

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 96 号

MARCH 15, 2003



合成周縁キメラかんきつ品種 「エクリーク15」

(株)愛媛柑橘資源開発研究所 第一研究部

脇塚 巧・菅原邦明・西山 聡・稲田絵理子・大和田 厚

目 次

総 説

- 作物のDNAマーカー育種の現状と展望 1
井邊時雄 (独立行政法人 農業技術研究機構作物研究所)

国内情報

- うどんの“こし (粘弾性)”とDNAマーカー 5
中村俊樹・齊藤美香・Patricia Vrinten・石川吾朗 (独立行政法人 農業技術研究機構
東北農業研究センター)
- かんきつ類の合成周縁キメラ研究と新しいキメラ品種の開発 9
脇塚 巧・菅原邦明・西山 聡・稲田絵理子・大和田厚 (株愛媛柑橘資源開発研究所)
- 異常プリオン蛋白質を分解する新規酵素について 13
三輪岳宏¹・村山裕一²・吉岡 都³・横山 隆²・三浦克洋³・黒川 知¹・西澤耕治¹
(¹明治製菓株式会社 ²独立行政法人 農業技術研究機構動物衛生研究所 プリオン病
研究センター, ³同所 安全性研究部)
- 海藻クロム由来フロロタンニンの殺菌作用 17
長山公紀¹・岩村善利²・中村 孝³ (¹熊本県水産研究センター ²財団法人 化学及
血清療法研究所 ³九州大学)
- 穀物自動乾燥調製装置 (グレインプロセッサ) の開発 21
久保田興太郎・日高靖之・市川友彦
(生物系特定産業技術研究推進機構生産システム研究部乾燥調製システム研究)

地域の先端研究

- 羊毛防縮加工に有用な新規酵素を生産する微生物の探索 25
茶谷悦司¹・安田(吉野)庄子²・山本周治³・北野道雄³・北本則行¹ (¹愛知県産業
技術研究所基盤技術部 ²同所 食品工業技術センター ³同所 尾張繊維技術センター)

文献情報

- 長期間培養におけるウシA型精粗細胞の増殖と分化 29
F. Izadyar et al. (Biology of Reproduction, 68, 272-281, 2003)
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)
- グルタチオンと初期対数増殖期を利用した酵母の簡便, 迅速, 高効率な形質転換法 30
Y. Hayama et al. (J. B. B., 94, 166-171, 2002)
抄訳: 家藤治幸 (独立行政法人 酒類総合研究所)
- 植物MITEは薬培養で動き出す 31
K. Kikuchi et al. (Nature, 421, 167-170, 2003)
抄訳: 岩井純夫 (鹿児島大学農学部)
- 主要な交差反応性魚アレルギーである組換えコイパルブアルブミン:
魚アレルギーの診断・治療のツール 32
I. Swoboda et al. (J. Immunol., 168, 4576-4584, 2002)
抄訳: 沖田裕司 (日本水産株式会社中央研究所)

海外便り

- 家畜の遺伝子探索と家族の生活
—ロスリン研究所での1年半— 33
長嶺慶隆 (独立行政法人 農業技術研究機構畜産草地研究所)

生研機構からのご案内 36

表紙写真説明

永年作物の育種法には、古くから原理の知られた合成キメラ技法がある。本研究では、合成周縁キメラを利用した品種開発を行い、外観はオレンジで、果肉は温州みかんの特長を合わせ持つユニークなキメラかんきつ品種の育成に成功した。詳細については、本誌国内情報9頁をご覧ください。

◀総説▶

作物のDNAマーカー育種の現状と展望

独立行政法人 農業技術研究機構 作物研究所

井 邊 時 雄

イネゲノム研究の成果を生かしたDNAマーカー育種は、新たな可能性を秘めた育種法であり、(独)農業技術研究機構では研究開発ターゲットの一つとして取り組んでいる。イネやダイズでは、病害虫抵抗性など各種の特性について準同質遺伝子系統の育成が進みつつあり、マイクロサテライトやSNPsなど簡便で効率的なマーカーの開発を行っている。また、他の多くの作物で、遺伝子連鎖地図の作成とマッピングが進められている。

1. はじめに

(独)農業技術研究機構(農研機構)は、毎年重点的に進める研究課題を「研究開発ターゲット」として位置づけている。その中で平成13年度は「イネゲノムの成果を生かした革新技术への挑戦」、平成14年度は「画期的な組換え体作物の開発とDNAマーカー育種の推進」として、バイオ研究への取り組みを行っているが、DNAマーカー育種は遺伝子組換え研究とともに重要な柱となっている。特に、平成14年度からはイネゲノムプロジェクトの一つである「DNAマーカーによる効率的な新品種育成システムの開発」(DNAマーカー)プロジェクトは、主査場所が(独)農業生物資源研究所から農研機構の作物研究所に変更になり、研究開発ターゲット活動の柱の一つとして位置づけられた。

2. DNAマーカーの利点と
準同質遺伝子系統の育成

交配育種においてDNAマーカーを用いる利点は、表現型だけでなく遺伝子型で選抜できることである。DNAマーカーの多型により、目的とする形質を支配する遺伝子の領域について交配親のどちらに由来しているかわかる。特に量的形質遺伝子座(QTL)の選

IMBE Tokyo

〒305-8518 つくば市観音台2-1-18

抜で有効である。量的形質には複数のQTLが関与している場合が多いが、DNAマーカーによるQTL解析ができるようになって、それぞれのQTLを取り込むことが可能となった。一つのQTLの効果が大きくない場合、従来の圃場試験等での表現型の評価では安定して選抜できなかったものが、確実に導入できるようになった。

DNAマーカー育種が最も効果的なのは、準同質遺伝子系統(NILs)の早期選抜である(図1)。DNAマーカーを用いると、より純度の高いNILsを少ない回数に戻し交雑で選抜することが可能となる。また、イネの育種で外国品種や陸稲、あるいは近縁野生種を用いる場合、目的遺伝子に連鎖する劣悪形質が問題となることが多い。DNAマーカーを利用することにより目的遺伝子の領域を可能な限り狭くすることにより、このような劣悪形質を排除できる可能性が高くなる。

同じ戻し交雑親に、様々な形質について一つずつQTLを導入したNILsを育成しておいて、その組合せにより目的とする形質のものを育種する「デザイン育種」という考え方がある。また、その素材となるNILsをデザイン育種の部品である「育種ユニット」という。例えば、矢野ら(2003)は、イネ品種コシヒカリとインド型品種Kasalathの出穂期の差に関与する5種類のQTLについて、コシヒカリに一つずつ導入したNILsを育成したり。これらのNILsを交配により複数組み合わせる

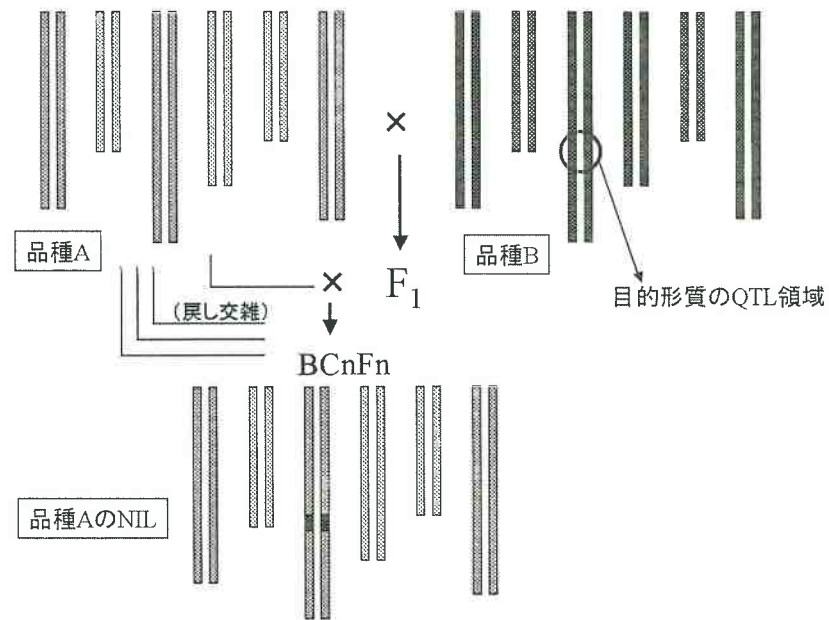


図1 準同質遺伝子系統 (NIL) の育成

ことにより、様々な出穂期のNILsを設計通りに育成することが可能となる。なお、第6染色体のQTLを持つNILはコシヒカリより8~10日早生になり、「関東IL1号」として都道府県の奨励品種決定基本調査に配付することになった。コシヒカリを栽培できない東北地方や中山間地域での作付や、コシヒカリとの作期の競合を避ける品種としての利用が考えられる。

また、イネの近縁野生種である *Oryza Officinalis* のトビイロウンカ抵抗性遺伝子 *bph11(t)* を「ヒノヒカリ」に導入した系統「関東IL2号」を選抜した。ヒノヒカリはトビイロウンカの被害の大きい西日本の主力品種であるので、関東IL2号は農薬処理の回数を減じた環境保全型稲作の普及に貢献すると期待される。

その他イネでは、耐冷性、いもち病抵抗性、縞葉枯病抵抗性などでDNAマーカーが選抜に利用され、NILsの育成が進められている。特に、いもち病抵抗性については、真性抵抗性遺伝子を一つずつ持つNILsからなるマルチライン品種が育成されている。宮城県古川農業試験場が育成したササニシキBLが初めて実用化されたマルチライン品種である。新

潟県や富山県ではコシヒカリでマルチライン品種を育成している。このようなマルチラインの育成でDNAマーカーを用いることが試みられ、古川農業試験場では「まなむすめ」のNILsを選抜している。この場合、抵抗性遺伝子源として日本型改良品種ではなく、DNAマーカー多型の得られやすいインド型の原品種が用いられている。

なお、NILsは育種素材だけでなく、遺伝子の機能解析や生理的研究にも利用され、NILsの育成は基盤的研究としても重要である。

3. 染色体部分置換系統等の基盤的育種素材・実験系統の養成

目的形質の遺伝子分析にはF₂集団やF₃系統などが供試されてきたが、DNAマーカーでマッピングする場合は、繰り返して形質を評価できる組換え自殖系統 (RILs) や戻し交雑自殖系統 (BILs) などが用いられるようになった。全染色体上で数百のDNAマーカーの多型情報が得られれば、様々な形質についてマッピングが可能となり、重宝されている。

さらに、DNAマーカープロジェクトではイネ近縁野生種の全染色体のセットを数十の

断片として同じ遺伝的背景に導入した染色体部分置換系統 (ILs=introgression lines) の作出に取り組んでいる。AAゲノムの *Oryza rufipogon* などの野生種をコシヒカリ、ヒノヒカリ、「いただき」などの品種にDNAマーカーを用いて導入している。野生種は、耐病虫性遺伝子のみならず多収性の遺伝子源として注目されつつあるが、通常の交配育種では分離が大きく、選抜が容易ではない。また、種子の確保も容易ではなく、形質の評価も難しい。そこで、栽培品種に近いILsとすることにより有用形質を解析し、解析された遺伝子はILsを用いた即座に育種に用いることが可能となる。野生種だけでなく、インド型などの外国稲品種の育種利用に用いられる。様々な遺伝資源について、このようなILsによる「染色体ライブラリー」を作る壮大なプロジェクトが望まれる。

4. 新しいマーカーの開発

マイクロサテライト (SSR単純反復配列) マーカーは、これまで主力であったRFLP(制限酵素断片長多型) マーカーより、実験が簡便で、近縁品種間で多型が得られやすいと期

待されている。イネでは国際コンソーシアムによる共同研究の結果、2,240マーカーの利用が可能となった (McCouch et al. 2002)²⁾。果樹では、モモ、ナシ、カンキツ、野菜では、ナス、ハクサイなど様々な作物でSSRマーカーの作出が進められている。また、イネではSNPs (一塩基多型) マーカーにも取り組まれている。

5. 多数の作物での取り組み

農研機構における主なDNAマーカー育種への取り組み例を表1に示した。普通作物では、コムギの赤カビ病・赤さび病抵抗性、製パン生地物性、ダイズのシストセンチュウ抵抗性、ハスモンヨトウ抵抗性、耐冷性などのDNAマーカー育種に取り組んでいる。

ハクサイやアブラナの根こぶ病は、難防除病害であり、抵抗性品種の育成が重要である。ところが、近年病原性レースの変化により抵抗性の崩壊が生じて問題となっている。そのため、新しい抵抗性遺伝子の導入が必要となっている。そこで、SSRマーカーを用いて病原性の異なる2つのレースに対してそれぞれ抵抗性個体のみを選抜できる手法を確立し

表1 農研機構における主なDNAマーカー育種への取り組み

作物	形質	研究所	進捗状況
イネ	穂ばらみ期耐冷性	北海道農研	同質伝子系統選抜中
イネ	出穂期	作物研/生物研	同質伝子系統選抜
イネ	トビロウカ抵抗性	作物研/九州沖縄農研	同質伝子系統選抜
イネ	縞葉枯病抵抗性(陸稲由来遺伝子)	近中四農研	同質伝子系統選抜
コムギ	赤さび病抵抗性	東北農研	実用系統選抜中
コムギ	生地物性(製パン・製麺性)	近中四農研	実用系統選抜中
ダイズ	ダイズシストセンチュウ抵抗性	東北農研	形質のマッピング中
ナシ	黒星病抵抗性	果樹研	形質のマッピング中
カンキツ	無核性	果樹研	形質のマッピング中
カーネーション	萎凋細菌病抵抗性	花き研	形質のマッピング中
ハクサイ	根こぶ病抵抗性	野菜茶研	形質のマッピング中
ナス	青枯病抵抗性	野菜茶研	形質のマッピング中
チャ	クワシロカイガラムシ抵抗性	野菜茶研	個体・系統選抜においてマーカー選抜実施中
トウモロコシ	子実収量(ヘテロシス)	畜産草地研	形質のマッピング・実用系統選抜中
イタリアンライグラス	冠さび病抵抗性	畜産草地研	形質のマッピング中

4 総説

た。その他、野菜類の取り組みでは、メロン・キュウリのうどんこ病抵抗性のマーカー選抜等を進めている。

果樹類の育種では、成長して特性による選抜が可能となるまでに年限がかかるため、DNAマーカーによる早期選抜が有効である。モモではSSRマーカーなどを用いて遺伝子連鎖地図を作成し、ネコブセンチュウ抵抗性の選抜マーカーを開発した。その他の果樹類では、カンキツ・ナシで遺伝子連鎖地図の作成が進んでおり、カンキツの無核性やナシの黒星病抵抗性のマッピングを行っている。

