを構成している α -1,4鎖の鎖長分布を分析した結果を示す。

1914) は染色体6番にマッピングされているが、アミロース合成を触媒する酵素遺伝子GBSSI (granule-bound starch synthase I) の位置とは異なっている。

私たちは日印イネ胚乳のアミロペクチン構

造の違いやデンプン粒の物性を調べた結果、
1. ジャポニカ型の日本晴、金南風と台中65、インデイカ型のKasalath、IR36とCo13の間には、アミロペクチンの鎖長分布に特有の差異が認められた。即ちアミロペクチンのクラ

スター内部を構成すると考えられるDP値24以下の α -1,4鎖の鎖長分布において、ジャボニカ型のアミロペクチンでは、インディカ型に比べて、DP値10以下の短鎖の割合が多く、逆にDP値12-21のグルカン鎖の割合が少なかった(図2A)^{2), 3)}。

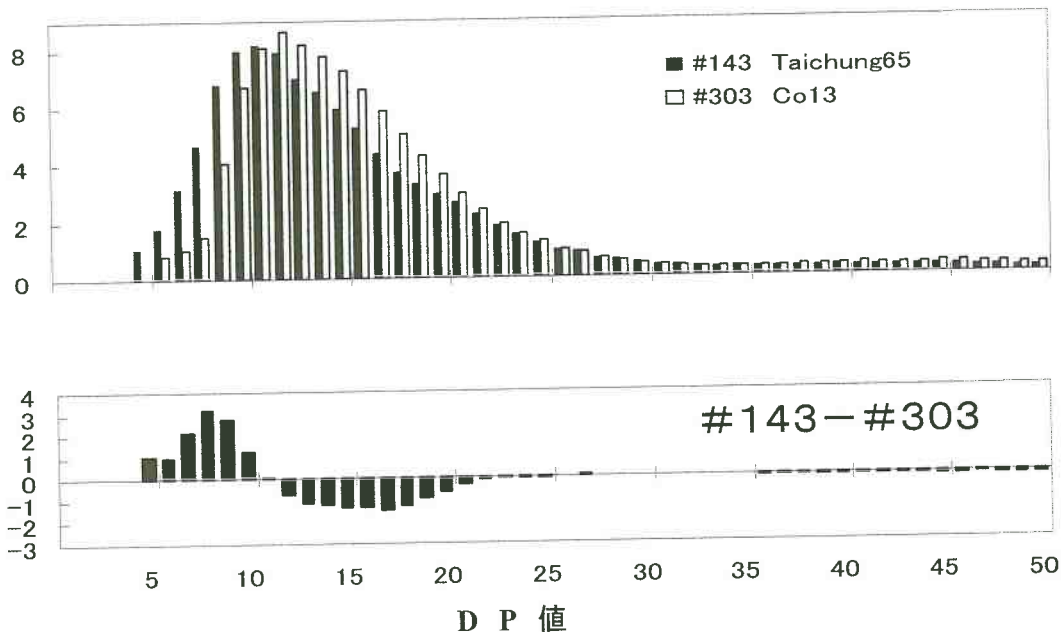
2. 日本晴のデンプンはKasalathに比べて、

アルカリ崩壊性を示し、易糊化性である(尿素液中で測定)ことがわかった²⁾。

上記の結果はジャボニカ米とインディカ米のデンプンの違いがアミロペクチン構造の違いに起因することを示唆するが、こうした相関がイネ品種間でどの程度普遍的であるかを見る必要がある。そこで、アジアで栽培され

(A)

鎖長分布(%)



(B)

イネ品種数

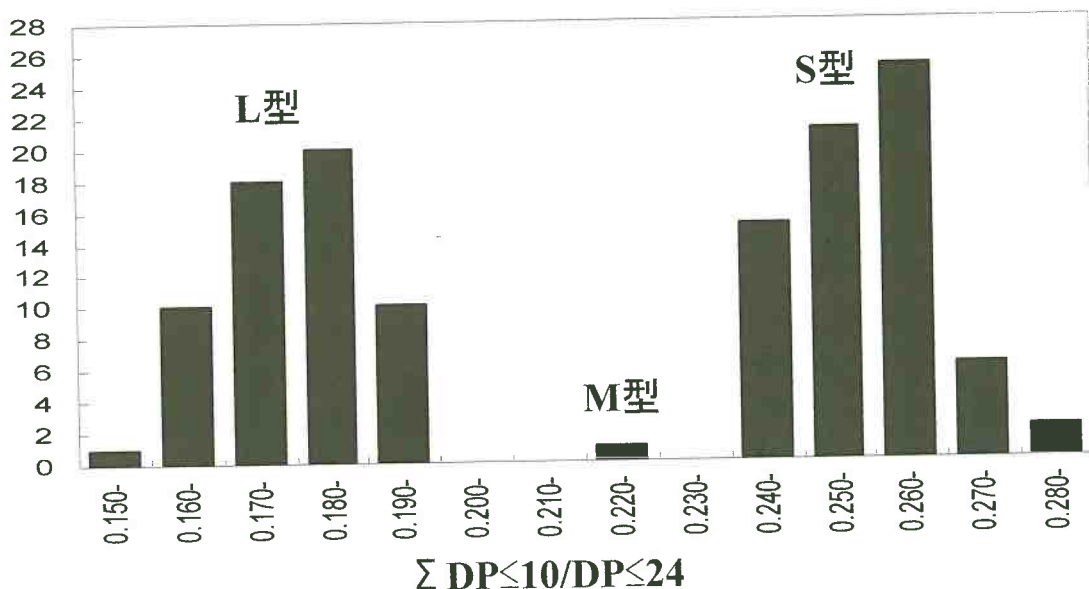


図2 イネ品種間のアミロペクチン構造の差異³⁾

A図は、S型アミロペクチンを持つジャボニカ品種中65とL型アミロペクチンを持つインディカ品種Co13の α -1,4鎖長分布を比較。Bでは、アミロペクチン鎖長分布の特徴を、クラスター構成鎖(DP値24以下の鎖)に対するDP値10以下の短鎖の割合(存在比)をモル比で表し、129品種のイネを分類した。値が15-20%のものをL型、24-29%のものをS型、その中間のものをM型と分類した。

ている温帯ジャポニカ、熱帯ジャポニカ、印度型インディカ、中国型インディカに属する129品種について、アミロペクチン構造、アミロース含量を調べ、胚乳デンプンの性質(熱糊化性)との関連を解析した³⁾。

その結果、ほとんど全ての品種のアミロペクチンは、クラスターの側鎖が十分長いL型か、短いS型のいずれかに分類され、その中間型(M型)を示したのはわずか1品種であった(図2B)。

日本人が食べている温帯ジャポニカに属する米は、調査した47品種全てがS型アミロペクチンを持ち、一方インディカ米の多くはL型アミロペクチンを持っていた。また、アミロペクチンの分子構造とデンプンの熱糊化特性の間には強い相関があり、S型ほど糊化し易かった(図3左)。一方、アミロース含量の変動は連続的であり、熱糊化特性との関係も明確な相関が認められなかった(図3右)。

以上の結果をまとめると、ジャポニカ型イネに多いS型アミロペクチンは、インディカ型イネに多いL型に比べ、クラスターを構成

するグルカン鎖の鎖長が短いために、グルカン鎖同士の二重らせん形成力が弱く、デンプンが糊化し易くなると考えられた(図4)。

3. 日印イネ品種のデンプン特性を決定している遺伝子要因の解明

日本晴(ジャポニカイネ)、Kasalath(インディカイネ)の戻し交雑後代自殖系統(BIL)98系統について、アミロペクチンの鎖長分布・アルカリ崩壊性・尿素糊化性を調べ、それらの遺伝子座をマッピングしたところ、いずれも第6染色体の同じ位置に座乗する遺伝子(同一遺伝子)であることがわかった⁴⁾。同様に、デンプン合成関与遺伝子のESTクローンについても、RFLPマッピングした。その結果、SSIIa遺伝子が上記遺伝子と同位置にマッピングされ、他の酵素遺伝子は全て異なる位置にマッピングされた⁴⁾。

こうした事実から、SSIIaは、クラスターのクリスタル領域を構成するA鎖およびB鎖を伸長する特異的役割を果たしていると考え

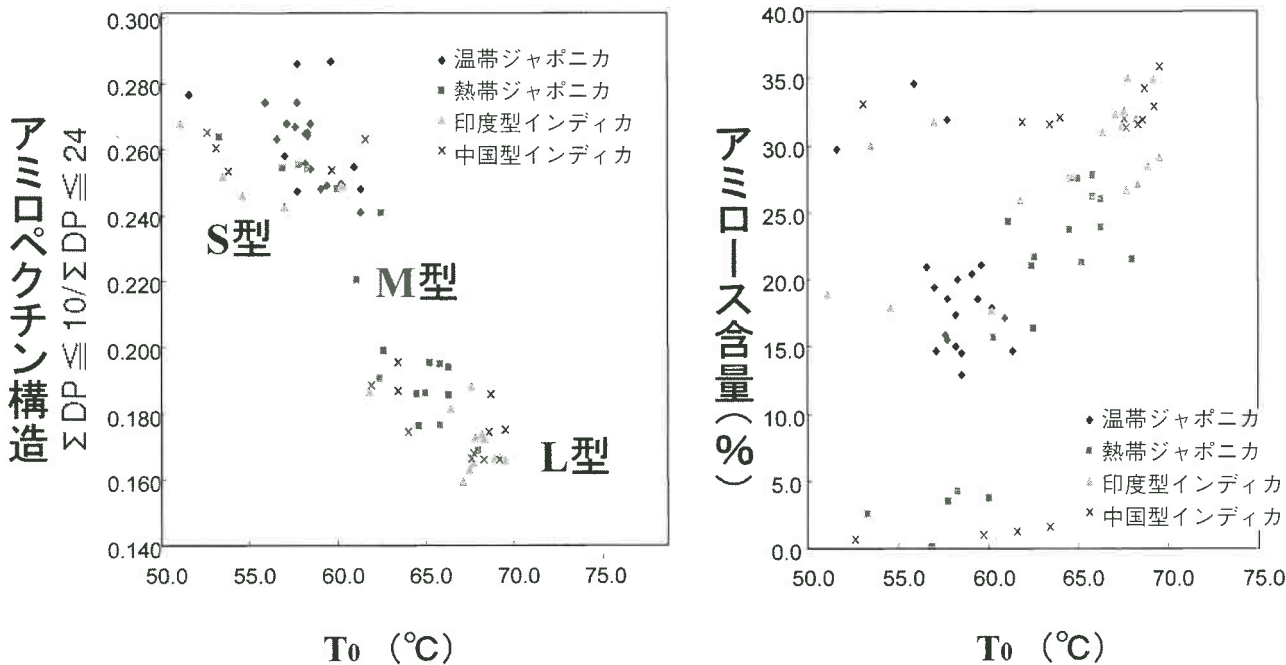


図3 イネのデンプン構造と熱糊化特性(熱糊化開始温度 T_0)との関係

- A. アミロペクチン構造と熱糊化特性との関係。アミロペクチン構造は、図2Bと同様に表した。
- B. アミロース含量と熱糊化特性との関係。

糊化

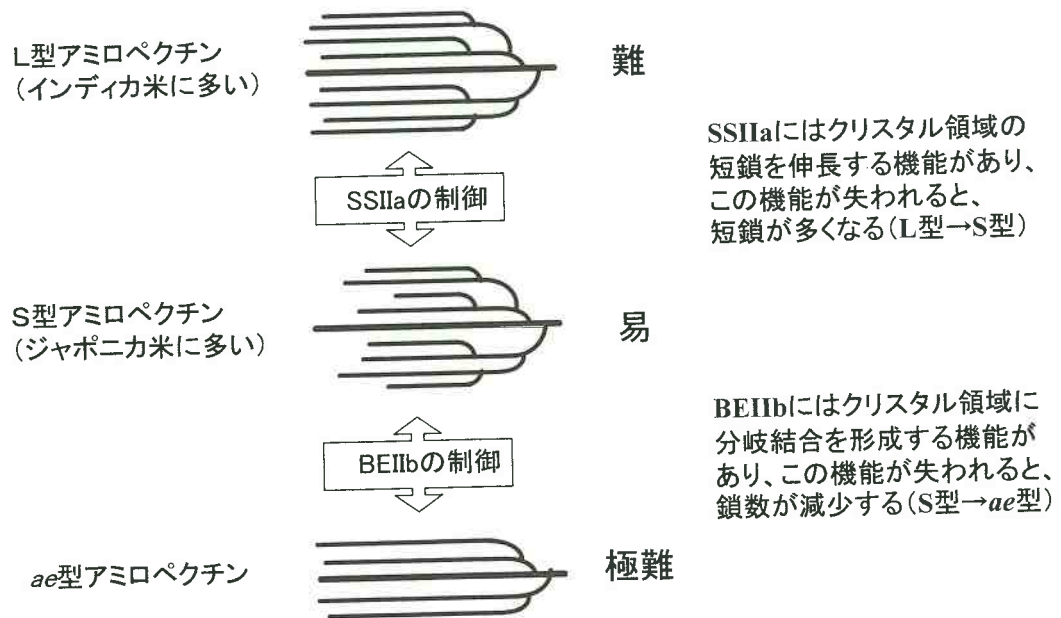


図4 イネアミロペクチン構造の変異

えられ(図1C, 図4), S型アミロペクチンを合成するイネではL型を合成するイネと比較して, SSIIa活性または機能が著しく低下していると思われる(図4)。

さらに筆者の研究室において, S型アミロペクチンを持つ品種にL型アミロペクチンを持つ品種のSSIIa遺伝子を導入した形質転換イネはL型アミロペクチンを合成することが示され, 上記の考えが証明された(未発表)。

4. コメの物性を左右するアミロペクチンの側鎖構造と原因遺伝子

以上述べてきたように, ジャポニカ米とインディカ米という日本人ならば誰でも知っているコメデンプンの違いが実は, デンプン合成に関わるSSIIa遺伝子の働きに起因するアミロペクチンの分子構造の違いによることがほぼ明らかになった。

しかし, アミロペクチンのクラスター構造の変異がデンプン物性に与える影響は上記のパターンに限らない。BEIIb遺伝子が欠損した変異体は, amylose-extender (ae) と呼ばれているが, 西ら⁵⁾は, クラスターの短鎖を

形成するBEIIbの特異的な機能が失われたaeアミロペクチンは, 構成鎖数は少ないながら, 鎖長の長いクラスターから構成されるため, aeデンプンは顕著な難糊化性を示すことを明らかにした(図4)。注目すべきことは, このクラスター構造の変異のパターンは, SSIIa遺伝子を介した変異のパターンとは明確に異なることである(図4)。このように, クラスター構造の変異は極めて多様であり, デンプンが示す固有の物性・品質のポテンシャルは無限であるともいえよう。

文 献

- 1) Nakamura Y. (2002) Plant Cell Physiol. 43: 718-725.
- 2) Umemoto, T. et al. (1999) Starch 51: 58-62.
- 3) Nakamura, Y. et al. (2002) Starch 54: 117-131.
- 4) Umemoto, T. et al. (2002) Theor. Appl. Genet. 104: 1-8.
- 5) Nishi, A. et al. (2001) Plant Physiol. 127: 459-472.

◀国内情報▶

珪藻に感染する新奇ウイルスの発見

独立行政法人 水産総合研究センター
 瀬戸内海区水産研究所 赤潮環境部 赤潮生物研究室
 長 崎 慶 三

ノリ漁場に発生した珪藻赤潮により栄養塩が過剰に摂取された場合、「ノリの色落ち」と呼ばれるノリ葉体の黄変被害が発生する。筆者らは昨年、赤潮原因珪藻の一種を宿主とするウイルスの分離培養に世界で初めて成功し、珪藻類の動態（量的推移・優占種の遷移など）にウイルス感染が影響している可能性を示した。この発見を出発点として、天然ウイルスを利用した有害珪藻赤潮制御技術の開発研究が始まろうとしている。

1. 珪藻赤潮によるノリの色落ち被害

ノリは海藻の一種であり、海水中の窒素やリンなどの栄養塩（陸上植物の肥料成分に相当）を吸収して生育する。しかし、ノリ養殖漁場に珪藻赤潮が発生し、窒素やリンなどの栄養塩が珪藻類により過剰に摂取された場合、ノリの栄養状態が悪化し、いわゆる「色落ち」と呼ばれる黄変状態を呈する現象が発生する。

平成12年度に有明海で発生したノリ色落ち被害のニュースは、2年余を経過した現在でも記憶に新しい。マスコミ報道によれば、福岡・佐賀・長崎・熊本の4県における平成12年度のノリ生産額は272億円と、前年度の生産額408億円に比して約136億円の減少を示し、本件は赤潮による水産被害としては史上最大規模のものとなった。

例年、有明海では冬季から春季にかけて珪藻赤潮が発生し、ノリの色落ちとともにノリ養殖は終期を迎えるのが通例である。しかしながら平成12年度には、平年より2カ月以上も早く12月から珪藻の大量増殖が起き、ノリが必要とする栄養分が珪藻に先取りされたためノリ色落ち被害に繋がったとの推測がなされている。色落ちにより黄変したノリは、黒々とした光沢を放つ健全なノリとは見た目もほど遠く、味も悪いため、著しい単価の下落・生産額の激減をもたらす結果となった¹⁾。

NAGASAKI Keizo

〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5

ノリ色落ち被害の発生は有明海だけにとどまらない。兵庫県においても、平成8年度、11～13年度にノリ色落ちによる大被害が発生しており、ノリ養殖の振興を図る上で、ノリ色落ち現象は避けて通ることのできない重要な問題となっている。しかしながら、ノリ色落ち被害を防止するための具体的な方策は未だ確立されていないのが現状である。

平成12年度に有明海でノリ色落ち被害をもたらした珪藻赤潮の優占種は、*Rhizosolenia imbricata*と呼ばれる珪藻であった。福岡県水産海洋技術センター有明海研究所 尾田成幸主任技師らのデータによれば、これ以外にも近縁の*Rhizosolenia setigera*, *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros*属等、数種の珪藻類が混在していたことが確認されている。このように、各地の沿岸域で冬季に発生する珪藻赤潮は、通常複数の種類の珪藻類が混在するいわゆる混合赤潮であるケースが多い。とはいえ、ノリ色落ち被害の発生時期に優占する珪藻の種類は比較的限られており、これまでに蓄積されたデータによれば、比較的大型の珪藻類である*Coscinodiscus wailesii*, *Eucampia zodiacus*, ならびに*Rhizosolenia*属等が色落ちを引き起こす主犯格として疑われている。

2. 珪藻ウイルスの発見・分離

平成14年4月、独立行政法人水産総合研究

センター 瀬戸内海区水産研究所 赤潮環境部 赤潮生物研究室と株式会社エス・ディー・エス バイオテック つくば研究所 新規製品創製グループの共同研究チームは、有明海佐賀県海域大浦港沖で採取した試水より、赤潮原因珪藻の一種である*R. setigera* (図1A)に感染し死滅させる新奇ウイルス「RsV」を分離培養することに成功した(図1B)。海産植物プランクトンを宿主とするウイルスの発見・分離は、これまでに約十数例が報告されているが、その中で珪藻類を宿主とするウイルスの発見ならびに分離培養系の確立は、いずれも世界で初めての事例である。この発見は、藻類の中の重要なグループである珪藻類の動態(量的推移・優占種の遷移など)にウイルスが影響している可能性を示すものと考えられる。

今回分離されたウイルスRsVは、珪藻*R. setigera*に対してきわめて選択的に感染し、宿主細胞内で約4~5日間のうちに14,000倍程度に増殖する。宿主細胞の崩壊とともに、増殖した子孫ウイルスは環境中に放出され、まだ感染を受けていない*R. setigera*細胞に感染し、再び細胞質内で増殖してこれを死滅させる。その結果、実験系においては、ウイルス接種を受けた黄緑色の*R. setigera*培養液は著しい退色を示し、時間の経過とともに白濁した懸濁液と化す。こうしたプロセスを経て、通常の培養条件下では、RsVは1mlあたり最高で約3億~4億個まで増殖する。

RsVは、直径約24nm(1nm=百万分の1mm)の小型正二十面体ウイルスであり、一本鎖RNAゲノムを持つ。その宿主特異性はきわめて高く、室内培養実験により*R. setigera*以外の海産微細藻類30種に対して全く影響しないことが確認された。とくに、近縁種である*R. imbricata*に対しても影響はみられなかった。すなわち、RsVは*R. setigera*に対してきわめて特異的かつ効率的に作用する天然の致死因子であると理解することができる。

3. 赤潮対策研究の現状と方向性

有害赤潮の原因となるプランクトン種は多様であり、プランクトンの種類によって被害を受ける水産生物の種類も異なる。赤潮に対する具体的な方策としては、赤潮発生時の餌止め、養殖筏・生け簀の清澄な海域への移送、ならびに多孔質粘土の現場散布(鹿児島・熊本・韓国、主に*Cochlonidium*赤潮向け)等が行われている。しかしながら、しばしば数十億円規模あるいはそれを上回る漁業被害が発生し、赤潮に対する具体的な対策の構築が望まれて久しい。

こうした背景の下、赤潮原因プランクトンを宿主とするウイルスを用いた「環境にやさしい赤潮防除技術」の開発を目指した研究が進められている。独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所赤潮環境部を中心とした研究グループでは、本稿で紹介したRsVを含め4種類のウイルスを保有しており、これらをうまく利用して赤潮防除を行うための基礎研究および応用研究を推進している(表1)²⁾。とくにRsVやHcSVのように高い安定保存性を持つウイルスについては、養殖現場環境中に常在させることで、標的プランクトン種が発生しづらい環境を作り出すことができるのではないかと期待される。

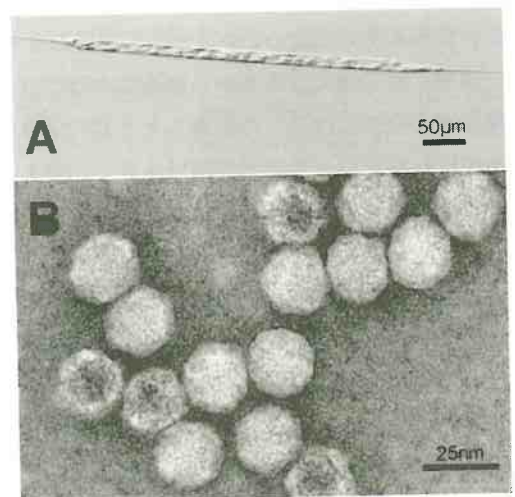


図1 (A): 赤潮原因珪藻*Rhizosolenia setigera*の光学顕微鏡写、(B): 新奇ウイルスRsVの電子顕微鏡写真

表1 筆者らが分離培養に成功した「赤潮プランクトンを宿主とするウイルス」

ウイルス	RsV	HaV	HcV	HcSV
宿主生物	<i>Rhizosolenia setigera</i> (珪藻)	<i>Heterosigma akashiwo</i> (ラフィド藻)	<i>Heterocapsa circularisquama</i> (渦鞭毛藻)	
宿主生物による 水産被害	ノリ色落ち	魚類へい死	貝類へい死	
宿主生物による 代表的被害例	有明海(H12), 生産額約 136 億円 減少(前年度比)	鹿児島湾(H7), カンパチへい死, 被害額約 10 億円	広島湾(H10), カキへい死, 被害額約 39 億円	
直径	24 nm	202 nm	197 nm	30 nm
形状	正二十面体	正二十面体	正二十面体	正二十面体
増殖部位	細胞質	細胞質	細胞質	細胞質
保存性	高い	やや低い	やや低い	高い
バーストサイズ	14,000	770	2,000	~43,000
潜伏時間	4~5 日	1~2 日	2~3 日	1~2 日