牧草・飼料作物類では、トウモロコシのヘテロシスやイタリアンライグラスの冠さび病抵抗性などのマッピングや選抜を進めている。アカクロバについては、RNAから逆転写酵素により合成されたcDNAクローンをプローブとしたRFLP連鎖地図を作成した。この地図は253個のマーカーを含み、マーカー間の平均距離は2.1cMで、QTL解析が可能なマーカー密度を持つ世界初のものである。

6. おわりに

DNAマーカー育種については、形質のマッピングまでは容易に進むが、それを実際の育種に取り込むため選抜に至らない場合が多いことが問題である。圃場と実験室の両立も容易ではないことが原因の一つである。また、マッピングや選抜マーカーを開発するための基盤として準同質遺伝子系統や染色体部分置換系統などの実験系統の作出が不可欠であるが、育種事業を抱える研究室ではこのような基盤的研究を進める余裕がない場合が多い。そのため、実験系統作出やDNAマーカー開発の拠点の整備が望まれる。

文献

- 1) 矢野昌裕ら (2003), 育種学研究, 5 (別1) (印刷中)
- 2) McCouch, S.R. et al. (2002), *DNA Research*, 9, 199-207



ブレイン テクノニュースの バックナンバーご案内 第 95 号

2003 (平成15) 年 3 月15日発行

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 ……………佐々木卓治

国内情報

イネミトコンドリアゲノムの全構造決定
……………西川智太郎・門脇光一

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 ……………三輪京子・藤原 徹
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
……………中村保典

珪藻に感染する新奇ウイルスの発見 ……………長崎慶三
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 ……今井真介・柘植信昭・
朝武宗明・永留佳明・澤田 博

細断型ロールペーラの開発 ……………志藤博克
地域の先端研究

新しい肉用アヒル「大阪種」…出雲章久・笠井浩司
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 ……………(抄訳：下司雅也)

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 ……………(抄訳：西村新吾)

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 ……………(抄訳：木村郁夫)

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— ……………松村正哉

◀国内情報▶

うどんの“こし(粘弾性)”とDNAマーカー

独立行政法人 農業技術研究機構 東北農業研究センター
中村俊樹・齊藤美香・Patricia Vrinten*・石川吾郎

コムギ胚乳澱粉中のアミロース含量が低くなると、麵のこし(粘弾性)が良くなり、うどん用コムギ品種に向くことが知られている。そのため育種現場では、アミロースを直接測定することによって低アミロースコムギの選抜をおこなってきているが、精度や効率が良くない問題があった。今回その問題を解決するために、正確かつ効率的な選抜が行えるDNAマーカー選抜法を開発した。

1. はじめに

品種育種において、効率的選抜方法として、「DNAマーカー選抜」が叫ばれているが、ゲノム研究の進展ほど、育種現場で使える実用的なDNAマーカーは開発されていないのが現状である。その原因は、選抜すべき形質とその形質を支配(制御)する遺伝子(DNA)の関係が明確になっていない点にあると考えられる。したがってDNAマーカー選抜を発展させるためには、そのリンクをいかに明らかにするかが大きな課題である。その問題点を克服した一例として、最近開発された“こし(粘弾性)”のあるうどん用コムギを同定・選抜するためのDNAマーカーセットを、その開発過程も含めて紹介し、同時にDNAマーカー開発、および育種現場におけるその普及に関しての一考を述べたい。

2. うどんの“こし(粘弾性)”と胚乳澱粉中のアミロース含量の関係

旧農業研究センター(現作物研究所)において育成された関東107号(K107)の胚乳澱粉中のアミロース含量は、他の品種・系統より低く、それがうどんのこし(粘弾性)を高め

NAKAMURA Toshiki, SAITO Mika,

Patricia VRINTEN, ISHIKAWA Goro

*現在カナダサスカトゥーン, Plant Biotechnology Institution

〒020-0198 盛岡市下厨川赤平4

ることが、星野らによって明らかにされた¹⁾。その後K107は全国のコムギ育種に利用され、チクゴイヅミ、アヤヒカリ、ネバリゴシなどのうどん用低アミロース品種の育成に大きく貢献してきている。この「麵の粘弾性と澱粉中のアミロース含量の間のリンク」の発見は、前記の品種やモチコムギの育成²⁾に役だっただけで無く、今回のDNAマーカーの開発にも大きく貢献している。

イネ科作物の澱粉中のアミロース含量は、顆粒性澱粉合成酵素(GBSS)によって合成され、同酵素は、*waxy*遺伝子によってコードされている。イネ、トウモロコシ、オオムギなどの作物は、生命を維持するための基本遺伝子セットであるゲノムを1組持つ2倍体植物である。2倍体植物は*waxy*遺伝子をゲノム当たり1個持つ。ところが、コムギは、3組のゲノムセット(A, B, D)を持つ異質6倍体植物であるため、*waxy*遺伝子も各ゲノムに1個ずつ、合計3個(*Wx-A1*, *Wx-B1*, *Wx-D1*と呼ぶ)を持つ。2倍体の作物では、*waxy*遺伝子に何らかの変異がおけると、GBSSが造られず、アミロース合成も停止するために、澱粉はアミロースとアミロペクチンからなるウルチから、アミロペクチンのみで構成されるモチになる。ところが、コムギは、3*waxy*遺伝子を持つために話しがやや複雑になる。3つのGBSS全てが無くなって初めてモチになり、1つあるいは2つが欠失しただけでは、残りのGBSSがアミロースを合成するため、表現型はウルチのままである。

表1 部分的モチコムギのTypeと小麦粉中のアミロース含量

Type	<i>Wx-A1</i>	<i>Wx-B1</i>	<i>Wx-D1</i>	アミロース含量(%)
Type1	+*	+	+	28.7
Type2	-	+	+	28.5
Type3	+	-	+	27.1
Type4	+	+	-	28.0
Type5	+	-	-	19.8
Type6	-	+	-	25.8
Type7	-	-	+	22.9
Type8	-	-	-	0.9

*各遺伝子からの顆粒性澱粉合成酵素 (GBSS) が造られれば+, なければ-, Type1は完全なウルチ, Type8はモチコムギである。

ただ, その場合, どのGBSSを失うかで, アミロース含量には有意な差が生じる¹⁰⁾。私たちは, そのように1つないし2つのGBSSを欠失したコムギを部分的モチコムギ⁵⁾と名付け, 完全なウルチをType1とし, モチをType8としてType2からType7に分類した(表1)。先のK107は, *Wx-A1*と*Wx-B1*遺伝子が機能を失い, 2つのGBSSを欠くType7で, そのためアミロース含量が他の品種・系統より低かったことが判明した⁶⁾。ここで, 「形質(粘弾性)と遺伝子(*waxy*)の間にリンク」が得られたわけである。全ての部分的モチコムギが低アミロースになるわけではな

いが, Type1(野生型)に比べてType3, 5, 6, 7はアミロースが有意に低くなる¹⁰⁾。ちなみに, うどん用のオーストラリア産ASWの構成品種の多くはType3であり, また最近育成された国内のうどん用品種は, Type7あるいはType3で, やはり低アミロースである。まだType6やType5の品種は育成されていないが, それらは, Type3や7ともアミロース含量が若干異なるので, 加工特性がやや異なる品種育成に結びつくことが期待されている。したがって, 部分的モチコムギを同定して目的のTypeを効率良く選抜することは, コムギ育種において重要な課題と言える。

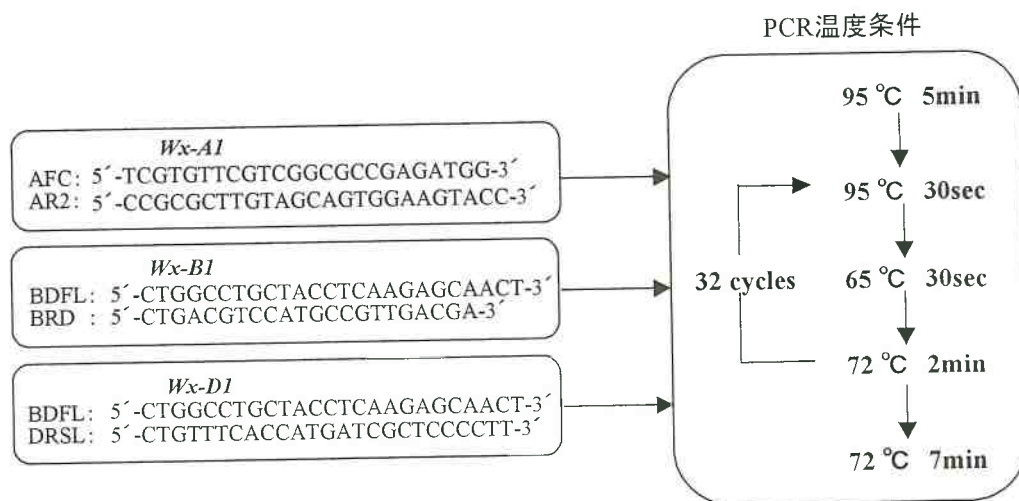


図1 3*waxy*遺伝子の欠失部分を確認するためのプライマーセットとPCR温度条件(3プライマーセットとも同一条件で使用可能)

3. DNAマーカーセットの開発

現在、育種現場では、世代が進んだ段階でアミロースを直接測定することによって低アミロース系統を選抜しているが、直接測定は、ヨウ素法でも酵素法でも測定値にかなり誤差があり、部分的モチコムギを全て同定することは不可能である。また交配後の世代が早い場合は、交配組み合わせによっては、部分的モチコムギはヘテロ集団であり、アミロースを測定しても目的とする部分的モチコムギだけを選抜することは不可能である。海外では、効率的選抜として、抗体を用いた選抜方法^{2,3)}や近赤外線を使った選抜方法¹⁾も検討されているが、やはり精度に問題があり実用化にはいたっていない。そこで、私たちは精度の高い効率的選抜方法としてDNAマーカー選抜の確立を検討した。

まず、DNA情報を得るために、GBSSを作り出さなくなった *waxy* 遺伝子座の変異の原因を、それら遺伝子の発現やDNA塩基配列から調べた。その結果、*Wx-A1*では遺伝子の頭の方で19bp (bpは塩基配列の単位)の欠失が、*Wx-D1*では遺伝子の後ろの方に576bpの欠失が、さらに*Wx-B1*においては、

遺伝子全部が欠けており、そのため遺伝子は正常に転写されずGBSSも翻訳されないことを発見した⁹⁾。ここで「形質(粘弾性)がDNAそのものとリンク」したわけである。これらのDNA上の欠失は、3 *waxy* 遺伝子の機能の有無を知る上での重要な目印であり、その目印部分を利用することで、部分的モチコムギ選抜のためのDNAマーカーセットが開発できた⁸⁾。具体的には、各 *waxy* 遺伝子の欠失部分の前後にPCR用のプライマー(図1)を設定し、増幅される遺伝子フラグメントの長さの差を利用し、遺伝子に変異があるか否かを比較した(図2)。*Wx-A1*と*DI*においては、変異した遺伝子からの増幅産物は、正常な遺伝子からの増幅産物に比べて、それぞれ19bp、756bp短くなる。また*Wx-B1*では、正常な遺伝子からはPCR産物が増幅されるが、遺伝子が欠失した場合それに対応する増幅産物は得られない。この3つのマーカーを組み合わせれば、部分的モチコムギはすべて同定できるわけである。

4. DNAマーカーセットの活用

今回のDNAマーカーセットの大きな特徴

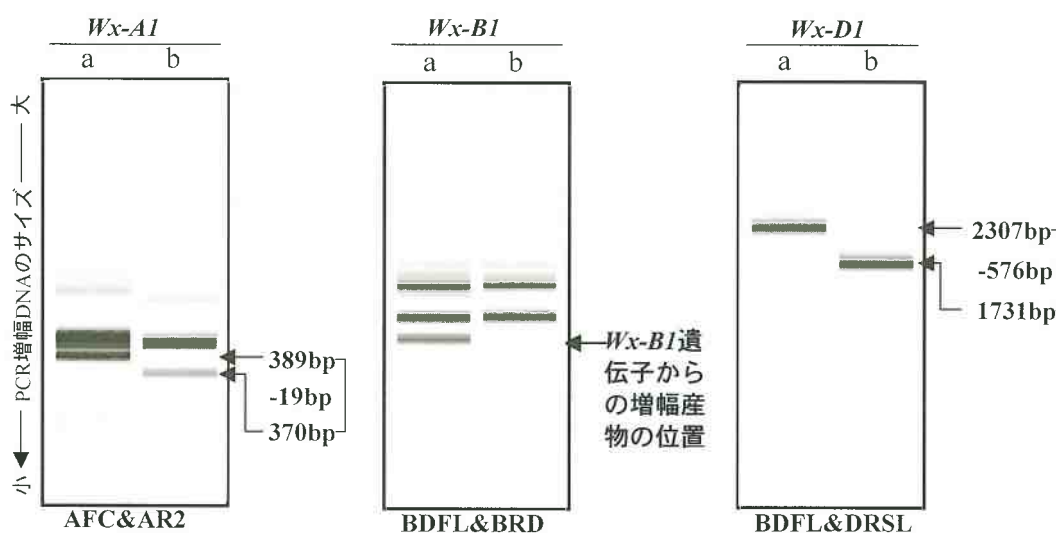


図2 PCR産物のゲル泳動図

a: 遺伝子が正常な場合, b: 遺伝子に欠失変異がある場合 3 *waxy* 遺伝子それぞれの欠失変異が各プライマーセット(各パネル下)で確認されている。矢印以外のバンドは、目的以外の *waxy* 遺伝子から増幅されたDNA断片。

は、3遺伝子の変異を確認するための3組のプライマーセットが同一のPCR条件(図1)で働く様に設定した点にある。プライマーセットそれぞれのPCR条件が異なると、部分的モチコムギの同定のためには3回のPCRをしなければならず、非効率的である。しかし開発したプライマーセットは、全て同一条件下で使えるため、効率的に選抜が行える。またその様な条件を設定したため、DNAキャピラリーチップによる電気泳動と組み合わせると、3つのプライマーセットを同一反応系で反応させるマルチプレックスPCRが可能になり、PCRの回数、反応試薬等も1/3に減らせ、さらに効率的な選抜が可能となる⁸⁾。本DNAマーカーセットにより、国内ばかりでなく外国の品種・系統の部分的モチのTypeが正確に同定できることが確認されている⁸⁾。そのため本DNAマーカーセットの使用に関しては、国内外のコムギ研究者から多くの問い合わせがあり、その利用価値は高いと考える。しかしながら、どんなに良いDNAマーカーであっても育種現場で使ってもらえない以上、品種育成には結びつかない。したがってDNAマーカー選抜の普及にも結びつかないという問題がある。本DNAマーカーに関して、ある育種研究者から「是非使いたいのだが、その設定も出来ないし、時間も無いので、分析していただけないか」との声があった。これは、多くの育種研究者の本音であろう。ここにDNAマーカー選抜が普及しないもう一つの理由があると感じる。その声を受けて、現在より簡便な方法を検討すると同時に、希望する全国の育種研究室の材料を分析しているが、DNA抽出操作などを含めても、やはりアミロースを測定するよりは、効率的で正確であることを再確認している¹⁰⁾。育種研究者側も「DNA」に裏づけされた選抜には満足しているようで、彼らが一番DNAマーカー選抜の普及を望んでいるのではと感じている。