今回のRsVの発見により、天然環境中に存在する珪藻類がウイルスによる攻撃に晒されている可能性はきわめて高いと推察された。筆者らはまだ、その第一の扉を開いた段階にあり、今後、本ウイルスに関する生理、生態、および分子生物学的研究を集約的に推進していくとともに、現場環境中の珪藻類の動態にウイルスがどの程度の影響を与えているかを明らかにしていく必要がある。また、複数種のプランクトンが混在する珪藻赤潮を制御するためには、新奇珪藻ウイルスの網羅・探索を行うための体制作りが重要である。さらに効率的かつ合理的な現場適用を図る上では、ウイルス製剤デザインの最適化に加え、その安全性精査も必要不可欠な工程である。

筆者らのこれまでの研究により、ウイルス感染による赤潮の崩壊・消滅は決して特殊なイベントではなく、海洋環境中で普遍的に起きている現象であることが明らかとなってきた。山のものを持ってきて海のものを抑え

ようとするのではなく、そこにもともと存在し機能している生物現象を活用することこそが、環境にやさしい環境制御の基本であると筆者らは考えている。海洋環境中に存在するウイルスという「抗赤潮因子」を上手に利用することで、生態系への影響を最小限に抑えた養殖環境制御の実現が期待される。生物学的な対策ツールとしてのウイルス研究を今後も推進したい。

本稿に紹介した研究内容の一部は、NEDO平成14年度産業技術研究助成事業の一環として行われた。

文献

- 1) 川村嘉応 (2001), 海苔と養殖, 62, 1-12
- 2) 長崎慶三 (2003), 生命科学 バイオテクノロジーの最前線, 243-259, 東京教育出版センター, 東京

◀国内情報▶

催涙因子合成酵素「LFS」の発見と、 「涙の出ない新しいタマネギ」の開発

ハウス食品株式会社 ソマテックセンター

今井真介・柘植信昭・朝武宗明・永留佳明・澤田 博

催涙因子 (LF) は、タマネギ中の主要含硫化合物 (PRENCISO) がAlliinaseによって分解され、中間体になった後、自動的に生成すると信じられていた。しかし、我々は、催涙因子の生成に必須な酵素を発見し、これを催涙因子合成酵素 (LFS) と命名した。LFSの発現や活性を抑えれば、催涙性は抑制され、独特の匂い成分や生理活性成分の量は多い、高付加価値のタマネギを作り出せる可能性がある。

1. はじめに

タマネギは、世界で年間4,700万t、日本国内でも120万t栽培されている、重要な食用野菜の一つである。タマネギの最大の特徴は、切ったり、おろしたりした時に発生する独特の匂いと催涙性であるが、催涙因子 (Lachrymatory Factor : LF) は、その強い刺激性ゆえに、調理者に苦痛を与えている。そこで、LF発生量が少ない、涙の出ないタマネギを作出しようという試みが種々なされてきた。

LFは、図1に示す様に1-propenyl-L-cysteine sulfoxide (PRENCISO) と呼ばれる含硫化合物が、Alliinaseによる分解を受けて不安定な中間体 (1-propenyl sulfenic acid : PSA) に変化した後、非酵素的に誘導されると考えられていた¹⁾。そこで、PRENCISO含量の少ない品種を選び、これを硫黄の施肥量を制限した条件で栽培する事によって、タマネギ中のPRENCISOをさらに減少させる方法や、遺伝子工学的な手法を用いてAlliinaseの発現量や活性量を制限する方法などが、「涙の出ないタマネギ」の作出手段として取られている。しかし、PRENCISOやAlliinaseは、タマネギ独特の匂い成分の生成にも必須であるため、上記の様な方法で作出したタマネギ

IMAI Shinsuke, TSUGE Nobuaki,

TOMOTAKE Muneaki, NAGATOME Yoshiaki,

SAWADA Hiroshi

〒284-0033 四街道市鷹の台1-4

では、この独特の匂いも弱くなってしまおうという問題がある。

最近になって我々は、「常温下において、PSAからLFが非酵素的に生成する」という通説は誤りで、この反応には、新しい酵素の存在が不可欠であることを明らかにし、これを催涙因子合成酵素 (Lachrymatory factor synthase : LFS) と命名した。この発見によって、タマネギの独特の匂いを犠牲にすることなく、LFの発生だけを抑えた「催涙性抑制タマネギ」を開発することも夢ではなくなった。本稿では、LFS発見の経緯も含めて我々の研究の概要を説明したい。

2. LFS発見のきっかけ

我々は、タマネギとニンニクのペーストを混合した時に生じる緑変現象²⁾を研究する中で、偶然LFSの存在に気付いた。緑変現象には、タマネギ中のPRENCISOとニンニク中のAlliin (ACSO)、これらを分解する酵素Alliinaseとアミノ酸の合計4成分が関与するが、解明した反応機構によれば、一定量のPRENCISO, ACSO, アミノ酸に一定量の活性を持つAlliinaseを加えると、Alliinaseの由来にかかわらず同じ量の色素が誘導されると考えられた³⁾。しかし、実験を行ってみると、ニンニク由来の粗精製Alliinaseを使う方が、同じ量のタマネギ由来の粗精製Alliinaseを使うより、常に多くの色素が誘導された。

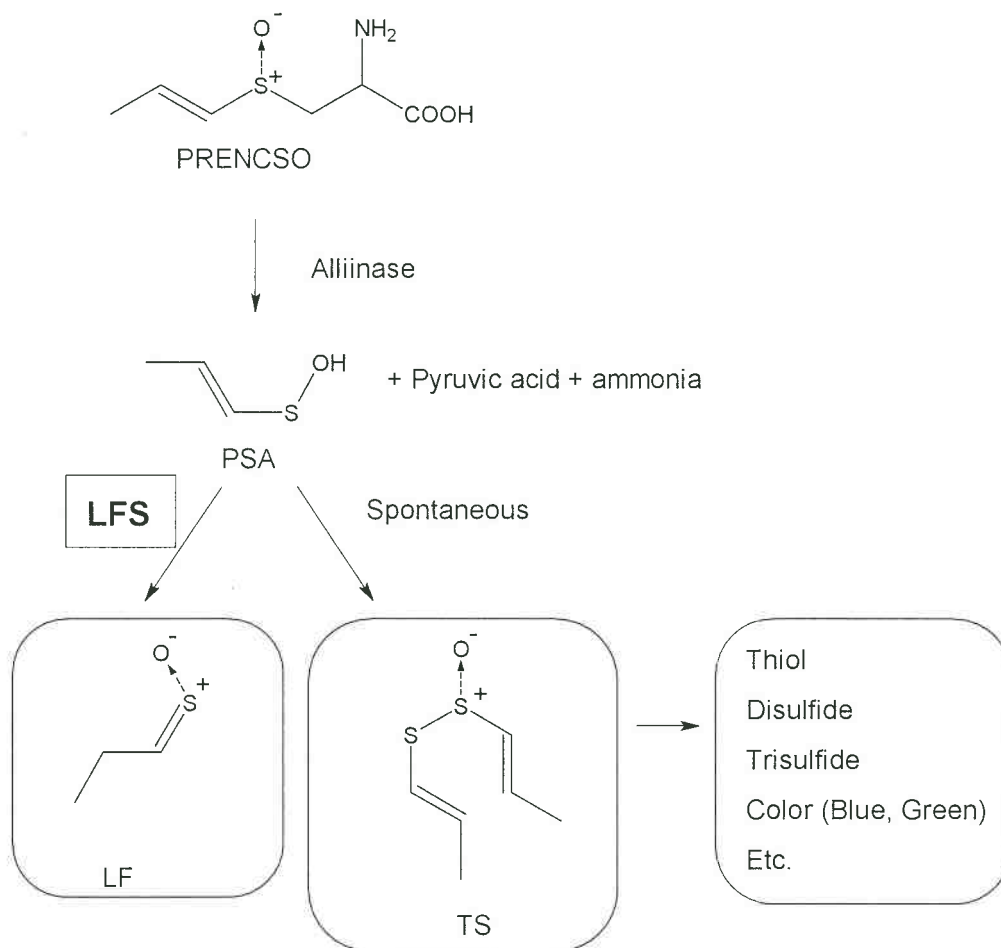


図1 タマネギを切断・破碎した時に起きる化学反応

PRENCISOがAlliinaseで分解されPSAになった後、PSAからLFとTSができる。従来は、LFもTSもPSAから非酵素的に生成すると考えられていたが、新たにLFの発生にはLFSが必要であることが解った。LFの発生量が減少すると、逆にTS量は増加する。TSやTSを経由して生成する成分には、匂いや生理活性を持つものが多い。

PRENCISOは、Alliinaseで分解されてPSAになった後、LFかthiosulfinate (TS)に変化すること、緑変色素や独特の匂い成分は、LFではなくTSを経由して誘導されることは既に判明していた(図1)。そこで、色素量が違った原因は、PRENCISOをAlliinaseで処理した時に生成するTS量の違いに由来すると推測し、この推測が正しいことを確認した(図2)。

一定量のPRENCISOをalliinaseで分解した時に生成するTS量が異なるということは、PSAから生成するもう一方の化合物であるLF量も違うはずである。そこで我々は、LF生成量を測定することにした。この実験が、LFSを発見するきっかけになった。

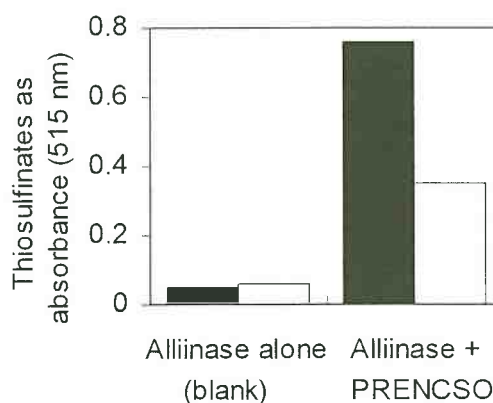


図2 粗精製Alliinaseの由来とTS生成量の違い

PRENCISOをタマネギとニンニクの粗精製アリイナーゼで、それぞれ分解し、生成したTSの量をN-エチルマレイミド法で定量した。ニンニクの粗精製アリイナーゼで処理した場合の方が、TSの発生量が多かった。

■：ニンニクアリイナーゼ
□：タマネギアリイナーゼ

3. LFSの存在証明と精製

PRENCISOに、粗精製のニンニクAlliinaseまたは、粗精製のタマネギAlliinaseを作用させ、生成するLFをHPLCで定量した所、後者からはLFが検出されたのに対し、前者からはLFがまったく検出されなかった(図3)。PSAからLFが非酵素的に生成するという、これまでの説では、この実験結果を説明できない。そこで、粗精製のタマネギAlliinase溶液中には、LFの生成に必須の未知成分が含まれていると考えて、この未知成分の特定を試みた。

未知成分の特定に当たり、まず、LFを生成させる活性評価法を考案した。この評価方法は、単独ではPRENCISOからLFを生成しないニンニクalliinase(精製品)と検定サンプルを混合した後、PRENCISOを加えて室温で3分間反応させ、生成したLFをHPLCで定量するというものであり、定量性と再現性に優れていた。このLF生成活性を指標にして、各種カラムクロマトグラフィーにより、粗精製のタマネギアリイナーゼ溶液から、3種類の活性成分を単離した。また、これら活性成分が、分子量17,000~18,000の蛋白質であることを、アミノ酸分析とTOF MS分析により確認した。我々は、3つの活性成分を分子

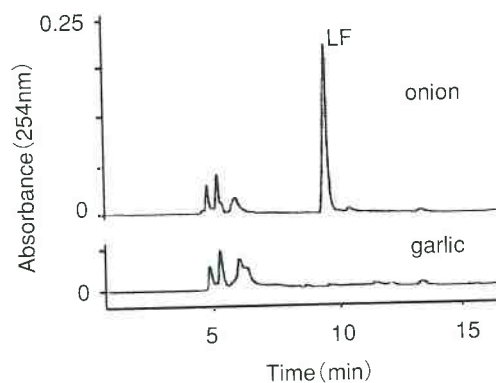


図3 粗精製Alliinaseの由来とLF生成量の違い

PRENCISOをタマネギとニンニクの粗精製アリイナーゼで、それぞれ分解し、生成したLFの量をHPLCで定量した。ニンニクの粗精製アリイナーゼでは、LFが検出されなかった。

量の小さい方から順にLFS-1, LFS-2, LFS-3と命名した。

4. LFSの構造解析

LF生成活性の評価系における活性の至適pHは、4.5~5.0、至適温度は15℃~25℃であり、3種類の活性成分間に大きな特性の違いはなかった。また、N末端アミノ酸分析の結果から、3種類のLFSは、N末端のアミノ酸の長さだけが異なる構造類似の酵素である可能性が高いと推測された。

そこで我々は、LFSのアミノ酸配列を解析する目的で、LFS遺伝子のクローニングを試みた。タマネギの鱗片からmRNAを抽出し、RT PCRでcDNAを合成した後、LFS-1のN末端アミノ酸配列に基づいたdegenerateプライマーを用いて3' RACE (rapid amplification of complementary DNA ends)を行い、LFS-1のcDNAを得た。さらに、5'側の非翻訳領域の配列は、5' RACEで解析した。単離したcDNA (GenBank accession No.AB089203)は、737 base pairsで169個のアミノ酸をコードしており、その配列中には、3種のLFSのN末端アミノ酸配列が全て含まれていた。3種のLFSの推定アミノ酸配列から計算される分子量が、それぞれをTOF MSで測定した分子量とよく一致したことから、LFSは単純蛋白質であると推測された。以上のことから、LFSをコードする遺伝子は1種類で、3つのアイソザイムは、翻訳後にN末端から取り除かれるアミノ酸残基の数が、わずかず異なることによって生じていることがわかった。

LFSのアミノ酸配列は、既知の蛋白質に対するホモロジーが低かった。このことは、LFSが構造的にも新規な蛋白質であることを示している。なお、タマネギの近縁種には、ネギ、リーキ、ラッキョウなど催涙性を持つものがあるが、これらの植物にも、LFS活性があることや、それらに含まれるLFS蛋白質が、タマネギのLFSと高いホモロジーを持つことを既に確認している。

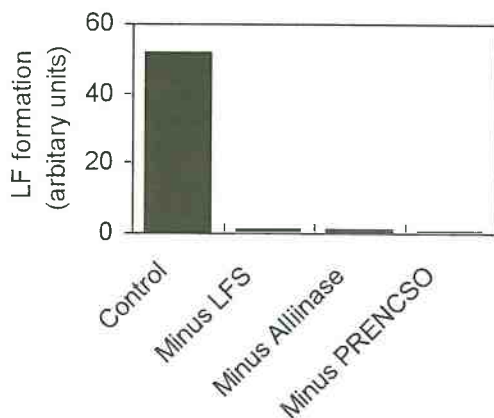


図4 LFの生成に関与する成分

LFの生成には、LFSとAlliinaseとPRENCISOの3成分が必要。このうちのどれか一つでも欠けるとLFは生成しなくなる。

5. 組換えLFSの作成とLF生成活性の評価

我々がクローニングしたcDNAが、LF生成活性を持つ蛋白質をコードしていることを確認するため、LFS-3遺伝子をGSTの融合蛋白質として発現させた。その結果、得られた融合蛋白質にはLF生成活性があることが確認できた。また、GST部分を除去した組換えLFS-3蛋白質について比活性を測定した結果、タマネギから精製したLFS-3と同等であることも確認できた。

組換え体のLFS-3と精製Alliinase、および精製したPRENCISOの3者を混合すると、LFが生成するが、この3成分のうちどれか1成分でも欠けると、LFは生成しなくなった⁴⁾(図4)。次に、この3成分の反応順序を明らかにするため、限外ろ過膜を使用した実験を行った結果、PRENCISOがAlliinaseによって分解されて生じた、分子量5,000以下の成分にLFSは作用することが確かめられた。さらに、PRENCISOとAlliinaseを反応させてから、LFSを作用させるまでの時間を長くすると、LFの生成量が減少した。これらの結果から、LFSの基質は、反応性が高く、不安定で残存時間の短いPSAであることが強く示唆された。

6. 今後の展開

我々の研究によって、タマネギのLFが、PRENCISOのAlliinase分解産物であるPSAから酵素的に生じていることが明らかになった。従って、LFSの発現や活性を抑制することで、催涙性が抑制された、いわゆる「涙の出ないタマネギ」を作出できる可能性が高まった。「涙の出ないタマネギ」を作出しようとした試みは、これまでも数多く行われていたが、従来からの作出方法では、タマネギらしい独特の匂いが犠牲になっていた。これに対し、LFSの発現や活性を抑制する方法では、PSAからLFへの変換が減少する分、PSAの非酵素的縮合産物であるTSが増加すると考えられる。TSは新鮮なタマネギの匂いの主要成分であり、TSから誘導されるdisulfideやtrisulfideは、調理されたタマネギの匂い成分であると報告されている。従って、タマネギらしい独特の匂いは、通常のタマネギより、涙の出ないタマネギの方が強くなるはずである。さらに、Disulfideは、コレステロールや脂質の合成に関わる酵素に作用して脂質低下効果を示すこと、trisulfideには、強力な血小板凝集抑制作用があることが報告されている⁵⁾。今後は、LFSの発現や活性を制御することで、催涙性の抑制と、独特の匂い成分や生理活性成分量の増大を実現した、高付加価値タマネギの作出が進むものと期待される。

文献

- 1) Block, E. et al (1979), *J. Am. Chem. Soc.* 101, 2200-2201.
- 2) Yamaguchi, M. et al (1965), *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 86, 475-483.
- 3) Imai, S. et al (1996), *IFT Annual Meeting: Book of Abstracts*, 93
- 4) Imai, S. et al (2002), *Nature*, 419, 685
- 5) Lancaster, J. E. et al (1990), *Onion and Allied Crops Volume 3*, 93-108, CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA.

◀国内情報▶

細断型ロールベアラの開発

生物系特定産業技術研究推進機構 畜産工学研究部 飼料生産工学研究

志 藤 博 克

これまで5～6名を必要としていた飼料用トウモロコシの収穫調製作業を2名で省力的かつ能率的に行える細断型ロールベアラと細断バール対応バールラップを開発した。細断型ロールベアラは、1cm前後に細断されたトウモロコシを直径約85cm、質量300kg前後、乾物密度約200kg/m³の高密度なロールベールに成形できる。成形時に発生するロスが2%程度である。細断バール対応バールラップは、崩れやすい細断ロールベールをロス1%未満で拾い上げ密封することができる。

1. はじめに

飼料用トウモロコシは、単位面積あたりに得られるTDN（消化可能な栄養分総量）がイネ科を主体とした混播牧草の2.3倍であり¹⁾、また密封貯蔵したサイレージの発酵品質も高い²⁾ことから主要な飼料の一つとして位置づけられている。しかし、平成元年では126,000haあった作付面積が平成13年では91,300haと34,700haも減少した³⁾。その理由については様々な角度から推察されているが、中でも作業面に着目すると、収穫・調製作業の労働負荷が重いこと、人手の確保が困難であること、作業者の高齢化が著しいこと等があげられる。

飼料用トウモロコシの収穫・調製は、フォレージハーベスタに伴走するワゴンまたはダンプカーが荷受けしてサイロまで往復運搬し、ホイールローダ等を用いてサイロに詰めるという作業を5～6名以上が一組となつて行うのが一般的である。大規模圃場においては、大型機械を導入することにより、収穫から調製まで比較的短時間で効率的に作業を行うことができる。しかし、都府県に多く見られるような圃場区画が狭く分散している圃場においては、総作業時間に占める回行や圃場間移動にかかる時間の割合が増え、作業効率

は低下せざるを得ない。農道や圃場への出入り口が狭いことから大型機械の導入が不可能な場合も多い。実際、都府県の収穫調製作業の所要時間は、北海道の約2.8倍となっている⁴⁾。また、都府県において中核を成す中規模以下の酪農家にとっては、炎天下で行われることも多いサイロ詰め作業等の多くを人手に頼らざるを得ない場合も少なくない。さらに、農家の高齢化と人手不足が深刻化する状況においては現行の作業体系でのトウモロコシの収穫調製は非常に困難な状態となつてきている。こういったことから、飼料用トウモロコシの収穫調製作業の省力化と省人化が特に都府県において急務とされている。一方、牧草の収穫調製作業については、ロールベアラとバールラップによる作業体系が急速に普及し、作業員1～2名での作業が可能となり、サイロ詰めの重労働からも解放され、大幅な省力化及び省人化が達成されてきた。このロールベアラとバールラップによる作業体系がトウモロコシの収穫調製にも応用できないかとのかねてからの要望に応えるために、生研機構ではトウモロコシの細断収穫に対応した細断型ロールベアラ（以下、細断型ベアラ）及び細断バール対応バールラップ（以下、対応ラップ）の開発に取り組んできた^{6,7)}。

SHITO Hirokatsu

〒331-8537 さいたま市日進町1-40-2

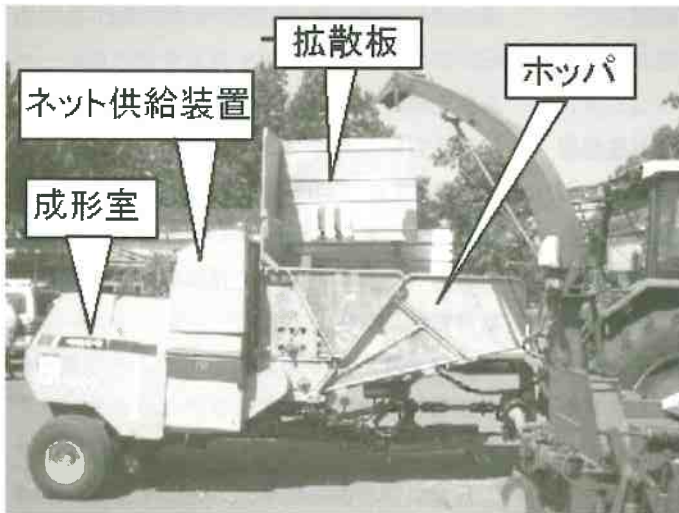


図1 細断型ベアラ



図2 対応ラッパ

2. 細断型ベアラと対応ラッパの構造

細断型ベアラ（図1）は、トラクタけん引式の作業機で、ハーベスタからの細断材料をホッパで荷受けし、ホッパ底部の供給コンベアで細断材料を成形室へ供給し、成形室で円柱形に高密度成形する。その後、ネットで外周を結束し、直径約85cm、幅約90cm、質量300kg前後のロールベール（以下、細断ベール）として放出する。なお、牧草を拾い上げるためのピックアップ装置はない。細断されたトウモロコシは牧草のようにお互いに絡み合っただけでロールベールとしての成形性を保つことが期待できないため、ロールベール化は困

難であるとされていた。そこで、細断材料を高密度に成形するとともに、ネットで結束することによりロールベール形状を保持することをねらった。高密度に成形するためには成形室からの細断材料のこぼれを防止する必要があったため、成形室を構成するパーチェーンの構造を、従来のタイトバーよりも大径のパイプを楕円形断面に加工して、隙間を詰めて並べた方式とした。また、放出後の細断ベールの成形性を維持するため、細断ベールの幅よりも広い1.2m幅のネットを用いることにより、最も崩れやすい細断ベールの円周端部を包み込み、放出時の衝撃から保護することとした。この方式により、細断ベールは乾物密度約200kg/m³の高密度を保持し、放出時に生じるロスを2%以下に抑えることができた。また、ハー