5. おわりに

イネゲノム塩基配列が解読され、イネは言

うまでも無く、シンテニーの高いムギ類でもDNAマーカーは、精度に問題のある連鎖マーカーから、関連遺伝子DNAそのものに移行できる可能性が高く、多くの実用的DNAマーカーが開発されるはずである。その可能性を現実のものにするためには、「形質とそれと直接関係するDNAのリンク」を明らかにする基礎的研究に力を入れると同時に、開発されたマーカーを現場育種で活用し、効率的品種育成を進めて行くために、DNAマーカーによる選抜を専門にやる育種サポートセンターのようなものが必要になってくるのではと考える。

今後も育種研究者との協力により、選抜形質とDNA間のリンクを解明し、さらに品種育成に活用できるDNAマーカーが開発できればと思っている。

文 献

- 1) Delwiche, S.R. et al (2002), J Cereal Sci, 35, 29-38
- 2) Gale, K.R. et al (2001), Aust Agric Res, 52, 1417-1423
- 3) Graybosch, R.A. et al (1999), J Cereal Sci, 30, 159-163
- 4) 星野次汪 (2002) 育種学研究, 4 (別1), 4-5
- 5) Nakamura, T. et al (1993), Biochem Genet, 31, 75-86
- 6) Nakamura, T. et al (1993), Plant Breed, 111, 99-105
- 7) Nakamura, T. et al (1995), MGG, 248, 253-259
- 8) Nakamura, T. et al (2002), Genome, 45, 1150-1156
- 9) Vrinten, P. et al (1999), MGG, 261, 463-471
- 10) Yamamori, M. et al (2000), TAG, 100, 32-38
- 11) 石川ら (2003), 農業および園芸, 印刷中

◀国内情報▶

かんきつ類の合成周縁キメラ研究と 新しいキメラ品種の開発

(株)愛媛柑橘資源開発研究所 第一研究部

脇塚 巧・菅原邦明・西山 聡・稲田絵理子・大和田 厚

かんきつ類の接ぎ木実験により、多胚性品種をはじめ、単胚性や無核（種なし）の種（品種）からも多数の合成周縁キメラ作出に成功した。本研究により、合成周縁キメラを利用した品種開発が、実用技術となり得ることを実証した。すでに、外観はオレンジで、果肉はウンシュウの特長を合わせ持つユニークなキメラかんきつ、「エクリーク15」を品種登録出願した。今後も、順次、キメラ品種の出願を予定している。

1. はじめに

果樹産業の振興発展のために、多様で急速に変化する消費ニーズに応える高品質果実の開発は常に必要不可欠である。しかしながら、その品種開発手法は交雑や変異の発見等限られたものであり、手法自体の新たな開発が求められる。急速に進展している分子遺伝学的手法を取り入れた効率的な育種技術の基礎研究はそのようなニーズに応える一つであろう。一方、永年作物に限られるが、古くから原理が知られていた全く異なる手法がある。それは、合成キメラを利用する方法で、Frost (1948) は、早くからかんきつの品種開発への有用性を提案していた¹⁾。

合成キメラの実験が研究の歴史に登場したのはたいへん古い。1907年ドイツの植物学者Winklerがトマトとイヌホウズキの接ぎ木実験を行い、表皮全体がトマトで内部組織がイヌホウズキ、そしてその逆の新しい植物体を作成したことに始まる。それ以後、植物組織の発生生物学的研究が進み、茎頂分裂組織を外側からL1, L2, およびL3の層構造に分けて理解し、たとえば、植物体表皮はL1から発達することなど、組織を構成する細胞の由来が明らかにされた。また、キメラには構造

WAKIZUKA Takumi, SUGAWARA Kuniaki,

NISHIYAMA Satoshi, INADA Eriko,

OOWADA Atsushi

〒791-8006 松山市安城寺町478

が不安定なメリクリナルキメラが多いが、L1だけが遺伝的に異なる構造、L1の周縁キメラ構造が最も安定であることも明らかにされた。このように、キメラ植物は、被子植物の細胞系譜の大枠解明に大きく貢献した。

2. 実用キメラへの期待

発生生物学的研究には欠かせない植物キメラであるが、育種への利用では、従来から期待はされながら、目立った成果がないまま現在に至っている。キメラ現象にはあまりにも未解明な事柄が多いこと、さらに、キメラ形成の再現性が乏しいことにより、品種開発への実証研究がほとんどなく、紆余曲折はあったが、計画的な品種開発技術になり得るのかどうかさえ疑問視されてきた。

しかしながら、この10年間を見ても、かんきつ類をはじめ、ブドウ、キウイフルーツ、きいちご類などの各主要産地国で、それぞれの合成周縁キメラ品種の開発が試みられ、このことから、育種への期待は、今なお大きいと言える。

かんきつ類では、半世紀以上前に、慣行栽培の接ぎ木部損傷により偶然発生した合成周縁キメラ、小林みかんと金柑子温州、が現在も栽培されている。つまり、かんきつ類の合成キメラ形成は可能で、そのキメラ構造は一過性ではなく、長い年月安定している実例があるのは事実である。

そして、1988年、農水省果樹試験場口ノ津支場（現果樹研究所かんきつ部）は、オレンジと夏みかんの珠心胚実生を材料とし、上胚軸の寄せ接ぎの切断面から合成周縁キメラを得ることに成功した²⁾。この画期的な成功がなければ、当社のキメラ研究プロジェクトは発足しなかったものと思われる。

かんきつ類の果実では、植物体全体の表皮細胞と同じ由来の細胞が、果肉の構成に大きく関与している。他の果実とは全く異なるこの特異な構造にこそ、かんきつ類周縁キメラに大きな実用価値が見出される。かんきつ類の果実に見られるサイズ、形、色などの多様さは、予想される合成周縁キメラの果実への期待を膨らませる。しかしながら、両構成種の特徴がキメラ体としてどのように現れるのかは、まだ明らかになっていない。そのため、まず、様々な組合せの合成周縁キメラを実際に作出し、キメラ体の形質発現を明らかにすることは、将来、計画的なキメラ育種の成否を判断する上で不可欠と考えた。

3. 合成周縁キメラ作出技術開発の概略

本プロジェクトの目標は、キメラを利用して計画的な品種開発が成り立つのかどうかを明確に実証すること、さらに、かんきつの新しいキメラ品種を提供することであった。

実際には、合成キメラの利用にあたって、未解決の基本的な問題がある。まず、①任意の種（品種）組合せにおいて、遺伝的に異なる細胞が茎頂分裂組織を形成するのか、②形成後、成長過程で細胞間に選択が働かず、両者共存し機能し得るのか、③一定のキメラ構造が長い年月変化せず維持され続けるのか、など、他にもたくさんある。ここでは、それらについての論議³⁾には詳しく触れないが、タバコなどの実験植物では、②に対する否定的見解を示す研究がいくつか知られている。一方、前述の偶発的な合成キメラかんきつが現存している事実は、③を肯定する好材料である。このようにキメラ植物にはまだ理解さ

れていない問題が多いが、かんきつキメラの実用化のためには、一つ一つ実証することによって解決しなければならない。

かんきつ類の合成キメラ形成率は、先行していた研究例から考えて、きわめて低いと予想された。そのため、まずは、キメラの再現性を高めることが先決であった。本プロジェクトで最も重視した研究は、キメラ不定芽のキメラ構造を早期に把握することであった。それには、PCR-RAPD法は有効な手段であった。不定芽発達初期にきわめて少量のサンプルでキメラのスクリーニングが実施できたからである。キメラスクリーニングに効果的なランダムプライマーの選定には労力をかけた。現在は、フローサイトメトリーによる倍数性キメラのスクリーニングも実施している。

1995年から8年間に、10,774個の不定芽をPCR-RAPD分析し、197個がキメラであることを確認した（一部はフローサイトメトリーによる）。キメラ形成率（分析不定芽数に対するキメラ不定芽数）は、実施したカンキツ属同士、およびカンキツ属とキンカン属（ニンボウキンカン）のいずれの組合せ実験でも、約1～2%でほぼ同じであった。一定の率であることは、実用技術としての必須条件である。

つぎに、実用品種とするには、周縁キメラの構造でなければならない。伸長した枝の展開葉の表皮組織の細胞と葉肉組織の細胞のそれぞれをRAPD分析し、L1と、L2・L3のそれぞれの種（品種）を識別することにより周縁キメラ構造を確認した（一部はフローサイトメトリーによる）。現在までに、21種類の組合せで、合計48個が合成周縁キメラであることを確認した（表1）。残りについては現在調査中である。

本プロジェクトでは、全く別の側面から重要な課題はコストであった。キメラ形成率とコストパフォーマンスの向上は必ずしも一致しない。そこで、コストパフォーマンスを優先し、技術の省力化は実用技術の重要な要素と位置付けた。不定芽育成作業の大半を占めていた不要不定芽の切除工程は、接ぎ木面を

表1 作出したかんきつ合成周縁キメラのキメラ組合せ

組合せ	L1	/	L2・L3
1	オレンジ	/	ウンシュウ
2	ウンシュウ	/	オレンジ
3	ウンシュウ	/	ブラッドオレンジ
4	オレンジ	/	ポンカン
5	ポンカン	/	オレンジ
6	ブラッドオレンジ	/	ポンカン
7	ポンカン	/	ブラッドオレンジ
8	黄金柑	/	ポンカン
9	ポンカン	/	黄金柑
10	ウンシュウ	/	黄金柑
11	シークワシャー	/	オレンジ
12	オレンジ	/	シークワシャー
13	シークワシャー	/	ポンカン
14	フェアチャイルド	/	オレンジ
15	ポンカン	/	日向夏
16	不知火	/	オレンジ
17	キンカン	/	黄金柑
18	キンカン	/	オレンジ
19	キンカン	/	ポンカン
20	ライム	/	レモン
21	レモン	/	ライム

注) 合成周縁キメラの外観はL2・L3の構成種に似ており、果肉はL1とL2でできる。
8~10, 12~21の合成周縁キメラでは、まだ果実をみていない。

従来のほぼ垂直から本研究では水平にすること（水平上下接ぎ）によって、完全に省略することができた。結果として、キメラ形成率はほぼ変動なく、キメラ不定芽作出の作業量は、約1/2まで削減することに成功し、かつ、作出効率（接ぎ木実数に対するキメラ不定芽数）は、平均値で約0.5%から2%以上へと大幅に改善することができた。

本研究では、Winklerの方法をはじめいくつかの接ぎ木方法を試みたが、基本的には、どのような接ぎ木の形でもキメラが得られた。したがって、異種の接ぎ木接合部に不定芽が発生する条件を整えば、キメラの形成は可能であると考えた。かんきつ類の珠心胚実生の胚軸組織は高い不定芽形成能力があるので、キメラ作成の材料としては好都合である。

しかしながら、主要なかんきつの中には、単胚性、あるいは無核（種なし）であるため、種（品種）や系統の特性をそのまま受け継いだ実生が得られないものもある。そのため、枝など不定芽形成能力の低い組織を使用せざるを得ない。その場合、胚軸組織では必要の

なかった不定芽形成を促す工夫が必要であった。その結果、枝梢組織と珠心胚実生胚軸組織との接ぎ木によるキメラ作出を可能にした。これにより、「日向夏」の枝梢を使用して合成周縁キメラの作出に成功し、単胚性かんきつからもキメラが作出できることを実証した。さらに、ほぼ無核の交雑育成品種「不知火」や、3倍体で無核のタヒチライムの枝梢からも合成周縁キメラ作出に成功した。

4. キメラ新品種の育成

現在、圃場で高接ぎ育成している合成周縁キメラは、43系統になるが、そのうち23系統ではすでに果実が得られた。予想通り、これ

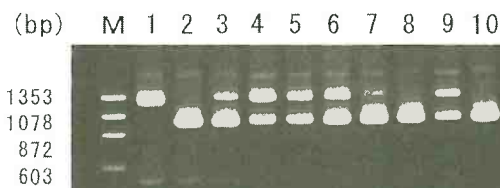


図1 合成周縁キメラ「エクリーク15」の全葉および果実のRAPD分析

（エクリーク15のL1はウンシュウミカン、L2・L3はハムリンオレンジ）

M: DNAサイズマーカー (ϕ X174/Hae III digest),
1: ウンシュウミカン, 2: ハムリンオレンジ,
3~10: エクリーク15,

3: 全葉, 4: 砂じょう先端側半分, 5: 砂じょう基部側半分, 6: 砂じょうを含む果皮, 7: 砂じょうを含まない果皮, 8: アルベド, 9: じょうのう膜, 10: 胚

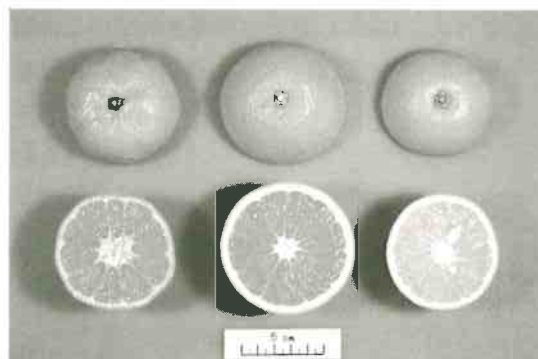


図2 合成周縁キメラかんきつ「エクリーク15」の果実（中）

（左：ウンシュウミカン、右：ハムリンオレンジ）

らキメラ果実の外観は、L2・L3を構成する種（品種）とよく似ており、果肉は、新しい特長を示した。さらに、砂じょうがL1由来の細胞だけではなく、キメラの両構成種の細胞で成り立っていることを、DNAレベルではじめて明らかにした（図1）⁴⁾。砂じょうがL1とL2の両方に由来することは組織発生学的には知られていたが、成熟した砂じょうについて、直接検証したのは本研究が初めてである。これは、キメラの品種開発において、果肉の特性を設計する上できわめて重要な知見である。

最初に作出した合成周縁キメラは、3年間の果実特性調査を経て、2002年3月に「エクリーク15」(Ecriec, いちご)の名で品種登録の出願をした³⁾。その作出開始から6年後であった。樹体、枝葉、果実の外観は全くハムリンオレンジに似ているが、果肉はオレンジとウンシュウミカンの細胞からできており、オレンジの芳香と日本のみかん特有のまろやかな甘さが一つの果実に組み込まれ、これまでになかったきわめてユニークなオレンジである（図2）。成育は旺盛で、きわめて豊産性であることは、L2とL3がオレンジそのものであることによる。近日中（2003年3月）にはポンカンとオレンジの合成周縁キメラについても出願を予定している。

5. おわりに

最近、健康づくりを目指し、「果物野菜1日5品目」（アメリカ）や「毎日くだもの200グラム」（日本）運動が展開されている。植物を研究する立場からは、新しい理論や技術

の開発が、魅力的な新しい果物の提供に直接結びつくことによって、これらに貢献できることを期待している。

果樹でこれほど多数の合成周縁キメラを得た例はこれまでになく、このことによって、キメラの利用が計画的な品種開発に役立つものと考えられた。今後多くのキメラ品種が登録され、また、それらが近い将来商品になることで、本プロジェクトの最終目標が達成されることを願っている。

なお、本研究は、生物系特定産業技術研究推進機構、愛媛県農業協同組合連合会、愛媛県、愛媛県信用農業協同組合連合会、三菱重工業株式会社、四国製罐株式会社の出資により設立された、(株)愛媛柑橘資源開発研究所の研究事業の一つとして実施されたものである。

文 献

- 1) Frost, H.B. (1948), in *The Citrus Industry*, vol.1. (Webber, H.J. and Batchelor, L.D., Eds.) 884, Univ. of California Press, Barkley.
- 2) 久原重松 (1988), *ブレインテクノニュース*, 4, 10-12.
- 3) 農林水産省品種登録出願公表, 公表番号14549, 「エクリーク15」, 公表日平成14年(2002)9月4日.
- 4) Sugawara, K. et al. (2002), *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127, 104-107.
- 5) 脇塚 巧 (1999), *果樹種苗* 73, 1-5.