ベスタから吹き込まれた細断材料は、ホッパ内の片側に偏ることが多く、ロールベール形状が不均等となり、放出時ロスの増大の原因となる。そのため、拡散板をホッパ上部に設け、細断材料が成形室左右に均一に供給されるようにした。

対応ラッパは、トラクタ半直装式の作業機で、細断ベールを自載アームにより崩さずに積載し、速やかに密封調整することができる（図2）。細断ベールの積載・密封時に生じるロスは1%未満であった。なお、従来の牧草で作られたロールベールにも、直径80～100cmのサイズであれば利用可能である。

3. 細断型ベアラと対応ラッパによる収穫調製作業

細断型ベアラと対応ラッパによる収穫調製作業方法は3通りある。1つは、農家手持ちのフォレージハーベスタを装着したトラクタの後方に細断型ベアラをけん引して作業するワンマン収穫作業である。自載式ラッパと組み合わせて2名で収穫と調製を行うことができるうえに、細断型ベアラは、ネット結束及びロールベール放出のために収穫作業を中断することなく、ノンストップで作業できるため、高能率な作業が可能である。ちなみに、62.5kW(85PS)の四輪駆動トラクタに2条刈ハーベスタを装着した場合の細断型ベアラの作業能率は約24a/h、所要動力はハーベスタの大きさによらず約15kW(20PS)であった。対応ラッパのベール処理量は約20個/h(約13a/hに相当)であった。2つめは、枕地処理時などの場合に圃場の隅等に定置し、ローダーバケット等から細断材料を荷受けしてロール成形を行う定置式利用である。ホッパにローダーバケット一杯分の細断物を積載することが可能で、これで細断ベールを2個連続して作ることができる。3つめは、ハー

ベスタに併走して作業を行う伴走作業である。この方法は、使用するトラクタにハーベスタと細断型ベアラの両方を駆動するだけの機関出力がなく、ワンマン作業が困難な場合でも、22kW(30PS)クラスの小型トラクタがもう一台あれば作業が可能となる。図3に細断型ベアラと対応ラッパによる作業体系図を示す。

なお、ユニット型フォレージハーベスタを用いた場合、ロックロップアタッチメントからピックアップアタッチメントへ付け替えることにより、予乾牧草にも対応することが可能である。

4. 細断型ベアラ作業体系の利点

細断型ベアラと対応ベールラッパによる作業体系は、収穫調製作業の大幅な省人化・省力化を図ることを可能とした。特に、人手によるサイロ詰め作業を要さないことが大きな利点と言えよう。また、細断ベールを密封さえすれば品質低下の心配がなくなるため、急な雨に遭遇しても慌ててサイロ詰め作業を行う必要がなくなるうえに、他の作業の都合に応じた作業スケジュールをたてることも可能

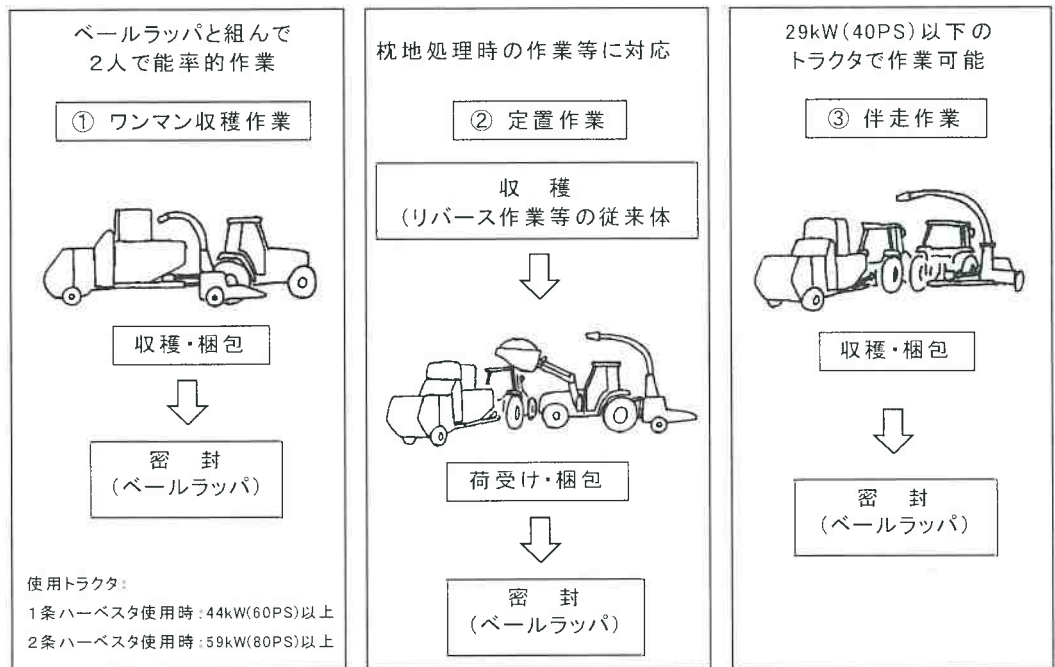


図3 細断型ベアラと対応ラッパによる作業体系

になる。圃場からサイロまでの距離が長い場合、従来の作業体系では作業能率の低下が問題となるが、細断型ペーラ体系ならば、それぞれの圃場にラップサイロを置いておき、後日、畜舎付近まで運搬するように作業の分散を図ることもできる。

サイレージの品質面では、これまでのロールベールサイレージのような大きな品質のばらつきはみられず、高密度・高品質で品質が安定しており、密封調製後1年後に開封したサイレージでもV-scoreが100という分析結果も得ている。細断ベールの乾物密度は垂直式サイロに3～5m堆積した時の底部密度に相当する⁷⁾。また、材料が既に細断されているので解体時にほぐしやすいうえに、改めてカッターミキサ等にかける必要がなく、そのままTMRなどの混合給飼にも利用が可能である。給飼量に応じて必要数のラップサイロだけを開封するため、従来の固定式サイロのように何度も開封しているうちに、残りのサイレージが変敗してくるといった問題も解決できる。飼料畑から牛の口に至るまでに生じるロスをこれまでの体系よりも抑えることが期待できる。また、トウモロコシサイレージの流通化も期待できる。

5. おわりに

平成14年度に全国8箇所において機械性能の把握や取扱性についての意見聴取、サイレージ品質の分析等、実用化を目指した現地試験を実施した。平成15年度は10箇所において前述の試験内容に加えて、給与試験、サイレ

ージ生産費のシミュレーション、酪農家からの意見聴取等、広範囲に渡って取り組む予定である。その結果を受けて最終的な市販機に取りまとめることとしており、平成15年度中の市販化を目指している。

さらに、細断型ペーラの適用性拡大のために、トウモロコシの栽培技術の改良にもアプローチしている。4、5日程度といわれているトウモロコシの収穫適期を1週間以上保持できるような品種の選定と栽培方法の検討を独立行政法人畜産草地研究所に委託して進めているところである。

文 献

- 1) 農林水産省農林水産技術会議事務局編 (1995), 1995年版日本標準飼料成分表, 113-170, 中央畜産会, 東京
- 2) 高野信雄ら (1989), 粗飼料・草地ハンドブック, 584-585, 養賢堂, 東京
- 3) 農林水産省統計情報部 (2002), 平成13年度産作物統計, 152-153, 農林統計協会, 東京
- 4) 農林水産省統計情報部 (2001), 農業経営統計調査報告平成12年畜産物生産費, 104-107, 農林統計協会, 東京
- 5) 志藤博克, 山名伸樹 (2002), 農機誌, 64 (4), 96-101
- 6) 志藤博克, 山名伸樹 (2002), 日草誌, 47 (6), 610-614
- 7) 高野信雄ら (1989), 粗飼料・草地ハンドブック, 602, 養賢堂, 東京

◀地域の先端研究▶

新しい肉用アヒル「大阪種」

大阪府立食とみどりの総合技術センター 食品・資源部

出 雲 章 久 ・ 笠 井 浩 司

地鶏の肉質を見直す全国的な動きの中で、新しい肉用アヒル「大阪種」は、従来の「改良大阪アヒル」の雌系に、肉用種（北京種）の雄系を交配して得たF1の雌に、再度肉用種の雄交配を反復して得られた。体格の大型化へ向かった選抜を行い、安定した第12世代を「大阪種」とした。10週目の肥育体重は、「改良大阪アヒル」の1.25倍であり、大型化による体重増加は筋肉の有意な重量増加によるものであった。また、皮下脂肪と腹腔脂肪を併せた全脂肪の体重比は23%で、「改良大阪アヒル」の低脂肪特性をよく保持していた。

1. はじめに

大阪とアヒルとの関わりは古く、豊臣秀吉の時代に飼育を奨励したという記録があると言われているが、大阪でアヒルの飼育が産業として成立したのは明治中期で、当時のアヒル肉は「ひる」の名称で、脂肪に富んだ夏のスタミナ食として親しまれていた。

大阪でのアヒルの研究は、戦後間もない昭和24年に当所の前身である府立種畜場が、府下で飼育されていた白色のアヒルから「大阪アヒル」を作出したことに始まる。昭和30年代後半には飼養羽数20万羽、全国シェア80%を上回るに到った大阪アヒルは、用途の広い卵肉兼用種であったが、アヒルの利用目的が肉の生産にシフトする中でより高い産肉性が求められた。このため、昭和40年に白色大型の米国系北京種を導入・交配して「改良大阪アヒル」を作出し、国産では唯一の実用アヒル、また大阪の名を持つ唯一の家畜として40年代後半まで広く飼育されていた。

しかし、アヒル飼育の目的が、鴨肉や合鴨肉の名称で販売されるアヒル肉の生産に限定されるにつれて、改良大阪アヒルは、イギリスで肉用に改良された大型早熟の北京種（以下肉用種）に取って代わられた。この間の経緯は、鶏肉の生産における地鶏とブロイラー

IZUMO Akihisa, KASAI Koji

〒583-0862 大阪府羽曳野市尺度442

の関係と同じで、鶏に比べて非常に羽毛が抜けにくいという水鳥共通の性質（湯漬け・脱羽後にロウ漬けやピンセット工程が不可欠で人手を必要とする）も、同じ手間でもより多くの肉が得られる大型な肉用アヒルに有利であった。

平成2年から、地鶏の豊かな肉味と低脂肪さを見直す動きが全国的に進む中で、我々は改良大阪アヒルを基にして、消費者の健康志向にマッチする低脂肪さと、経済性を満たす大型さを兼ね備えた新しい肉用アヒルの系統造成を始め、14年秋に「大阪種」の名称で販売を開始した。以下に大阪種とその肉質の特徴について紹介したい。

2. 大阪種の造成

改良大阪アヒルの低い脂肪割合と肉用種の高い体重増加の双方を求めた大阪種の系統造成は、改良大阪アヒルを雌系に、肉用種を雄系にして得られたF1の雌に、再度肉用種の雄を交配して行われた。以後兄弟交配を繰り返しながら、より大型な方向へ選抜を行い、ばらつきを押さえて系統としての斉一性を高め、12世代目を「大阪種」とした。

世代の進行に伴って肥育中期の体重増加が向上し、肥育成績も向上していった（図1）。最終的な10週の肥育体重は改良大阪アヒルに比して約1.25倍の3.3kgとなった。一方、皮