◀国内情報▶

異常プリオン蛋白質を分解する新規酵素について

明治製菓株式会社,¹独立行政法人 農業技術研究機構動物衛生研究所
 プリオン病研究センター,²同研究所安全性研究部
 三輪岳宏・村山裕一¹・吉岡 都²・横山 隆¹・
 三浦克洋²・黒川 知・西澤耕治

牛海綿状脳症 (BSE) などプリオン病の原因となる異常プリオン蛋白質 (PrP^{Sc}) は、通常の殺菌処理に対してきわめて強い抵抗性を示す。そのため、一般の器具・機器に対して応用が可能な PrP^{Sc} の不活化方法の確立が求められていた。本研究では、培養上清に強力な PrP^{Sc} 分解能をもつ酵素を分泌する *Bacillus* 属の細菌を見出した。本菌の酵素により PrP^{Sc} の感染性を消失させることができれば、BSE などの消毒・浄化に役立つ可能性がある。

1. はじめに

2001年に始まった日本国内での牛海綿状脳症 (BSE) の発生は、国内における消費者の牛肉離れを引き起こした。それにより生産農家をはじめ、国内の経済に大きな影響を与え、社会的に深刻な問題となっている。また、特に英国において発生した BSE との関連性が疑われている若年層での変異型クロイツフェルトヤコブ病の発症は、消費者にとって牛肉を食べることにより感染の危険性があるとの不安を拭えない材料となっている。このように、食肉の安全性の確保や、BSE の感染経路として疑われているため使用できなくなった肉骨粉の処理等、解決すべき課題が山積みとなっている現状がある。

BSE、クロイツフェルト・ヤコブ病やスクレイピーなどの発症の原因となる物質は、異常プリオン蛋白質 (PrP^{Sc}) であると考えられている。通常、PrP^{Sc} の多くは感染動物の脳や脊髄などに存在する。しかし屠畜場などにおいて、感染動物が紛れ込むような事態が起きた場合は、解体作業で行われるスタニング、ピッシング、背割りなどの段階で、体外へと

MIWA Takehiro, MURAYAMA Yuichi¹,
 Yoshioka Miyako², YOKOYAMA Takashi¹,
 MIURA Katsuhiko², KUROKAWA Satoru,
 NISHIZAWA Kouji

〒104-8002 東京都中央区京橋2-4-16

^{1, 2} 〒305-0856 茨城県つくば市観音台3-1-5

拡散する可能性がある¹⁾。そのような場所や施設では、使用する器具や機器などを介した 2 次感染の防止に大きな関心を寄せている。

しかし、この PrP^{Sc} はウイルスなど他の感染病原体とは異なり、通常のオートクレーブ処理や消毒薬に対して極めて高い抵抗性を示す²⁾。現在、PrP^{Sc} 不活化のために行われている方法では、130℃以上の高温高压処理を行うための特別な機器が必要であったり、強アルカリ処理など、強い薬剤を用いて処理する必要がある。これらの方法では、処理した器具や機器などが損傷する可能性が高い。そのため、PrP^{Sc} に曝される可能性がある屠畜場や医療現場などで使用されている器具や機器、または施設などに対して応用が可能な、PrP^{Sc} の不活化方法が求められている。

そこで我々は比較的穏やかな処理方法により、器具や機器を損傷することなく容易に PrP^{Sc} の不活化処理が可能な方法として、酵素的に PrP^{Sc} を効率よく分解させることを考えた。本研究においては、従来の蛋白分解酵素に比べて高い PrP^{Sc} 分解活性をもつ酵素の探索を実施した。

2. PrP^{Sc} の特性と検出方法

PrP^{Sc} は、通常脳内に存在する正常型プリオン蛋白質 (PrP^C) の立体構造が変化したプリオン蛋白質であり、PrP^C と PrP^{Sc} はアミノ酸配列が同一である。それぞれのプリオン蛋

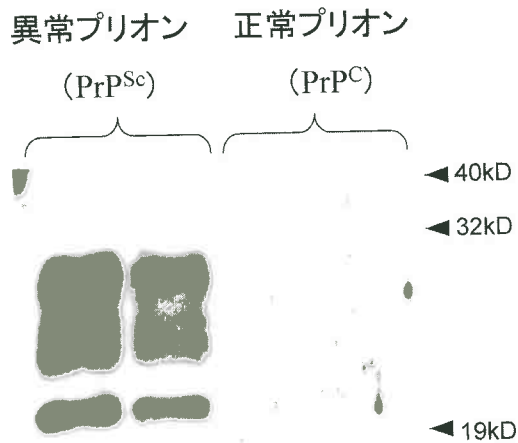


図1 Proteinase K (PK) によるプリオンの切断パターン

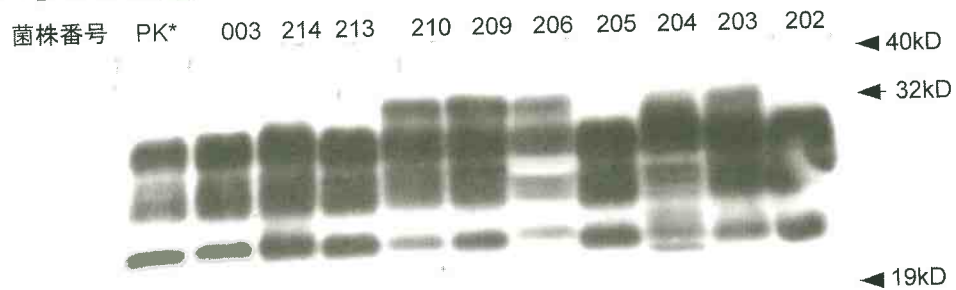
白質の立体構造の特徴として、PrP^Cはプリオン蛋白質中の α ヘリックス含有率が高く β シート含有率が少ないのに対し、PrP^{Sc}は β シート含有率が高いことがわかっている²⁾。すなわち、PrP^CからPrP^{Sc}への変化により β シート構造が増加し、これにより蛋白分解酵素による分解を受けにくくなると考えられている。また、培養細胞における半減期は、PrP^C

は分解されやすく約2時間であるのに対し、PrP^{Sc}は24時間以上を必要とするとされている²⁾。このことから、PrP^Cは生体内の蛋白分解酵素により容易に分解されるのに対し、PrP^{Sc}は難分解性であるため、中枢神経などに進行性に蓄積し病気をおこすと考えられる。実際に、現在のBSE確定診断ではこの特性を利用している。つまり、BSE感染の疑いのある牛の脳組織ホモジネートを調製し、それを蛋白分解酵素 (Proteinase K, 以下PK) で処理してPrP^Cを除去した後、分解されずに残ったPrP^{Sc}をウエスタンブロッティング法により検出する方法が採用されている。この場合、PrP^{Sc}はPKでは完全に分解されず、PrP^{Sc}の糖鎖の数の違いにより、分子量の異なる3本のバンドとして検出される (図1)。従ってこの3本のバンドが確認された場合はBSE陽性と判断される。

3. PrP^{Sc}の分解酵素の探索

上述したように、PrP^{Sc}はPKのような蛋白

Streptomyces属



Bacillus属

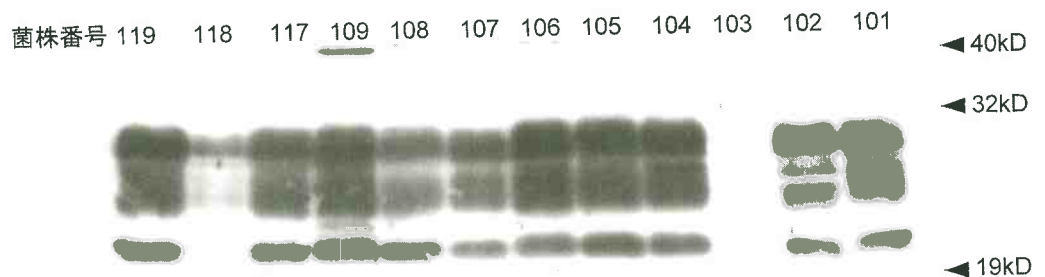


図2 各菌株の培養上清による異常プリオンタンパク質の分解

* Proteinase K (50 μ g/mL)

分解酵素による分解が困難な蛋白質である。このような難分解性の蛋白質は、自然界にも多く存在する。人毛や羽毛に多く含まれるケラチンなども β シートの含有率が高い難分解性蛋白質である。

そこで我々は、ケラチンの分解能を指標として明治製菓株式会社に保有する微生物バンクより最初のスクリーニングを行い、*Streptomyces*属10株及び*Bacillus*属12株を選抜した。

選抜したそれぞれ菌の培養上清、PrP^{Sc}（マウス継代スクレイピー帯広株）感染脳1%ホモジネートとを混和した後、酵素反応を行った。その際、PK溶液（50 μ g/ml）を酵素標準溶液として用い、同様の方法で酵素反応を行った。その後、反応混液をアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）で分離し、ウサギ抗PrP抗体を用いて残存するPrP^{Sc}について、ウエスタンブロッティング法により検出することでPrP^{Sc}分解能の評価を行った。

その結果、図2上に示すように、*Streptomyces*属10株の培養上清ではいずれも消化されないバンドが3本確認され、そのPrP^{Sc}分解能は酵素標準溶液と同等かそれ以下であった。いっぽう、*Bacillus*属12株の試験では、菌株番号（#）103および118を除く10株の培養上清は、3本のバンドが認められたが、#103の培養上清ではバンドは全く認められなかった。すなわち、#103株の菌株上清は、PrP^{Sc}をウエスタンブロッティング法で検出できない大きさまで消化し、PKや他の菌株の培養上清に比べはるかに効率よくPrP^{Sc}を分解する酵素を含んでいることが示された。我々は#103株をMSK103株と命名したので、以下この表記を用いる。

4. 他のPrP^{Sc}株に対する酵素の分解能力

プリオン蛋白質は、動物種によりアミノ酸配列が異なり、種間のアミノ酸配列の相同性は87~94%であり、数個~30個以上のアミノ酸残基の相違を示す²⁾。このようなアミノ酸

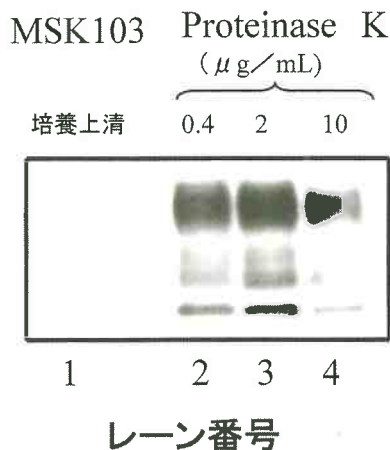


図3 *Bacillus* MSK103株培養上清によるスクレイピー感染羊脳由来異常プリオン蛋白質の分解

配列の相違は、蛋白分解酵素によるPrP^{Sc}の分解に影響を与える可能性がある。

本試験において用いた異常プリオン蛋白質は羊スクレイピー由来PrP^{Sc}をマウスで継代したものであるため、そのアミノ酸配列はマウスに一致する。そこで、*Bacillus*属MSK103株の培養上清が羊本来のPrP^{Sc}蛋白質に対しても分解効果を発揮するか否かを調べるため、スクレイピーに感染した羊の脳のホモジネートを用いてウエスタンブロッティング試験を行った。

その結果、図3に示したように、対照の酵素標準液では蛋白分解酵素抵抗性バンドが3本残存するが、MSK103株の培養上清は、PrP^{Sc}をウエスタンブロッティング法では検出できないレベルまで分解していた（レーン番号1）。このように、MSK103株の培養上清は羊スクレイピー由来PrP^{Sc}に対しても高い分解活性をもつことが明らかとなった。今後、本菌株の産生する酵素が種々のPrP^{Sc}を分解するか否かを明らかにする必要がある。特に、日本国内のBSE感染牛のPrP^{Sc}株に対するMSK103株産生酵素の分解能力を明確にすることは重要である。

5. おわりに

本研究において、スクレイピーなどの感染

性プリオン蛋白質に対して高い分解活性を有する酵素を産する *Bacillus* 属細菌 MSK103 株を見出した。現在、この菌株の培養上清中に含まれる酵素の単離・精製を行い、この酵素の理化学特性について調べている。

PrP^{Sc} と同様 β シート構造やジスルフィド結合が多く疎水性で難分解性のケラチンを分解する蛋白分解酵素は、ケラチナーゼとして知られており、ある種のケラチナーゼは PrP^{Sc} をも分解することが報告されている。このケラチナーゼ産生菌の培養上清と比較しても、MSK103 株の培養上清中の酵素の PrP^{Sc} 分解能ははるかに高かった。今後、この酵素により処理した PrP^{Sc} を動物に接種し、感染性の消失を証明する予定である。これが証明されれば、BSE やクロイツフェルト・ヤコブ病のプリオンによる汚染器具、例えば屠畜用器具や検査用具、医療分野における高額医療機器などの洗浄に用いることにより 2 次感染の防止に役立ち、BSE の清浄化にも貢献

できるものと期待される。

このような技術は、食肉の安全性の確保や、牛肉への消費者の不安の払拭、牛肉消費のいっそうの回復、牛生産農家の安定経営などにも貢献するものと考え、早期の製品化の実現をめざしている。

文 献

- 1) 山内一也 (2002), プリオン病の謎に迫る, p.200-1, NHK BOOKS, 東京
- 2) 小野寺節ら (2001), 脳とプリオン—狂牛病の分子生物学—, 朝倉書店, 東京
- 3) 三輪岳宏ら (2002), 難分解性タンパク質を分解する新規なプロテアーゼ, 特許出願中
- 4) 村山裕一ら (2003), 異常プリオン蛋白質を分解する新規酵素, 動物衛生研究成果情報 No.2 (印刷中)



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
すり身排液からの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 ………………山田バリーダ・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)
rheinはTGF- β によって誘導される尿細管上皮
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▶

海藻クロメ由来フロロタンニンの殺菌作用

¹熊本県水産研究センター, ²財化学及血清療法研究所, ³九州大学
長山公紀¹・岩村善利²・中村孝³

褐藻クロメが含有するフロロタンニンは、腸炎ビブリオ、サルモネラ、病原性大腸菌O-157、レジオネラ、MRSAなどの病原菌に対して殺菌作用を示した。腸炎ビブリオに対しては即効性があり、最小殺菌濃度（MBC）の2倍濃度において0.5～2時間以内に菌は死滅した。フロロタンニンの経口摂取による体重増加率等への影響をマウスで試験したが、悪影響は確認されなかった。

1. はじめに

我が国での海藻利用は食用を中心としており、安定した消費があるコンブやノリ、ワカメ、ヒジキなどは漁家経営上重要な水産物となっている¹⁾。また、アルギン酸やフコイダンなど機能性物質の抽出原料として利用されている種もある。しかしながら、こうした海藻は全体のほんの一部であり、未・低利用の種もまだ多く存在する。本研究は未・低利用海藻の機能性成分を利用することを目的として始められた。

今回研究に用いたクロメは、本州中南部の太平洋岸や四国、九州沿岸などに自生するコンブ科の大型褐藻であり、1～2mに生長する。一部の地域では食用やアワビ等の餌料として用いられてきたものの、その消費量は限られている海藻である。クロメ中には、フロロタンニンというポリフェノールが含まれていることが知られているが、フロロタンニンは単一物質の名称ではなく、phloroglucinolを基本構造とする重合体の総称である。その機能性に関する報告はいくつかある。例えば1985年にFukuyama et alは酵素阻害成分としてクロメから取り出した物質が数種のフロロタンニンであることを報告している²⁾。またNAGAYAMA Koki¹, IWAMURA Yoshitoshi², NAKAMURA Takashi³

¹〒869-3603 熊本県天草郡大矢野町中2450-2

²〒869-1298 熊本県菊地郡旭志村川辺

³〒812-8581 福岡市東区箱崎6-10-1

た、Nakamura et alは同物質を抗酸化性成分としてクロメと同じコンブ科の褐藻アラメ中に見出しており³⁾、最近ではNagayama et alにより、クロメ由来のフロロタンニンが赤潮の原因となる微細藻類の殺菌作用を持つことも確認された⁴⁾。本稿では、クロメ由来フロロタンニンの食中毒菌やレジオネラ、MRSA等に対する殺菌作用と、マウスを用いた経口摂取による安全性試験の結果を紹介する。なお、本研究結果の一部はJournal of Antimicrobial Chemotherapyに掲載された⁵⁾。

2. フロロタンニンの調製

熊本県天草地方で採取したクロメ（図1）を真水で洗浄後、風乾したものを粉碎し、メタノールとともに振とうして抽出物を得た。抽出物を濃縮後、クロロホルム/メタノール

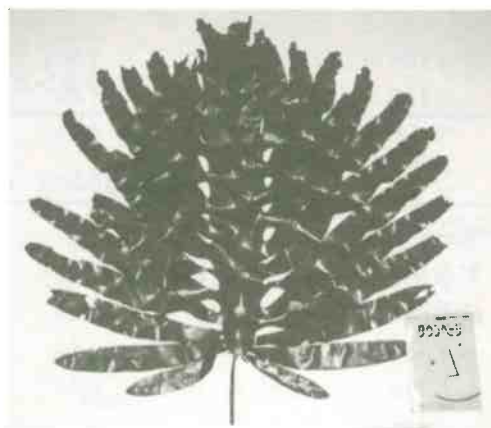


図1 クロメ (*Ecklonia kurome*)

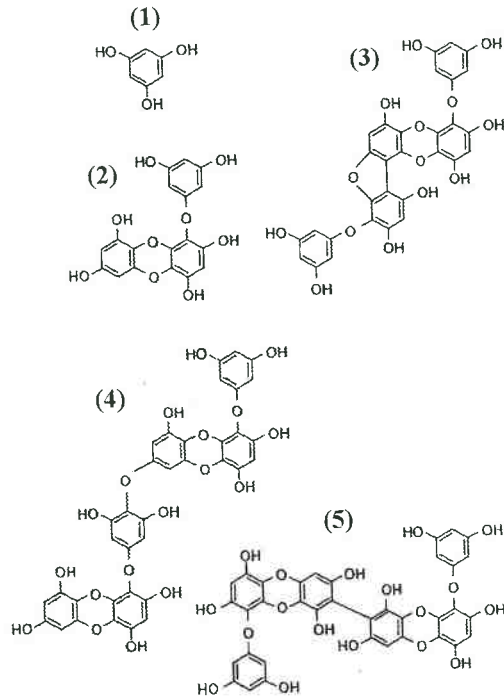


図2 フロロタンニンの構造式

(1) phloroglucinol, (2) eckol, (3) phlorofucofuroeckol A, (4) dieckol, (5) 8,8'-bieckol

／水で分別した上層部を酢酸エチルで再抽出して粗フロロタンニンを得た。粗フロロタンニンの収量は乾燥クロメの3～5%であり、数種のフロロタンニンを主成分とするフロロタンニンの混合物である。これを用い、5種のフロロタンニン、すなわちphloroglucinol (単量体), eckol (3量体), phlorofucofuroeckol A (5量体), dieckol (6量体), 8,8'-bieckol (6量体) (図2) をケイ酸クロマトグラフィーで精製した。

3. 殺菌作用の評価

病原菌として、(財)化血研が保有する標準株および臨床分離株を用いた。殺菌作用の評価は、菌数を $10^4 \sim 10^6$ cfu/mLに調整した液体培地に所定濃度になるようにフロロタンニンを添加した後、一定時間ごとに生菌数を数え、24時間後の生菌数が初発の0.1%以下に減少したフロロタンニンの添加濃度を最小殺菌濃度(MBC)とした。また、腸炎ビブリオとレジオネラについては、液体培地の代わりにそれぞれ海水またはリン酸緩衝液(PBS)を用いた試験も行った。

粗フロロタンニンは、試験した病原菌(32種)全てに対し殺菌作用を示した。主な病原菌に対するMBCを表1に示すが、レジオネラやカンピロバクター、MRSAなどに対す

表1 主な病原菌に対する粗フロロタンニンの最小殺菌濃度(MBC)

菌名	MBC (mg/L)
黄色ブドウ状球菌	100
セレウス	200
病原性大腸菌 O-157	200
サルモネラ	200
腸炎ビブリオ	200 (25)
カンピロバクター	50
MRSA	100
ヘリコバクター・ピロリ	50
レジオネラ	25 (3)
セラチア	100

() 内は海水またはPBS中でのMBC

表2 各フロロタンニンとEGCGのMBC (mg/L)

菌名	フロロタンニン					EGCG
	phloroglucinol	eckol	ph. A	dieckol	8,8'-bieckol	
MRSA	>800	200	200	100	100	200
セレウス	>800	400	400	400	400	800
病原性大腸菌 (O-157)	>800	200	400	200	400	800
サルモネラ	>800	200	200	200	200	800
腸炎ビブリオ	>800	400	200	200	200	200
カンピロバクター	100	25	50	25	50	13

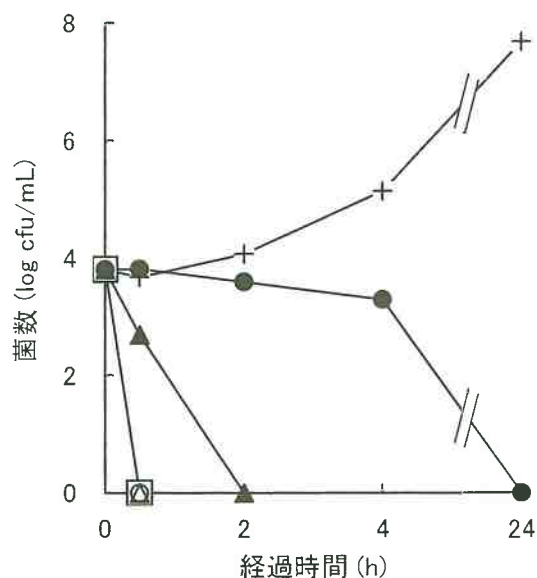


図3 各フロロタンニンおよびEGCGの添加(2×MBC)による腸炎ビブリオ菌数の変化

+: 対照, □: eckol, △: phlorofucofuroeckol A, ○: dieckol, ▲: 8,8'-bieckol, ●: EGCG

るMBCが低く、特にレジオネラに関してはPBS中でのMBCは3 mg/Lであった。

次に、粗フロロタンニンから精製した5種のプロロタンニン (phloroglucinol, eckol, phlorofucofuroeckol A, dieckol, 8,8'-bieckol) と、茶葉由来ポリフェノールであるエピガロカテキンガレート (EGCG) のMBCを比較した結果を表2に示す。各フロロタンニンの殺菌力は同程度の強さであり、総じてEGCGよりも強かったが、カンピロバクターはEGCGに対して最も感受性があった。また、単量体のphloroglucinolは殺菌作用をほとんど持たず、重合体のeckolやphlorofucofuroeckol A, dieckol, 8,8'-bieckolの方が殺菌作用を持つことが判った。腸炎ビブリオに関しては、MBCは他菌と比較して特に低い値ではないが、フロロタンニンの添加濃度がMBCを超えた場合に殺菌作用が短時間で得られることが判った。その結果を図3に示す

表3 粗フロロタンニンを摂取したマウスの体重増加率

試験	性別	飲水中の粗フロロタンニン濃度	粗フロロタンニン摂取量 (mg/kg)	体重増加率 (%)	
				7日後	14日後
試験 I	雄 (n=10)	5,000 mg/L	1,500	116.9±1.1	127.1±2.9
		2,500 mg/L	680	116.5±0.9	127.4±1.6
		1,250 mg/L	347	115.0±0.7	125.5±1.1
		625 mg/L	170	115.0±1.4	124.7±1.5
		0	0	117.3±0.6	128.7±1.1
	雌 (n=10)	5,000 mg/L	1,286	110.6±2.8	120.1±1.3
		2,500 mg/L	619	107.3±0.9	117.0±1.6
		1,250 mg/L	345	107.9±1.4	115.4±2.4
		625 mg/L	199	108.8±0.9	119.6±2.3
		0	0	109.2±1.3	118.1±1.3
試験 II	雄 (n=10)	5,000 mg/L	168.2	115.6±1.0	126.6±1.4
		2,500 mg/L	80.7	115.2±0.9	126.7±1.3
		1,250 mg/L	42.3	118.9±1.8	130.1±1.8*
		625 mg/L	20.8	114.3±0.5	125.5±1.0
		0	0	114.7±1.0	125.1±1.2*
	雌 (n=10)	5,000 mg/L	193.7	107.7±0.8	117.9±1.1
		2,500 mg/L	92.0	106.1±0.9	115.8±2.0
		1,250 mg/L	49.3	109.2±0.9	121.3±1.8
		625 mg/L	24.5	108.1±1.2	116.4±1.8
		0	0	108.0±1.4	116.2±1.4

* 有意差あり (p<0.05)

が、MBCの2倍濃度において、eckol, phlorofucofuroeckol A, dieckolは0.5時間後に菌は死滅し、8,8'-bieckolでも2時間後には死滅した。この現象は腸炎ビブリオに特徴的なものであったが、その理由は不明である。しかしながら、ポリフェノールは菌の細胞膜を損傷させることで抗菌・殺菌作用を示すと考えられており⁶⁾、腸炎ビブリオは他菌と比べて増殖速度が早いことから、分裂直後の未成熟な細胞膜はフロロタンニンの作用をより強く受けているのかもしれない。一方、EGCGはMBCの2倍濃度においても4時間後までに殺菌作用を示さず、フロロタンニンのような即効性が確認されなかった。

4. フロロタンニンの経口摂取による安全性評価

試験にはICR系マウス(雄, 雌)を用いた。試験Ⅰでは、粗フロロタンニンを添加した水(5000, 2500, 1250, 625, 0 mg/Lの5濃度)を14日間自由に飲ませながら飼育し、試験Ⅱでは、粗フロロタンニンを前述の5濃度に調整した水1 mLを一気に強制経口投与して14日間通常飼育した(各区とも雌雄それぞれn=10)。両試験とも、生残率や体重増加率、一般状態(毛並み, 行動等)を調べた。その結果、いずれの試験区でもマウスの生残率は100%であり、体重増加率, 毛並み, 行動等にも異常は確認されなかった(表3)。フロロタンニンを摂取したマウスの体重をヒトに換算すると、試験Ⅰでは1日あたり最大90.0 g/60kg(雄), 64.3g/50kg(雌)のフロロタンニンを14日間摂取し続けたことになり、試験Ⅱでは最大10.1g/60kg(雄), 9.7g/50kg(雌)を一気に摂取したことになる。