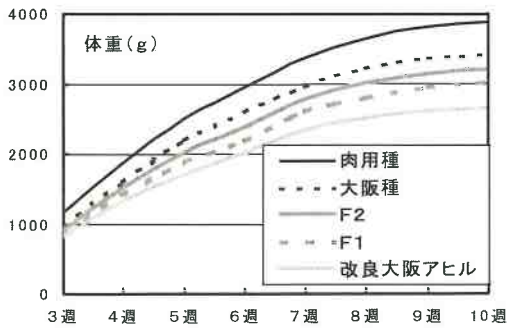


図1 系統造成に伴う肥育成績の変化

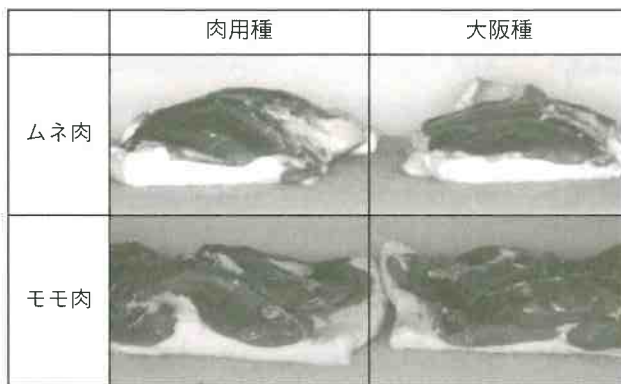


図2 正肉の比較

表1 正肉の量と割合

	大阪種	肉用種
と体重 g	2656.8 ± 265.8	3086.0 ± 316.7
ムネ肉 割合 %	24.9 ± 1.2	27.9 ± 1.7
筋肉 %	60.1 ± 5.1	56.7 ± 5.3
脂肪 %	39.9 ± 4.4	43.3 ± 4.6
モモ肉 割合 %	18.7 ± 1.1	17.7 ± 0.5
筋肉 %	55.5 ± 4.9	50.8 ± 6.3
脂肪 %	44.5 ± 4.6	49.2 ± 4.1

(平均値±標準偏差)

下脂肪と腹腔脂肪を合わせた全脂肪の体重に対する割合は、23%で、肉用種の27%に比較して改良大阪アヒルの低脂肪な特性(22%)が強く残されていた。体重に対する割合は、脂肪で品種間に有意差を認められたが、筋肉では有意差を認めなかった。これは、脂肪は品種によって余分に生産するが、筋肉は体重に対して一定の割合でしか生産されず限界があることを示していた。

浅胸筋(ムネ肉の中心となる筋肉)のサイズを比較すると、改良大阪アヒルと大阪種の間には、筋肉の重量と厚さに有意差が認められ、形状としては肉厚が増加し、体重増加によって重量が増加したことが窺えた。肉質については、保水力や肉色の変化など、肉用種よりもやや高く、改良大阪アヒルよりはやや低い中間の値で推移する結果を得たが、3者の結果は統計的に有意なものではなかった。

大阪種を肥育農家で肥育し、流通業者で解体処理する実証試験を行って、実用化の際にどの程度の正肉が生産されるかを検討した。ここでの肥育は肉用種を肥育している中に5-10%の大阪種を加える形で行われたが、大阪種の低脂肪な特性は肉用種向けの肥育条件下でも強く現れた。図2の写真には最終的に得られたムネ肉とモモ肉を同一部位で切断した結果を示したが、脂肪の厚みは大阪種の方が明らかに薄かった。

表1には、と体重に対する正肉の重量や割合、また正肉中に占める脂肪と赤身(筋肉)の割合を示した。ムネとモモ双方の正肉において、大阪種は脂肪が3-5%少なく赤身は逆に3-5%多くなっており、赤身と脂肪の割合の差が大きく開く結果となった。なお、ムネ肉とモモ肉の比率では、ムネ肉がより多く取れるタイプに改良された肉用種の特徴が示され、大阪種ではムネ肉とモモ肉の割合の

差が少なかった。

3. 大阪種の肉質の特性

世界的に見た肉用種の肥育期間は6-7週であるが、日本では関西を中心に10-11週の肥育が行われている。図1に示したように、肉用種でも大阪種でも肥育時の体重の増加は7週以降急速に鈍り、6から9週の増加量は

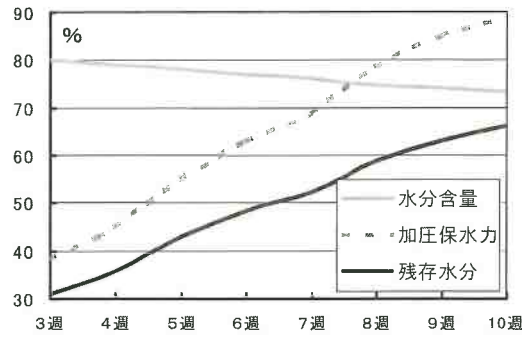


図3 成長に伴う肉質の変化

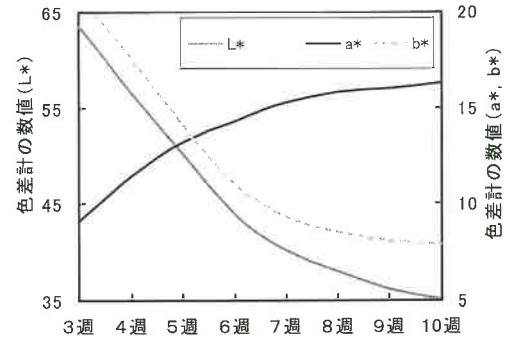


図4 成長に伴う肉色の変化

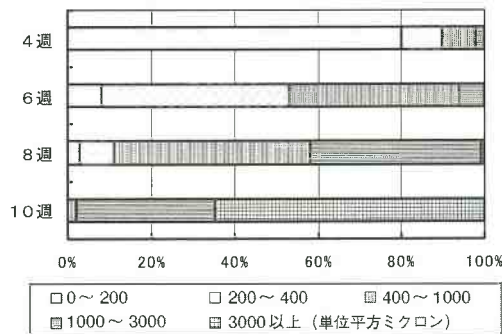


図5 成長に伴う筋線維の太さの変化

3 から 6 週 の 増 加 量 の 40% 以 下 に 低 下 す る 。 此 に 伴 っ て 飼 料 要 求 率 (生 体 1 kg を 生 産 す る た め に 必 要 な 飼 料 の kg 数) は 、 6 週 の 2.5 から 10 週 の 3.9 へ と 増 加 し て 、 生 産 効 率 は 大 き く 低 下 す る こ と に な る 。

生 産 効 率 を 犠 牲 に し て 肥 育 期 間 を 伸 ば す 目 的 は 肉 質 に あ る 。 図 3 に は 大 阪 種 の 浅 胸 筋 (ム ネ 肉 の 中 心 と な る 筋 肉) の 水 分 含 量 と 加 圧 保 水 力 を 示 し た が 、 水 分 含 量 の 低 下 と 保 水 力 の 向 上 は 、 体 重 増 加 が 鈍 っ た 6 週 以 降 も 継 続 し て 変 化 し 続 け て い た 。 保 水 力 は 筋 肉 が 水 分 を 保 持 す る 能 力 で 、 水 分 含 量 と 保 水 力 の 積 が 筋 肉 内 に 保 持 さ れ る 水 分 (図 3 の 残 存 水 分) と 考 え る と 、 6 週 の 48.5% から 9 週 の 63.2% へ と 大 き く 増 加 し て い た 。 こ の 数 値 は 実 測 値 で は な い が 、 こ れ が 高 い と 肉 汁 を 多 く 含 む ジ ュ ー シ ー な 肉 に な り 、 低 い と 肉 汁 が 筋 肉 内 に 保 持 さ れ ず 加 熱 後 に は パ サ パ サ の 肉 に な る 。 肉 用 種 で も 同 様 の 結 果 が 得 ら れ て お り 、 コ ス ト は か か っ て も 高 品 質 な 食 肉 を 生 産 す る と い う 日 本 人 (関 西 人) の ポ リ シ ー が 窺 え る 所 で あ る 。

筋色素など化学的な成分も 6 週以降に向上し続ける。大阪種の肉色を検討すると、3 週から 9 週にかけて、浅胸筋は鶏肉のような淡い色から、牛肉に似たアヒル肉独特の赤黒い色へと変化する (裏表紙の写真参照)。肉眼的にも 6 週と 9 週では肉色の違いが明らかであるが、図 4 の色差計で測定した肉色の変化をみると、色の明るさ・赤さ・黄色さを示す $L^* \cdot a^* \cdot b^*$ の 3 つ の 値 と も 、 6 週 以 降 に 変 化 を 続 け て い る こ と が 分 る 。 6 から 9 週 の 変 化 量 は 、 3 から 6 週 の 変 化 量 の 半 分 程 度 で あ る が 、 こ の 変 化 に よ っ て ア ヒ ル 肉 独 得 の 色 合 い が 完 成 す る こ と を 考 え る と 、 重 要 な 変 化 で あ る と 言 え る だ ろ う 。

また、大阪種の浅胸筋を構成する筋線維の太さや密度を計測すると (図 5)、400 平方ミクロン以上の筋線維の割合が保水力や筋肉の赤さ (a^* 値) と高い相関を持つことが明らかとなり、この太さの筋線維は、6 週以降急速に増加していた。1000 平方ミクロンを越える太い筋線維は 8 週以降に初めて増加することも明らかとなり、肉質の完成に筋肉の微細構造が関与する可能性は大きいと思われた。

日本での肉質を重視した肥育システムは、「素材の味を重視する日本料理に向けた高級食鳥肉」という鴨肉や合鴨肉の商品特性に不可欠ではあったが、肉質が向上する間に摂取された栄養は肉量には結びつかず、脂肪として蓄積する結果を招いたと考えられる。前述の通り、体重に対する脂肪の割合は、肉用種の 27% に対して改良大阪種では 22% と、有意に 5 ポイントも低かった。改良大阪アヒルを基準に考えると、肉用アヒルは約 1 kg 体重

が大きいが、その内の410gは脂肪で占められることになり、日本型の肥育システムが肉用種の肥育特性と合わない可能性が考えられた。

なお、アヒル肉全体の特性として冷凍に弱い点が挙げられる。最新の設備を用いて凍結融解を行っても、融解後の時間経過と共にドリップロスが増加するが、この原因としては、アヒル肉の冷凍特性が十分に検討されていないことが挙げられる。こうした現状から、鴨肉・合鴨肉の販売は、国内消費の半分以上を占める輸入品が短期肥育冷凍流通の低品質低価格品、国産品が長期肥育フレッシュ流通の高品質高価格品という区分で行われている。

4. 終わりに

大阪種の種アヒルとしての産卵率は産卵開始後360日齢までの集計で81%であった。肥育農家の試験で、ヒナは飼いやすく病気にも強い特性が確認された。流通業者からは脂肪が少なく、肉色・脂肪色が良好で、肉のきめ

が細かく締まりがよいなどの評価を、調理関係者や消費者からは、肉が軟らかい、しつこさが無く肉味が強い等の評価を得ている。

肉の肌理や締まり、また柔らかさや味・風味など、人間の官能・感覚にかかわる評価については、アミノ酸やイノシン酸など呈味成分の種類や量、脂肪酸組成また筋線維や結合組織などに対して科学的な測定が加えられ、人間の感覚との関連が検討されるようになってきた。科学的な肉質の評価は、大阪種が得た高い評価の裏付けとなるだけでなく、冷凍や加工におけるアヒル肉の特性を考えるためにも重要となるだろう。

アヒル肉では季節による需要の変動が大きく、夏期に生産調整を余儀なくされている生産現場にとって、夏期の需要開拓や新しい加工品の開発は大きな課題となっている。大阪種についても、現在新しい肉質評価について検討を進めており、この結果を品種のPRや新しい加工品の開発に活かしていきたいと考えている。



ブレイン テクノニュースの バックナンバーご案内 第 93 号

2002 (平成14) 年 9 月15日発行

総 説

- メタン発酵法によるバイオマスエネルギーの生産に関する研究の現況……………野池達也
- 国内情報
- 草や木を原料としたメタノール燃料合成技術の開発と検証機「農林グリーン1号機」の誕生……………坂井正康・中川 仁
- 超臨界メタノール処理による木質系バイオマスの液化技術……………坂 志朗・南 英治
- In vitro重複受精系の開発による花粉管誘導機構の解明とその背景……………黒岩常祥
- 体外成熟卵子への顕微授精による子豚の誕生……………菊地和弘・中井美智子・柏崎直巳
- メダカの性決定遺伝子の発見……………長濱嘉孝
- 地域の先端研究
- 産業廃棄物を利用した環境循環型非塩素系凍結防止剤に関する研究開発……………花松憲光
- 文献情報
- クローン牛におけるX染色体不活性化の異常パターン……………(抄訳：下司雅也)

- アトピー性疾患予防におけるプロバイオティクスの効果……………(抄訳：西村新吾)
- 除草剤耐性ナタネの花粉は3 kmも飛ぶ……………(抄訳：岩井純夫)
- トウモロコシSEMAPHORE1はknox遺伝子とオーキシン極性輸送を制御する……………(抄訳：丸尾嘉宏)
- 魚油をベースとした構造脂質の酸化特性に対する乳化剤の影響……………(抄訳：室田一貴)
- 海外便り
- 大規模専業農家を高度に支援する作物生産機械の通信・制御技術の開発－米国カーネギーメロン大学での1年間－……………村上則幸
- 生研機構からのご案内
- 新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業における平成14年度採択課題。
- 新事業創出研究開発事業(地域型)における平成14年度採択課題。
- 融資制度のご案内。

◀文献情報▶

異なる細胞種由来のクローンウシにおけるテロメア長の著しい違い

Remarkable differences in telomere lengths among cloned cattle derived from different cell types.