本試験結果はフロロタンニンの経口毒性を調べたものであるが、場合によっては皮膚刺激や変異原性等の確認も今後必要となろう。

5. おわりに

ポリフェノールは広く植物界に分布する成

分であり、多くの種類がある。その機能性に関する報告も多く、例えば茶葉のカテキンは抗菌作用や抗酸化作用、あるいは消臭作用などの機能が報告されており、食品添加物などとして既に利用されている⁷⁾。また、ブドウ種子由来のプロアントシアニジンは血管機能改善作用を持つことから欧州では医薬品として使用されている⁸⁾。一方、海藻中のフロロタンニンについては、機能性に関する報告も陸上植物のポリフェノールに比べるとわずかであり、利用もされていないが、本稿で紹介したフロロタンニンの殺菌作用、特にレジオネラや腸炎ビブリオ等に対する作用は興味深いものであり、天然の殺菌成分としてフロロタンニンが有用な物質であることを示唆するものである。実際、本研究結果は食品や飼料、公衆衛生など各方面の企業に興味を示していただき、フロロタンニンのサンプル提供の依頼も受けている。今後は、こうした企業とも連携しながら、効果的なフロロタンニンの使用方法の検討や、低コストで簡便な抽出方法の開発、原料海藻の安定確保技術の検討など行う予定にしており、早期の実用化を目指したい。

文 献

- 1) 山田信夫(2000), 海藻利用の科学, 成山堂, 東京
- 2) Fukuyama, Y. et al (1985), *Chem. Lett.*, 739-742
- 3) Nakamura, T. et al (1996), *Fish. Sci.*, 62, 923-926
- 4) Nagayama, K. et al (2003), *Aquaculture*, 218, 601-611
- 5) Nagayama, K. et al (2002), *J. Antimicrob. Chemother.*, 50, 889-893.
- 6) Ikigai, H. et al (1993), *Biochim. Biophys. Acta*, 1147, 132-136.
- 7) 村松敬一郎(1991), 茶の科学, 朝倉書店, 東京
- 8) 有井雅幸(2000), 食品と開発, 35, 11-14

◀国内情報▶

穀物自動乾燥調製装置(グレインプロセッサ)の開発

生物系特定産業技術研究推進機構 生産システム研究部 乾燥調製システム研究
久保田興太郎・日高靖之・市川友彦

乾燥から精米に至る一連の作業を自動で行うことのできる新しい装置、グレインプロセッサを開発し、共同研究実施会社により市販化された。グレインプロセッサは、遠赤外線乾燥機構、遠心糶摺機構、研削摩擦精米機構、整粒一着色粒選別及び玄米一粉選別可能な色彩選別機構、残穀処理機構等を有し、衛生的な高品質穀物生産への寄与が期待される。また、タッチパネルにより操作が簡単にでき、かつ低騒音であり、作業環境が改善できる。調製部は装置全体を一つの機枠に収めコンパクトである。なお、グレインプロセッサは、精米排出、玄米排出が可能で、精米出荷、玄米出荷に対応できる。[本開発は、生物系特定産業技術研究推進機構の21世紀型農業機械等緊急開発事業の一環として行われたものである。]

1. はじめに

低コストで高品質な米生産を行い、消費者ニーズに応え、農業経営の安定化を図るために、乾燥機や調製機等の高性能化、低コスト化が必要である。

現在、収穫された籾は、農家、農業組合等により、乾燥、糶摺、選別等が行われ、多くは玄米で出荷されている。食品として穀物を捉え生産地で加工まで行うことは、生産者の経営安定、農村の繁栄等に寄与しうるものとする。このような考えのもと、玄米出荷にとどまらず精米まで行って、付加価値を付け、販売する農家、農業組合等も増加している。しかし、従来の施設では糶摺、精米、選別装置を平床に並べ作業を行っていることから、工程毎に揚穀する必要がある、また、操作が複雑で、低コスト、作業性の観点から改善する必要がある。

そこで、遠赤外線を利用した乾燥機構及び遠心力を利用した糶摺機構を有し、乾燥、糶摺、選別、精米等を一貫して行うことのできる装置(穀物自動乾燥調製装置 [グレインプロセッサ:以下GP])の開発を行った。なお、KUBOTA Kotaro, HIDAKA Yasuyuki, ICHIKAWA Tomohiko
〒331-8537 さいたま市日進町1-40-2

本開発は、生物系特定産業技術研究推進機構と、共同研究実施会社の金子農機株式会社、静岡製機株式会社、株式会社山本製作所で行った。

2. GPの概要

GPの概要を図1に示す。GPは乾燥部、調製(糶摺・精米・選別)部から成り、乾燥部は遠赤外線乾燥方式で、糶摺部は遠心式、精米部は研削摩擦式であり、色彩選別部にはフラップエジェクト式とエアージェクト式がある。また、GPは精米排出のみならず、玄米排出も可能である。

乾燥が終了すると、調製部はその終了信号を乾燥部から受けて準備を開始し、その工程が終了すると、調製部は乾燥部に準備終了信号を送り、乾燥部は糶排出を始め調製部に糶を投入し、自動で調製作業が行われる。乾燥糶は糶摺部で糶摺され、風選部で粗穀選別、粒選部で屑米選別、石抜部で石を取除いたあと、精米部で精米を行い、小米抜部で小砕粒を除いた後、色彩選別部で着色粒選別を行う。玄米排出の場合は、石抜部から直接色彩選別部に入り糶選別を行う。一連の操作はタッチパネルにより簡単に設定できる。

基本構成は同様であるが、以下のように異

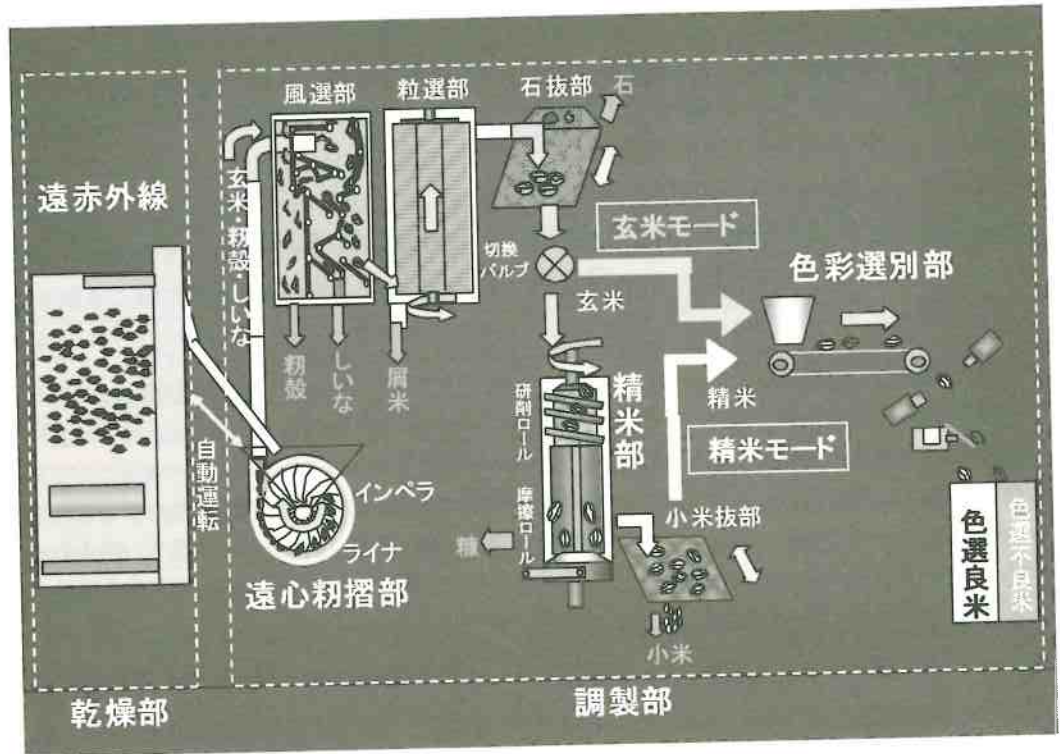


図1 GPの概要

なる3型式のGPを開発した。開発したGPの外観を図2，仕様を表1に示す。

1) GP02 I型：乾燥部は集穀室内放射体設置遠赤外線乾燥方式で，粉摺部は遠心式，精米部は2軸研削摩擦式，色彩選別部はフラップエジェクト式である(図2a)。

2) GP02 II型：乾燥部は熱風路内放射体設置遠赤外線乾燥方式で，粉摺部は遠心式，精米部は1軸研削摩擦式，色彩選別部はエアージェクト式である(図2b)。

3) GP02 III型：乾燥部は熱風路内放射体

設置遠赤外線乾燥方式で，粉摺部は遠心式，精米部は1軸研削摩擦式，色彩選別部はフラップエジェクト式である(図2c)。

図2及び表1に示すように，各型式とも調製部は装置全体を一つの機枠に収めコンパクトである。

3. GPの性能

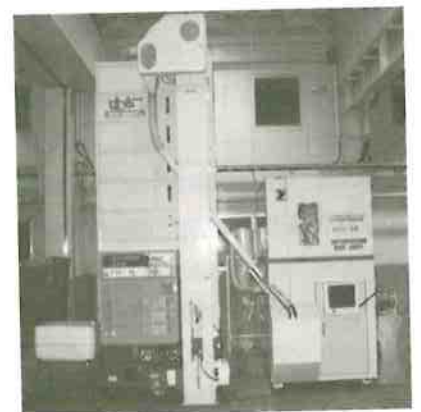
GPの性能を把握するため，乾燥終了と同時に調製部を稼働する，GPの乾燥—調製自



a) GP02 I型



b) GP02 II型



c) GP02 III型

図2 GPの外観

表1 GPの仕様

運 転 方 式			全 自 動			
乾 燥 部	乾 燥 方 式	遠 赤 外 線 式	調 製 部	初 摺 方 式	遠 心 式	
	最 大 張 込 量	3 t		精 米 方 式	研 削 摩 擦 式	
	機 体 寸 法	全 長		307 ~ 347 cm	選 別 方 式	光 学 式、比 重 式、篩 式
		全 幅		149 ~ 151 cm	毎 時 処 理 量	300 kg/h(玄米)
		全 高		391 ~ 408 cm	機 体 寸 法	全 長
	最 大 燃 焼 量	5.5 ~ 7.0 L/時		全 幅		123 ~ 205 cm
最 大 使 用 電 力	1.7 ~ 2.0 kW	全 高	224 ~ 235 cm			
			最 大 使 用 電 力	精 米 モード	6.4 ~ 6.6 kW	
				玄 米 モード	1.8 ~ 2.3 kW	

動運転 [精米排出及び玄米排出] 実験を行った。GP [乾燥部] については、乾燥前後の穀物質量、含水率、乾燥時間、燃料消費量、消費電力量を計測し、乾燥速度、除水率(熱)、除水率(電気)を求めた。GP [調製部] については、供給量、処理時間を計測し、毎時初処理量を求めた。また、色選良米口(精米、玄米)から排出される穀粒の温度、含水率、容積重、白度、胴割率、肌ずれ率、胚芽残存

率等を調査するとともに、GP [調製部] の機内残穀質量、及び、装置全体の消費電力を計測した。

自動運転実験結果を表2に示す。GP [乾燥部] については、乾燥速度は平均0.9%/hとなり、循環式熱風乾燥機と比較して、燃料で平均15%、電力で平均22%の節減効果を認めた。GP [調製部] では、毎時初処理量は平均376kg/h、消費電力は精米モード平均6.7kW、玄米モード平均1.9kWであった。機内残穀質量は精米モード平均0.06kg、玄米モード平均0.02kgであった。

GPは、乾燥から精米に至る一連の作業を自動で行うことができ、米は高品質な仕上がりであった。

4. 乾燥・初摺方法と品質

GP(遠赤乾燥+遠心初摺)と慣行法(熱風乾燥+ロール初摺)について、乾燥直後に初摺を行い、肌ずれ率等玄米品質を比較した。

乾燥・初摺方法と品質に関する実験結果を表3に示す。GPは、乾燥速度平均0.9%/hで、乾燥直後に初摺を行っても、肌ずれ率は平均5.2%であった。慣行法は、乾燥速度平均

表2 GPの仕様

自 動 運 転			◎
乾 燥 部	乾 燥 速 度	%/h	0.91
	比 除 水 率 (熱)	%	115.1
	比 除 水 率 (電 気)	%	122.1
	胴 割 率 の 増 加	%	0.3
精 米 排 出	毎 時 初 処 理 量	kg/h	379
	消 費 電 力 量	kW	6.7
	機 内 残 留 物 質 量	kg	0.06
	精 米 白 度	%	38.6
	胴 割 率 の 増 加	%	1.4
	胚 芽 残 存 率	%	8.0
玄 米 排 出	毎 時 初 処 理 量	kg/h	370
	消 費 電 力 量	kW	1.9
	機 内 残 留 物 質 量	kg	0.02
	肌 ず れ 率	%	5.2
	胴 割 率 の 増 加	%	0.2

[3型式の平均値]

表3 乾燥・初摺作業におけるGPと慣行法の比較

品 種	ひとめぼれ		キヌヒカリ		はえぬぎ		
	GP02 I型	慣行法	GP02 II型	慣行法	GP02 III型	慣行法	
運 転 方 法	自 動	手 動	自 動	手 動	自 動	手 動	
乾 燥 方 法	遠 赤	熱 風	遠 赤	熱 風	遠 赤	熱 風	
初 摺 方 法	遠 心	ロール(3インチ)	遠 心	ロール(5インチ)	遠 心	ロール(3インチ)	
乾 燥 速 度	%/h	0.96	0.58	0.72	0.88	1.06	0.95
胴 割 率 の 増 加	%	0.3	0.2	0.0	1.4	0.7	1.2
肌 ず れ 率	%	5.6	18.0	6.4	17.6	3.6	25.9
機 内 残 留 物 質 量 (調 製 部)	kg	0.02	1.94	0.01	4.65	0.02	2.39

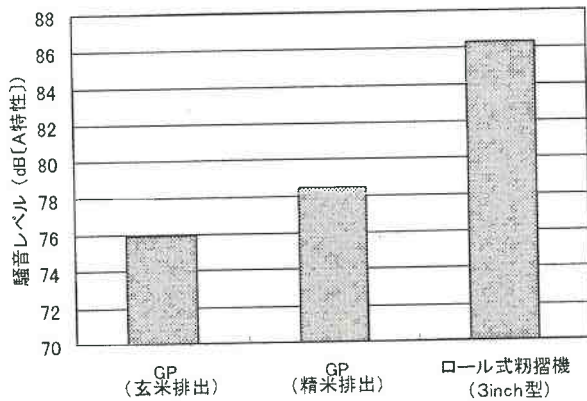


図3 GP [調整部] とロール式粳機の騒音

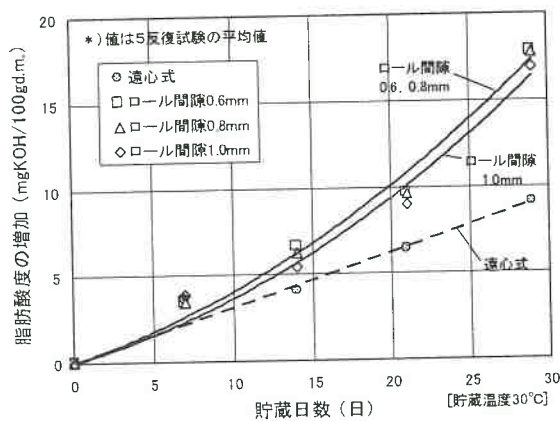


図4 粳方法と脂肪酸度の増加

0.8%/hで、乾燥直後に粳を行うと、肌ずれ率が平均20.5%となり、GPに比して高くなった。

機内残穀質量は、ロール式粳機が平均2.99kgに対し、GP [調整部] が平均0.02kgと極端に少なかった。

GPは、既存のシステムに比して、肌ずれが少なく高品質で、残穀が少なく衛生的な穀物生産の可能性が示された。

5. 騒音

調製作業は婦女子や高齢者により行われることが多く、そのため作業環境の改善を望む声も大きい。そこで、GP [調整部] と3インチ型ロール式粳機について運転時の騒音を測定した。騒音はJIS Z8731「騒音レベル

測定法」にもとづき、装置作業面からの距離1m、高さ1.2mの位置で測定し、一定時間の平均値を読み取った。騒音計は、精密騒音計(NL-31)を用いた。

騒音測定結果を図3に示す。GP [調整部] はロール式粳機に比して、玄米モードで10.4dB [A特性]、精米モードで7.9dB [A特性] 騒音を低減することができ、低環境負荷であることを確認した。

6. 粳方法と貯蔵性

遠心式粳機と試験用ロール式粳機を用い、玄米(はえぬき)の貯蔵性について調査した。ロール式粳機は、ロール間隙を0.6mm、0.8mm、1.0mmの3段階に設定し粳を行った。試料は、貯蔵温度30°Cの定温器中で貯蔵し、1ヶ月に渡り、1週間毎の脂肪酸度を測定した。この測定は5回反復し、貯蔵中の脂肪酸度の増加を求めた。なお、脂肪酸度はAACC 02-20A法により測定した。

粳方法と貯蔵性に関する実験結果を図4に示す。遠心式により粳した玄米は、ロール式により粳したものより、脂肪酸度の増加は緩やかな傾向を示し、貯蔵性の向上が期待された。

7. おわりに

GPは、乾燥から精米に至る一連の作業を、自動、かつ低騒音で行い、高品質な穀物の生産に寄与することが期待される装置で、平成15年1月に共同研究実施会社より市販化された。当然のことながら、GPは品質の悪い穀物を良くできるものではない。GPの性能を十分に発揮するためには、適切な栽培管理と適期収穫の励行が必要である。

最後に、GPの完成は共同研究実施会社3社の尽力によるところが大きい。また、開発遂行にあたり、農林水産省、農家等多くの方々の協力を頂いた。関係者各位に感謝する。

◀地域の先端研究▶

羊毛防縮加工に有用な新規酵素を生産する 微生物の探索

¹愛知県産業技術研究所 基盤技術部

²同所 食品工業技術センター ³同所 尾張繊維技術センター

茶谷悦司¹・安田(吉野)庄子²・山本周治³・北野道雄³・北本則行¹

羊毛のフェルト収縮を防止するために、塩素系薬剤による羊毛キューティクルの分解除去が行われているが、有害な吸収性有機ハロゲン (Absorbable Organic Halogens; AOX) が廃液中に排出され環境問題を引き起こすことが懸念されている。本研究では、AOXを発生させない羊毛防縮加工技術の確立を目指して、自然界より羊毛ケラチン分解能力の高いカビの分離を行い、羊毛防縮加工に適したケラチン分解酵素の検索を試みた。

1. はじめに

羊毛をはじめ獣毛繊維の表面は、うろこ状のキューティクルで覆われている。このキューティクルは、羊毛繊維が洗濯によって縮むという欠点を引き起こす原因になっている。従来、フェルト収縮を防止するために、羊毛のキューティクルを塩素系化学薬品で分解除去してから合成樹脂で羊毛繊維表面を覆う方法が主にとられてきた。この方法は、塩素系化学薬品の使用によって加工廃液中に有害なAOXが排出され、環境問題を引き起こす可能性が指摘されている。

このような背景から、染色加工業界では塩素系化学薬品を用いない防縮加工技術の開発が強く求められている。そこで、たんぱく質分解酵素を利用した防縮加工が注目され、研究開発が盛んに行われるようになった。これまで種々の市販たんぱく質分解酵素剤が検討されてきたが、実用的に満足できるものは得られていない^{1)~4)}。また、羊毛防縮加工に適用可能な酵素を生産する微生物の検索も行われているが、化学薬品による前処理などを必要とせず、酵素処理単独で十分な防縮性を付

与できるものは未だ見つかっていない⁵⁾。いずれの酵素剤も羊毛に作用させるとキューティクル層よりも、羊毛の構造形成に重要な役割を果たしている細胞膜複合体の非ケラチン成分に優先的に作用し、引張強度などの物性を低下させるため実用化に至っていないのが現状である。

そこで、われわれは羊毛繊維のキューティクル層を特異的に分解する新規酵素を生産するカビを自然界から分離し、分離菌の新規ケラチン分解酵素を羊毛防縮加工に適用するための検討を行った。カビから新規酵素を得ようとした理由は、カビは多種多様な酵素を生産し、かつ高いたんぱく質分泌能を有するため羊毛防縮加工用酵素の生産菌として有用であると考えられ、又これまでこの用途に検討された例がないことによる。ここでは、新規に分離したカビのケラチン分解酵素で処理した羊毛繊維の諸性質を評価することにより、羊毛防縮加工への適応可否を検討した結果を報告する。

2. ケラチン分解酵素生産菌のスクリーニング

(1) ケラチン分解酵素生産菌の分離

羊毛紡績・織布工場、畑などの土壌62検体を分離源として、ケラチン分解酵素生産菌を分離するために粉碎羊毛を分散させた最小寒

^{1, 2} 〒451-0083 名古屋市西区新福寺町2-1-1

³ 〒491-0931 一宮市大和町馬引字宮浦35

天培地を用いてスクリーニングを行った。その結果、コロニーの周辺にハローを形成するカビ、あるいはこの培地上で良好な生育を示し、明らかに形態の異なるカビ等を58株分離することができた。

粉碎羊毛を分散させた液体培地中に分離菌株が分泌するたんぱく質分解酵素の活性を、ケラチンおよびミルクカゼインを基質として測定した結果を図1に示す。分離した58株のたんぱく質分解酵素は、従来から羊毛処理に利用されている市販たんぱく質分解酵素剤(オリエンターゼ90N; エイチビィアイ(株)製)と対比して、ケラチン分解活性/カゼイン分解活性比が高くなっており、ケラチンに対してより特異的に作用することが確認された。つまりこのことは、分離菌株の酵素がキューティクルに優先的に作用し、羊毛を構成する他のたんぱく質への作用が市販酵素剤よりも少ないという特有の性質を有することを意味する。

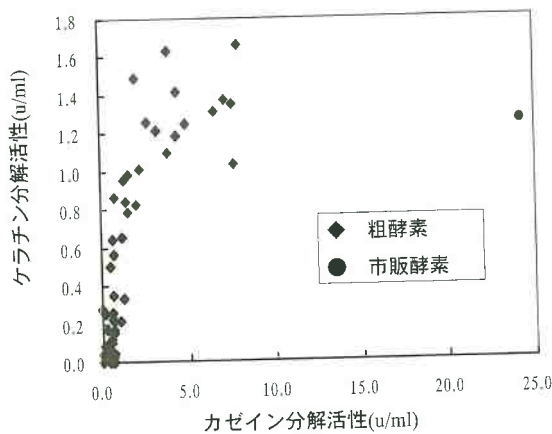


図1 酵素活性測定結果

(2) 粗酵素で処理された羊毛繊維の防縮性能と引張強度特性変化

特に高いケラチン分解活性を示した21株を選択し、それらの菌株が生産する酵素を作用させた羊毛繊維の外観変化を電子顕微鏡により観察した。キューティクル全体が激しく損傷し剥離しているもの、キューティクルエッジが部分的に剥離しているもの、キューティクル表面に皺がよったような変化の見られる

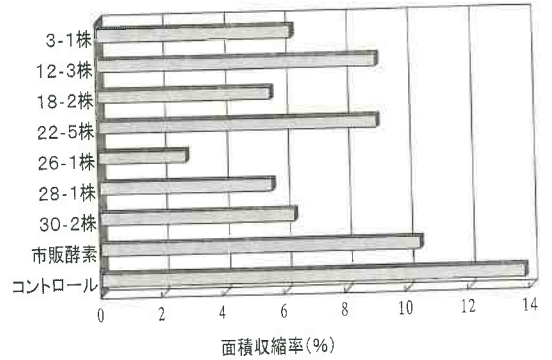


図2 酵素処理した羊毛布帛の防縮性能

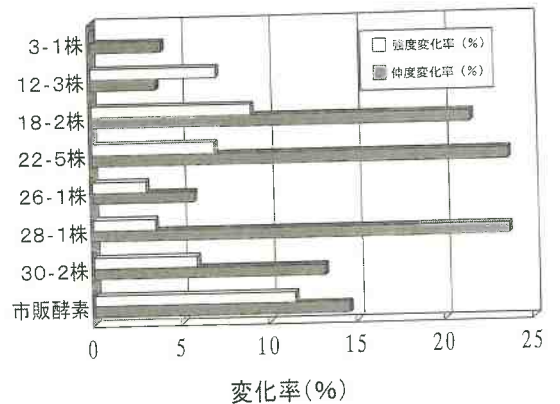


図3 酵素処理した羊毛糸の強伸度変化

ものなど様々な外観変化が認められた。このうち特に顕著な外観変化が認められた7株の粗酵素を羊毛織物に作用させ、防縮性能と糸の強伸度変化を測定した。

防縮性能は、JIS L 1042 G法(電気洗濯機法)に準じて行った。ここでは洗濯処理40回を行った後の面積収縮率(経方向の収縮率+緯方向の収縮率-経方向の収縮率×緯方向の収縮率/100)で防縮性能を評価した。図2に示すように、分離菌株由来の酵素を作用させることにより、酵素無添加のコントロールと対比して顕著に低い面積収縮率が得られた。最も良好な結果が得られた26-1株の酵素の場合、洗濯40回後の面積収縮率が2.8%にとどまり、市販酵素で処理した場合の面積収縮率10.4%より優れていた。

分離菌株由来の酵素で処理した羊毛繊維糸の引張強伸度特性を、酵素無添加のコントロールに対する低化率で評価した結果を図3に

示す。最も良好な結果が得られた26-1株の酵素の場合、羊毛繊維糸の強度低下率は3.0%であり、市販酵素で処理した場合の11.4%より低く抑えられていた。本酵素で処理した羊毛糸は、強度変化および伸度変化が非常に少なく、この点で品質良好なものであるといえる。

3. *Fusarium oxysporum* 26-1株のケラチン分解酵素の性質

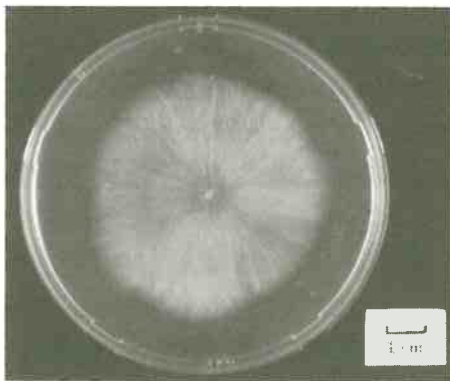
最良の結果を示した26-1株は、rDNA断片の塩基配列解析、寒天プレート上コロニー性状及び分生子形成構造体の形態的特徴の観察(図4)の結果から、*Fusarium oxysporum* に属するカビと同定された。本菌株は、羊毛粉末を窒素源として培養すると、菌体外にケラチン分解酵素を誘導生産した。ポリペプト

表1 新規ケラチン分解酵素と市販酵素の基質特異性

基 質	新規ケラチン分解酵素		市販酵素	
	活 性 (u/ml)	相対活性* (%)	活 性 (u/ml)	相対活性 (%)
カゼイン	1.586	100.0	30.066	100.0
ケラチン	1.432	90.3	1.861	6.2
ゼラチン	2.907	183.3	1.189	4.0
BSA	0.099	6.3	0.264	0.9
ホムアルブミン	0.330	20.8	0.529	1.8

相対活性*: ミルクカゼイン分解活性を100とする

ン、酵母エキス、硝酸ナトリウムなどを用いた場合のケラチン分解酵素の生産量は低かった。また炭素源の違いによる酵素生産量の差



(PDAプレート、25°C、1週間培養)

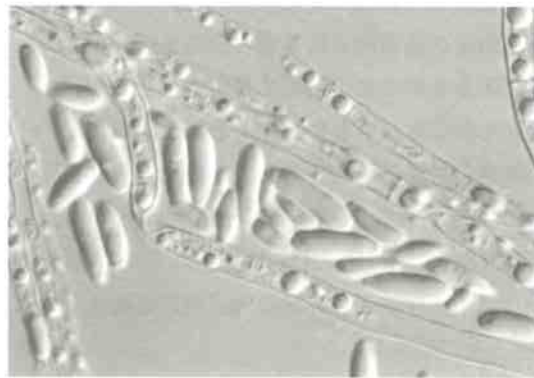
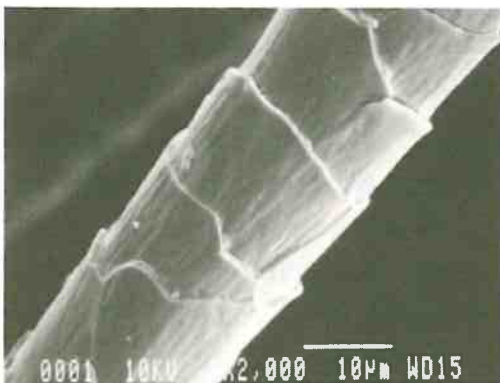
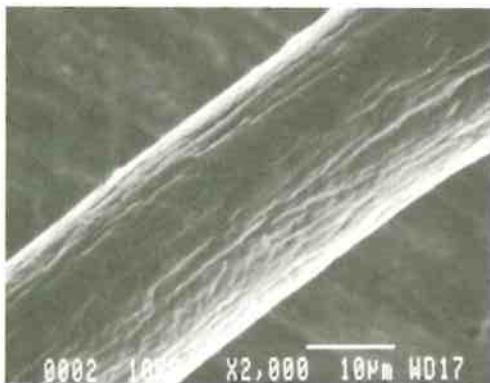