Norikazu Miyashita¹, Kazuho Shiga², Miharu Yonai³, Kanako Kaneyama³, Shuji Kobayashi³, Toshiyuki Kojima³, Yuji Goto³, Masao Kishi⁴, Hisashi Aso¹, Toshiyuki Suzuki⁵, Minoru Sakaguchi⁶, and Takashi Nagai¹

¹National Institute of Animal Industry, ²Oita Prefectural Livestock Experiment Station, ³National Livestock Breeding Center, ⁴Snow Brand Milk Products Co., Ltd., ⁵Iwate Prefectural Agriculture Research Center, ⁶Hokkaido National Agricultural Experiment Station.

Biology of Reproduction, 66, 1649-1655 (2002)

体細胞クローン動物の生産は、これまでにヒツジ、マウス、ウシおよびブタ等で成功している。高能力家畜の複製や効率的な育種への利用が期待されるとともに、培養細胞を用いたクローン動物作製技術は、胚性幹細胞を用いずに遺伝子導入動物を作製しうる可能性をもたらした。しかしながら、老齢動物の細胞から作製されたクローン動物の本当の年齢は何歳で、何歳まで生き、乳生産や繁殖可能年齢は何歳までであろうか。6歳のヒツジの細胞からクローニングされたクローンヒツジ「ドリー」のテロメア長は、同年齢のヒツジに比べてはるかに短いと報告されており、クローン技術とは関係ないかもしれないが、肺の進行性疾患のために、6歳で安楽死の処置がとられ、ドリーは本来の寿命をまっとうできなかった。しかし、一方では、テロメア長から推察してほぼ増殖限界に近いと考えられる繊維芽細胞由来のクローンウシのテロメア

長は、正常ウシのものと同じか場合によってはより長い、あるいは、繊維芽細胞や卵丘細胞由来のクローン動物のテロメア長は正常範囲であるとの報告もなされている。ドリーとそれ以外のクローン動物におけるテロメア長の差の原因についての解析が必要とされている。

著者らは、クローニングがテロメア長へ及ぼす影響について検討するために、組織によるテロメア長の違いに注目し、筋肉・卵管・乳腺および耳の皮膚由来の細胞を用いて14頭のクローンウシを作出した。そして、テロメア特異的プローブを用いたサザンブロット解析を行ったところ、老齢ウシ筋肉細胞由来のクローンのテロメア長は細胞提供ウシのテロメア長よりも長いものの、一般のウシのテロメア長との差は認められなかった。一方、老齢ウシの卵管や乳腺の細胞由来のクローンのテロメア長は、一般のウシに比べて著しく短いものであった。さらに、2歳のウシの繊維芽細胞から作製したクローンのテロメア長は正常範囲にあったが、6歳のウシの卵管上皮細胞から作製したクローンのテロメア長は、著しく短かった。ただ、どちらの場合も、クローンウシにおける核移植から出生までのテロメア長の短縮あるいは伸張の程度は、自然繁殖による受精から出生までのテロメア長の短縮よりも小さいものであった。一方、受精卵クローンウシやその子のテロメア長は、同年齢の一般のウシよりも長かった。ドナー細胞の種類によるテロメア長の違いとともに、核移植の操作自体がテロメアの伸張の引き金になっている可能性もある。

本論文において、クローン作製時のドナー細胞種によりテロメア長に著しい違いが起こることが明らかにされた。核移植技術を普及させるためには、早・流産、過大子、産後直死等の問題解決に努めるとともに、寿命に関連するであろうテロメア長の変動についてもさらに研究を進めていく必要がある。

(抄訳：下司雅也, GESHI Masaya, 独立行政法人 農業技術研究機構畜産草地研究所)

◀文献情報▶

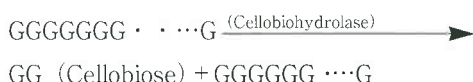
ポリアクリルアミド及びアルギン酸に固定化した β -グルコシダーゼの熱及びタンパク質分解安定性

Stabilisation of β -Glucosidase Entrapped in Alginate and Polyamide Gels towards Thermal and Proteolytic Deactivation

Natividad Ortega, Maria D.Busto & Manuel Perez-Mateos*

Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1998, 73(1), pp.7-12

Cellobiohydrolaseやendoglucanaseを使用したセルロースの糖化(下図)では、セロビオースの蓄積による阻害が問題となる。



ここで生成するセロビオースを β -グルコシダーゼを用いてグルコースに分解する方法がある。しかし、遊離酵素を使用すると熱安定性が悪く、コスト面でも非効率的であるという問題がある。そのため、 β -グルコシダーゼを固定化することが考えられる。

本検討では、*Aspergillus niger*由来の β -グルコシダーゼを固定化した時の熱及びタンパク質分解に対する安定性を酵素の担体(アルギン酸及びポリアクリルアミド)ごとに比較している。

タンパク質分解に対する安定性について、アルギン酸ゲル固定酵素、ポリアクリルアミド固定酵素及び遊離酵素を用いて比較を行ったところ、アルギン酸ゲルに固定化した β -グルコシダーゼでは酵素活性の温度依存性が遊離のものとはほぼ同じ挙動を示したのに対して、ポリアクリルアミドゲルに固定化した場合は酵素活性の高い範囲が広くなり、低温域、高温域でも高い活性を示した。次に、酵素加熱による熱安定性について比較したところポリアクリルアミドゲルに固定化したものは遊離酵素とほぼ同様の挙動を示したのに対し

て、アルギン酸で固定化したものは活性の劇的な上昇が確認された(特に60℃付近)。

また、アルギン酸に固定した場合は酵素の半減期が2倍以上になり、熱安定性向上が確認された。ポリアクリルアミドに固定した場合は、反応の形が遊離の場合とは異なるので必ずしも熱安定性が上がるとは限らないという結果が得られた。

以上より、アルギン酸に固定すると熱安定性が上がる、ポリアクリルアミドに固定するとタンパク質分解に対する安定性が上がるという結果が得られた。酵素によっては固定化することにより再利用が可能となり、活性及び安定性上昇にも繋がる。また、使用する担体によってその性質にも影響が出てくることが示唆された。これらの性質を有効に利用することで有機溶媒中でも使用が可能となるものもあり、酵素利用の可能性拡大へと繋がるものである。今後の報告に期待したい。

(抄訳:西村新吾, NISHIMURA Shingo, カルピス株式会社 基盤技術研究所)

◀文献情報▶

タコ筋肉中のタンパク質分解酵素の性状と超高压処理による影響

Properties of Proteolytic Enzymes from Muscle of Octopus (*Octopus vulgaris*) and Effects of High Hydrostatic Pressure
J.L.Hurtrado, P.Montero, J.Borderfas and H.An.

J. Food Science 67(7): 2555-2564 (2002)

軟体動物の頭足綱に属するイカ・タコ類は、各種の料理素材として利用されている重要な水産食材である。しかしながら、イカ・タコ類の筋肉は軟化しやすい特徴があり、利用の範囲を狭めている。その原因の一つとして、筋肉中に存在する多種類のタンパク質分解酵素の影響が報告されている。例えば、筋肉タンパク質の主成分であるミオシンをイカ筋肉から抽出精製する際には、プロテアーゼ阻害剤を添加していないと、水中で保存したとしても混在するプロテアーゼによりミオシンタンパク質の分解が起こることが報告されている。また、日本人に馴染みの練り製品では、イカ・タコ単一素材での製造は非常に難しいことが経験されている。これは、練り製品の製造工程である塩ずりで筋肉組織が破碎され加熱工程でプロテアーゼが強烈に働くことが原因となっている。

イカ・タコ類の筋肉中のプロテアーゼ活性が高い生理的な理由については、これらの種の非常に速い成長速度との関係について示唆されていて、この点でも興味深い。

本報では、タコの足筋肉中に混在しているプロテアーゼについて、その温度・pH依存性、各種のプロテアーゼインヒビターや塩の作用およびミオシンタンパク質の分解等を測定指標として、各種条件下において活性を発現する主要プロテアーゼを明らかにした。同時に、400MPa静水压繰返し処理によるプロテアーゼ活性の変化についても検討した。タコ筋肉中のプロテアーゼ活性の温度依存性は

2ピークを示し、至適温度はpH2.5で40℃、pH4.0で60℃を示した。各種のプロテアーゼインヒビターを用いた試験から、40℃ではシステインプロテアーゼと酸性プロテアーゼが主に作用しており、セリンプロテアーゼも関与している。60℃では、高温活性化システインプロテアーゼが主酵素である。超高压処理を行うと、40℃でのプロテアーゼ活性は低下し、ミオシン分解も抑制された。これは、40℃でのプロテアーゼ活性発現の主酵素である酸性プロテアーゼの圧感受性が高いためである。一方、7℃で圧処理をすると60℃でのプロテアーゼ活性が逆に活性化された。圧処理により残存するプロテアーゼは、システインプロテアーゼが主力となり同時に温度安定性の高いセリンプロテアーゼ、金属プロテアーゼが関与することが確認された。これらの結果は、軟化抑制方法として超高压技術の利用の可能性を示している。

超高压処理技術については、食品加工法への応用研究が日本で活発に行われ、生の風味を残したタンパク質の変性や殺菌方法として利用できることが知られており、各種水産物への応用研究も盛んに行われてきている。商品化のためには圧処理装置のコストや生産性が課題となるが、このような研究を積み上げることは超高压処理技術を上手に活用していく上で重要である。

(抄訳：木村郁夫, KIMURA Ikuo, 日本水産株式会社 中央研究所)

◀海外便り▶

潮間帯湿地雑草における植食性昆虫と 天敵類の群集生態学 —米国メリーランド大学における半年間—

独立行政法人 農業技術研究機構 九州沖縄農業研究センター
松 村 正 哉

1. はじめに

2002年4月から10月までの半年間、OECD 2002年度フェローシップを得て、米国メリーランド大学にて在外研究を行った。本制度は、OECD国際共同研究プログラム「持続的農業システムのための生物資源管理」のテーマの下に研究課題を募集し、研究者へのフェローシップを供与しているものである。本制度は他の在外研究制度と比べて、在外研究期間が半年間以内（2～26週の間で期間を決められる）という制限があるものの、OECD加盟国であればどの国でも行くことができること、年齢制限が50才までと比較的高いこと、1度供与されても5年経てば再応募できるなどの特徴がある。募集の詳細はOECDのホームページに掲載されている。

メリーランド大学は、アメリカ東海岸のワシントンD.C.のすぐ隣、メリーランド州の郊外にある総合大学で、筆者が滞在したカレッジパーク市のメインキャンパス（図1）のほか、メリーランド州各地に多くのキャンパスがあり、学部・大学院生を合わせた学生数は3万5千人ほどである。大学からワシントンD.C.の中心部まで地下鉄で30分程度であり、

MATSUMURA Masaya
〒861-1192 熊本県菊池郡西合志町須屋2421



図1 メリーランド大学のキャンパス

生活面でも快適な環境にある。筆者が在外研究を行ったのは生命科学部昆虫学科であり、生態学、生理学、分類学、遺伝学など昆虫学の多くの分野にわたる19名の教官がいる。各教官のもとに客員研究員、ポスドク研究員、大学院生が集まって研究が進められている。

受け入れ先研究室のボブ・デノ教授のグループは、潮間帯湿地雑草に生息する昆虫群集の生態学的研究を長期にわたって行っている。デノ教授とは、8年前に日本で開かれた国際シンポジ

ウムで顔見知りとなって以来、投稿論文の校閲や研究計画の相談に乗ってもらったりというつき合いがあった。今回ようやく、デノ教授の下で在外研究が実現することとなった。

2. 在外研究について

筆者は現在、日本で水田害虫、特にウンカ類の総合的害虫管理のため、天敵類を使った生物的防除について研究を行っている。北アメリカ東海岸沿岸の潮間帯湿地に広がるスバルタイナ属イネ科雑草の昆虫群集は、日本とは別種であるがやはりウンカ類を中心とした植食性昆虫と、それをとりまくクモや卵捕食性カメムシ、寄生蜂などの天敵類とで構成されている自然生態系である。この系の群集構

造や昆虫と天敵の相互作用について明らかにすることは、構成種がよく似ている日本や熱帯の水田害虫の研究、特に現在行っている天敵を使った生物的防除の研究にとって重要な知見となる。そこで両者の群集構造を比較するために、昆虫群集相の調査を行った。

調査地は、大学から研究室のトラックで高速道路を飛ばすこと4時間、ニュージャージー州のタッカートンという小さな町の海岸沿岸にある。そこには、見渡す限りの広大な雑草群落カーペット状に広がっている(図2)。筆者の研究はこれまで、農業生態系、それも小さな面積の水田での調査がほとんどだったので、延々と広がる調査地の広さに驚き、自然生態系の規模の大きさに圧倒された。

6月から9月までが野外調査のシーズンで、その間、筆者は16回の調査に出かけた。デノ教授の研究室のメンバーはほぼ全員がこの調査地で研究を行っている。毎回、調査予定のある人がトラックに乗り合わせて調査地に出かけ、全員で手伝いながらそれぞれの調査をする



図2 ニュージャージー州でのガソリンエンジン式昆虫吸引機を使った野外調査

という、効率のいいシステムができあがっていた。往復8時間の車の中も、教授をはじめ陽気なメンバーが多かったため退屈はしなかった。しかし、自分を含めて二人で調査に行く時には、行き帰りが8時間の英会話個人レッスンと化し、調査そのもの以上に疲れた時もあった。

定期的な野外調査の結果は、サンプルが多く計数に時間がかかり、主要な種の分類同定と計数が終わったところであるが、日本の水田に比べてクモ類の種数・個体数が極めて多いことが特徴の一つであった。また、筆者が日本で使っているウンカ卵捕食性カメムシに近縁なカメムシの個体数がたいへん多く、天

敵類の働きが極めて高かった。

植物と植食性昆虫との間で、窒素含有量が異なり、後者は前者に比べて窒素含有量(乾物重比)が高いことが知られている。これと同じように、植食性昆虫とその捕食者との間でも、化学成分量比が大きく違うことが最近明らかになりつつあり、一般に、植食性昆虫に比べて、捕食者では窒素含有量が15%程度高いことが知られている。このような栄養段階による窒素成分量の違いがみられる理由を明らかにすることは、生物群集構造を理解する上でたいへん興味深い。この分野は生態学的化学量論(ecological stoichiometry)と呼ばれ、最近の昆虫群集生態学のホットな話題の一つとなっている。しかし、ひとつの群集を構成する多くの種について、窒素含有量比

を詳しく比較した例はない。そこで、すでに述べた調査で採集した植食性・捕食性昆虫とクモ類について、窒素含有量比を測定した。その結果、ほとんどの捕食者で植食性昆虫に比べて窒素含有量比が高い、という興味深い結果が得ら

れた。また、特にクモ類については、他の捕食性昆虫に比べても窒素含有量比が高かった。

大型のクモ類は、ウンカなどの植食性昆虫だけではなく、一次捕食者(捕食性昆虫や小型のクモなど)も捕食する。このような高位捕食者の体内窒素含有量が高い原因として、上で述べたような生態学的化学量論から、植食性昆虫よりも一次捕食者を選好して捕食することが考えられる。そこで、この仮説を検証するため、室内実験により、餌種の栄養段階の違いが高位捕食者の捕食量と発育に及ぼす影響を調べた。その結果、クモはウンカを与えたときよりも窒素含有量比の高い捕食性

カメムシを与えたときの方がよく捕食し、生体重の増加量も大きく、仮説を裏付ける結果が得られた。以上の結果は論文として取りまとめ中である。

3. アメリカでの研究生生活

その他の研究活動として、滞在中にアリゾナ州ツーソン市で開かれたアメリカ生態学会に出席することができた。各地の著名な生態学研究者が多く集まり、著書や論文でしか名前を知らなかった多くの研究者に出会えたのは大きな収穫であった。規模が大きい割にアットホームな感じがする学会であった。

メリーランド大学昆虫学科では、毎週金曜日の正午から1時間のセミナーが開かれ、アメリカ各地の大学などから昆虫学研究者が招かれて講演が行われた。セミナーが終わると、サンドイッチなどを食べながらのランチタイムが2時過ぎまで続き、学内外研究者間の交流の場でもあった。

受け入れ先研究室のデノ教授は、自宅に学生たちを招いてのパーティーを頻繁に開いたり、研究室のメンバーとキャンプに出かけたりと、研究・調査以外の面でも、研究室のメンバーとのつきあいを大切にしていた。また、ワールドカップの時には、アメリカチームが出る試合には、生中継のテレビを見るため、早朝からサッカー好きのイタリア人ポストク研究者の家に研究室メンバーの大半が集まり、熱烈な応援をしながら楽しんだ。このように、研究室全体がまるで家族のような雰囲気、短期滞在の筆者もそのなかに加わって

楽しい時を過ごすことができた。

大学のキャンパスに近いアパートに住み、大学のシャトルバスで通っていたことから、アメリカ滞在中、治安について不安に感じたことはほとんどなかった。しかし、帰国前の10月に入って、メリーランド州近郊でスナイパーによる無差別連続殺人事件が、ごく近い場所で起きた。日本とは異なる銃社会アメリカの一面を実感した。

4. おわりに

35才という多くの在外研究制度の年齢制限を超えてしまった自分にとって、今回の在外研究は、6ヶ月という短期間ではあったがたいへん有意義であった。研究面以外でも、中学生と小学生の子供を連れて行ったことはとても良かったと思う。子供たちはいきなり現地校に放り込まれ、どうなることかと思ったが、慣れるのも早かったようである。帰国から3ヶ月ほど経って、子供たちに何度か国際電話がかかってくるが、それらにごく自然に対応していたのには驚いた。ここ数年、日本では子供たちは部活動などで忙しく、週末に家族揃ってどこかに行くという生活から遠ざかっていた。アメリカ滞在中は、週末のほとんどを家族と一緒に過ごし、子供たちと接する機会が増えたのはとても良かったと思う。

最後に、このような在外研究の機会を与えて下さったOECD、農業技術研究機構、九州沖縄農業研究センター、メリーランド大学の関係者の皆様に御礼申し上げます。



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内
第 92 号

2002 (平成14) 年 7 月15日発行

総 説

イネゲノム全塩基配列獲得とそこに隠された
遺伝暗号の解説……………佐々木卓治
国内情報
麹菌ゲノムのドラフトシーケンス ……田中敏広
オオムギ遺伝子の存在する一塩基多型を
約4,000個発見 ……佐藤和広
世界初の低アレルギー・高11Sグロブリンダイズ
品種「ゆめみのり」の特性 ……高橋浩司
走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (SNOM/AFM)
によるナノFISH法の開発 ……大谷敏郎
魚類始原生殖細胞を利用した新たな育種技法の開発
…吉崎悟朗・竹内裕・小林輝正・伊原祥子・竹内俊郎
乳成分連続測定装置の開発 ……伊藤和彦
地域の先端研究
チューリップ組織培養系の開発
……………小泉昌広・飯村成美・荘司和明

文献情報

改良型体外培養システムにより作出した胚盤胞の
移植による子ブタの生産 ……(抄訳：下司雅也)
ラッカーゼ遺伝子を酵母に導入発現させることで
フェノール性発酵阻害物質への耐性を向上させる
……………(抄訳：家藤治幸)
抗菌タンパク-オカチン ……(抄訳：岩井純夫)
ASYMMETRIC LEAVES1 遺伝子によって
明らかにされた、シロイヌナズナにおける
knox遺伝子の冗長性……………(抄訳：丸尾嘉宏)
海産微細藻類Crypthecodinium cohniiによる
ドコサヘキサエン酸の生産 ……(抄訳：大栗智昭)
海外便り
仔稚魚の生残機構とそれと与える海洋環境要因の
影響の解明-オーストラリア ニューサウス
ウェールズ大学での1年間- ……上原伸二
生研機構からのご案内 (融資制度のご案内)



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内
第 91 号

2002 (平成14) 年 5 月15日発行

総 説

化学発光法によるウシ潜在性乳房炎の早期・
簡易診断法の開発 ……高橋秀之
国内情報
泌乳牛乳腺の見事なサイクル変動を基に創製した
2種類の乳房炎防除剤の開発……………熊谷勝男・
小峯健一・貝健三・浅井健一・黒石智誠・小峯優美子
稲発酵粗飼料用の水稻新品種「クサホナミ」
の育成……………根本 博
酵母が生産するバイオサーファクタント-界面の
花形役者, 省エネからガン治療まで- ……北本 大
中山間地域対応自脱型コンバインの開発 ……杉山隆夫
地域の先端研究
酸化チタン光触媒による養液栽培の培養液の
浄化・殺菌……………深山陽子・橋本和仁
文献情報
核移植クローン技術による α -1, Galactosyl-trans-

feraseノックアウトブタの作製 ……(抄訳：横尾正樹)
蛋白質分解におけるX-Propyl Dipeptidyl
Amino-peptidaseとNon-Specific Amino-Peptidase
の相乗作用……………(抄訳：西村新吾)
NOはABAのシグナル伝達物質?
Yes or No?……………(抄訳：岩井純夫)
KNAT1とERECTAはシロイヌナズナの花序構造
を制御する……………(抄訳：春原英彦)
血液・血管系の形態形成や病態と
ゼブラフィッシュの接点……………(抄訳：玉井忠和)
海外便り
マメ科植物における共生窒素固定根粒機構の解析
-デンマーク・オーフス大学での在外研究-
……………梅原洋佐
生研機構からのご案内
○融資制度のご案内。

編集後記

第95号は、通年の発行計画では1月15日発行となりますが、編集部の都合で本号にかぎり3月15日発行となりましたので、どうかご了承下さい。

2002年12月18日、わが国の小泉総理が、イネゲノム塩基配列の重要部分高精度解読終了を内外に宣言しました。その意味を、本号の総説で、(独)農業生物資源研究所の佐々木卓治ゲノム研究グループ長に解説していただきましたが、イネゲノムの研究が新たな段階に突入したことがわかります。また、これを端緒に、他の動植物のゲノム研究においても新たな研究展開が期待されます。

お忙しい中をご執筆下さった研究者各位に、深甚の謝意を申し上げます。

(畠山記)

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95号)

平成15年3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, 2003

新しい肉用アヒル 大阪種



成長にともなう肉色(ムネ肉)の変化, 左から 3週, 6週, 9週



大阪府立食とみどりの総合技術センター
出雲章久・笠井浩司

詳細は本誌地域の先端研究32頁をご覧ください。