図4 *Fusarium oxysporum* 26-1株の巨視的観察像と小型分生子



未処理



新規ケラチン分解酵素処理

図5 羊毛繊維の電子顕微鏡写真

は、窒素源ほど顕著ではなかった。

この酵素は至適pH8.0のアルカリプロテアーゼであり、pH4.0~9.0の範囲で安定であった。至適温度は50℃であり、50℃以下では安定であった。この酵素の基質特異性を評価した結果を表1に示す。カゼイン分解活性を基準としてみた場合、市販酵素と比較してこの酵素はケラチンに対する活性が非常に高いことが判明した。このため、この酵素で処理した羊毛繊維から縮みの原因といわれているキューティクルが取り除かれ(図5)、良好な防縮性能を示したものと考えられる。

4. おわりに

以上の結果から、ここで得られた新規ケラチン分解酵素は縮みの原因である羊毛のキューティクル表面やエッジに優先的に作用し、羊毛繊維に優れた防縮性能を付与し、羊毛の引張強度低下を招かないため、羊毛防縮加工用酵素として好適であるといえる。しかし、羊毛繊維の防縮加工に本菌の酵素を実用的に適用するためには、酵素生産性の向上など解決しなくてはならない課題も残っている。この問題点を解決するために、われわれは本菌のアルカリプロテアーゼ遺伝子(*prtA*)を

麹菌の強力なタカアミラーゼ遺伝子プロモーターの下流につないだ融合遺伝子で麹菌を形質転換し、組換え酵素を高生産することに取り組んだ⁶⁾。その結果、著量のアルカリプロテアーゼを生産する組換え体が得られ、現在この組換えプロテアーゼの羊毛加工適性について検討している。麹菌の優れたたんぱく質分泌能を利用することにより、酵素生産性の問題が解消され、*Fusarium oxysporum* 26-1株のケラチン分解酵素を活用した羊毛防縮加工技術は実用化に一步近づいたと考えられる。

文 献

- 1) 北野道雄ら(1991), 繊維加工, 43, 101-120
- 2) 高塚正ら(1996), 繊維加工, 48, 501-505
- 3) Levene, R. et al (1996), *J. Soc. Dyer. Colour.*, 112, 6-10
- 4) Jovancic, P. et al (1998), *J. Text. Inst. Part1*, 89, 390-400
- 5) 高塚正ら(1998), 生物工学会誌, 76, 43-50
- 6) 茶谷悦司ら(2002), 日本生物工学会平成14年度大会講演要旨集 p.65

◀文献情報▶

長期間培養におけるウシA型精祖細胞の増殖と分化

Proliferation and differentiation of bovine type A spermatogonia during long-term culture.

Fariborz Izadyar¹, Krista den Ouden¹, Laura B. Creemers¹, George Posthuma¹, Martti Parvinen², and Dirk G. de Rooij¹

¹University Medical Center Utrecht, The Netherlands, ²University of Turku, Finland.

Biology of Reproduction, 68, 272-281 (2003)

精子形成は非常に複雑な行程であり、もし生殖細胞の種々の発生段階を体外で再現できれば研究推進に有効な手段となる。精祖細胞から培養を開始して、減数分裂を経て精子細胞を形成させるのが理想ではあるが、今のところ、長期間培養法や精祖細胞の分化誘導法は確立されていない。また、無血清培地やフィーダー細胞が無い状態での精祖細胞の培養も成功していない。血清とフィーダー細胞の存在下でのマウス生殖細胞の長期間培養により基幹精祖細胞が生き残り、精巣への移植により増殖することは報告されているが、培養中のA型精祖細胞の動態は不明である。最近、精製したマウスA型精祖細胞を血清存在下でセルトリ細胞との共培養を行うことにより、1ヶ月間の培養が可能であることが報告されたが、この培養方法ではA型精祖細胞の生存性は保ったものの、増殖させることはできなかった。そこで、本論文においては、基幹精祖細胞を含む精製分離したウシA型精祖細胞の長期培養方法の確立を目指した。5ヶ月齢の子牛の精巣から、A型精祖細胞を分離・精製した。精祖細胞は、種々の濃度のウシ胎仔血清添加MEMあるいはKSOMを用いて、32℃あるいは37℃で2～4週間培養した。MEMでの培養はKSOMでの培養より、また、32℃よりも37℃での培養の方がより生存性および増殖性が高かった。無血清培養において

は、1週間後の細胞の生存性はほんの20%であった。しかしながら、2.5%血清添加培地においては、ほぼ80%の細胞が生存し、増殖した。一方、高濃度（5%あるいは10%）の血清添加培地においては、体細胞の増殖のみが促進された。長期間培養によって、精祖細胞は増殖を続け、A型精祖細胞のコロニーを形成した。コロニーの多くは、細胞間橋によって結合した細胞集団より構成されていた。これらのコロニー中の多くの細胞はc-kit陽性を示し、精母細胞や精子細胞の形態的・分子生物学的特徴を示す細胞へと分化するものもあった。また、細胞間橋を持たず、c-kit陰性のA型精祖細胞（おそらくは基幹精祖細胞）からなる大型の円形のコロニーがまれに観察された。

本論文は、長期間培養により精製分離した基幹精祖細胞を含むA型精祖細胞の増殖と分化を可能とする方法を確立したはじめての報告である。本培養方法は、体外での精子形成研究、とりわけ基幹精祖細胞の分化調整因子の研究推進のために有効な手段となるであろう。また、今のところ運動性を持った精子にまで発育させることはできないが、精祖細胞を培養して得られる精子細胞の顕微受精への利用等は、今後可能になるとと思われる。
(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▶

グルタチオンと初期対数増殖期を利用した酵母の簡便、迅速、高効率な形質転換法

Extremely Simple, Rapid, and Highly Efficient Transformation Method for the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Using Glutathione and Early Log Phase Cells

Y. Hayama, Y. Fukuda, S. Kawai,

W. Hashimoto, K. Murata

Department of Basic and Applied Molecular Biotechnology, Kyoto University

J. B. B. 94, 166-171 (2002)

酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は今日の分子生物学とバイオテクノロジーにおける主要な生物であり、酵母形質転換法はそれらの根幹をなす重要な技術である。

その形質転換法として、1) 酵母を細胞壁溶解酵素にてプロトプラスト化し、等張液中でポリエチレングリコール (PEG) とプラスミドDNAを添加しDNAを取り込ます方法 (プロトプラスト法 1978)、2) 酵母をリチウム塩にて処理後、PEGとプラスミドDNAを添加しDNAを取り込ます方法 (リチウム法1983)、3) 電気穿孔装置にて高圧パルスをかけ、プラスミドDNAを酵母に取り込ませる方法 (エレクトロポレーション法 1985)、などが開発され用いられている。これらの方法は効率の良い優れた形質転換法であるが、その細胞処理による細胞の死滅・損傷は避けられない。そこでY. Hayamaらは、酵母においてより自然に近い酵母形質転換法の開発を試みた。

まずいくつかの増殖段階の酵母にPEGとプラスミドDNAを加え数十分置くだけで形質転換株を取得することが確かめられた。これは酵母の増殖度合いに大きく依存し、酵母培養液の濁度が $A_{600} = 0.25 \sim 0.3$ の対数増殖初期の菌体が最も高い形質転換率を示し、対数増殖期中期に入ると速やかに減衰、 $A_{600} =$

10を超えるるとほとんど形質転換は見られなかった。またこの方法においてPEGの存在は重要であり、PEG-1000~4000のものがよい効率を示した。PEGは最終濃度35%となるように添加する。形質転換効率はグルタチオンを30mM添加することで飛躍的に向上し、特に還元型グルタチオン (GSH) でその効果が高かった。またPHは6付近とするのがよい。

上記検討項目の最適条件で、代表的な実験室酵母YNN27に多コピー型ベクターYEp13を形質転換させたところ $1 \mu\text{g}$ DNAあたり1,000個強の形質転換株を取得することができた。これは、実用的に十分満足のできる効率である。

従来の化学的および物理的な処理を施す酵母形質転換方法は、その処理により細胞の損傷や死滅をもたらすが、今回の方法は比較的マイルドな方法であるといえる。今回もPEGの存在は必要であったが、PEGは従来のプロトプラスト法、リチウム法の「化学的方法」においても使用されており、酵母のDNA取り込み能に大きく関わっているようだ。一方、還元型グルタチオンの存在は形質転換効率をさらに促進させ、グルタチオンの合成欠損株では形質転換がほとんど起こらない。

ある種の細菌において、自然な生存状態においてDNAを取り込み、自らを形質転換する機能の備わっていることが知られている。今回の酵母形質転換方法を従来の人為的形質転換法に対して、“自然”形質転換法と呼ぶことができるか、その点について疑問の余地はあるが、酵母も増殖初期段階では外部からDNAを取り込む能力の高いことが示された。

細胞の自然形質転換では、植物組織や粘土などが細菌のDNA取り込み能力向上に寄与するらしい。今回のPEGやグルタチオンのような酵母のDNA取り込み能力を飛躍的に向上させる物質が自然界で存在することは当然考えられ、酵母を含め広く「自然形質転換現象」が微生物界に存在している可能性が示唆される。

(抄訳：家藤治幸, IEFUJI Haruyuki, 独立行政法人酒類総合研究所)

◀文献情報▶

植物MITEは葯培養で動き出す

The plant MITE mPing is mobilized in anther culture.

Kazuhiro Kikuchi, Kazuhiko Terauchi, Masamitsu Wada and Hiro-Yuki Hirano
Nature 421, 167-170 (2003)

MITE (miniature inverted repeat transposable elements) は動植物に普遍的に存在する、動く遺伝子「トランスポゾン」の一種であるが、実際に動くことは確認されていなかった。そのため、「かつては転移能力を持っていたが、今は動かなくなっている」と考えられてきた。この度、MITE型のグループに属するmPingというトランスポゾンが転移活性を持つことを、ジョージア大学、京都大学、基生研-東京大学の3グループが、NATURE誌上に相次いで発表した。ここでは基生研-東京大学のグループの報告を中心に紹介したい。

まず、イネゲノムプロジェクトおよび米国モンサント社のイネの塩基配列データベースをコンピュータ解析し、MITEの新グループmPingを発見した。mPingは末端に15塩基の逆向繰返し配列(ITR)を持つ430塩基と短いトランスポゾン様の散在型反復配列である。標的部位の長さは3塩基でTAAあるいはTTAのみである。イネの短粒種(ジャポニカ)は60-80コピー確認できるが、長粒種(インデイカ)およびイネの祖先種とされている*Oryza rufipogon*では8コピー程度しかなく、ジャポニカが栽培化される過程で集積してきた比較的新しいトランスポゾンであることが分かる。塩基配列の相同性は高く、解析した50余りのメンバーのうち、34メンバーで塩基配列が一致し、残り9メンバーはわずか1塩基の違いでしかなかった。

レトロトランスポゾンはイネの細胞培養で活発化することが知られており、このトランスポゾンも培養により動くのではないかと考え、胚盤および葯よりカルスを誘導し転移活

性を調べた。両側の塩基配列を基にプライマーを設計し、各カルス由来のDNAを用いてPCRを行ったところ、この因子が飛び出し、かつ新たな部位に転移していることが確認できた。そして、その頻度は胚盤よりも葯由来カルスにおいてはるかに高く、Wx遺伝子(餅性の遺伝子)に挿入されている例がみつかった。また、ガンマ線照射によって得られた変異体のHdi座にあらたにこの因子が挿入されている系統があることが判明した。この因子はガンマ線、カルス化などのショックで活性化し、想像を逞しくすれば(この部分はジョージア大グループ)、熱帯原産のイネが冷涼な温帯に適応する過程で低温によって活性化したのではないかとしている。

この発見の発端はデータベースのコンピューター解析によるものであり、実験はその結果を追認するものでしかない。生物を観察することより、ディスプレイの前に座り塩基情報を操る方が優れた成果を生む時代なのかもしれない。「生き物」と「実験」が好きで、「ひらめき」とそれを現実化する「粘り」が重要だと思いついてきた世代には少しつらいが、(抄訳: 岩井純夫, IWAI Sumio, 鹿児島大学農学部)

◀文献情報▶

主要な交差反応性魚アレルゲンである組換えコイパルブアルブミン：魚アレルギーの診断・治療のツール

Recombinant Carp Parvalbumin, the Major Cross-Reactive Fish Allergen: A Tool for Diagnosis and Therapy of Fish Allergy

Ines Swoboda,^a Agnes Bugajska-Schretter,^a Petra Verdino,^b Walter Keller,^b Wolfgang R. Sperr,^c Peter Valent,^c Rudolf Valenta,^d and Susanne Spitzauer^a

^aInstitute of Medical and Chemical Laboratory Diagnostics, ^cDepartment of Internal Medicine I, Division of Hematology, and ^dDepartment of Pathophysiology, Vienna General Hospital, University of Vienna, Austria; and ^bDivision of Structural Biology, Institute for Chemistry, University of Graz, Austria

J. Immunol., 168, 4576-4584 (2002)

食物アレルギーとは食べ物が免疫学的機序を介して、体に不利益な様々な症状を起こす疾患で、発症には特に免疫グロブリン (Ig) E抗体が重要な役割を果たしている。子供の場合、卵・牛乳・穀物が三大アレルゲンとされているが、それ以外にも種々の食物によってアレルギー症状を起こすケースが近年増えている。またアナフィラキシーショックのような重篤な全身症状の場合、死に至ることもある。このような背景から、生活者の食物アレルギーへの関心は高まりつつある。

この報告で、著者らはコイ *Cyprinus carpio* 筋肉に含まれる主要なアレルゲンであるパルブアルブミンの遺伝子組換え体の生産を試みている。著者らはコイ筋肉から発現 cDNAライブラリーを構築し、魚アレルギー患者の血清を用いて IgE 結合能を有する cDNA クローンを分離した。これらは 2 つのパルブアルブミン・アイソフォーム (Cyp c

1.01 と Cyp c 1.02) をコードしており、いずれも同程度の IgE 結合能を有していた。これらのうち Cyp c 1.01 を大腸菌で発現させ、組換えパルブアルブミンを得た。この組換え体には様々な魚種のアレルゲン抽出物に存在する IgE エピトープのうち 70% が存在しており、この組換え体が広範な魚アレルギーの診断マーカーとして利用できる可能性を示している。

著者らは魚アレルギー治療の可能性についても言及しており、例えばこの組換え体でウサギは感染防御 IgG 抗体を生産し、これが患者 IgE と組換えパルブアルブミンの結合を阻害することを示した。この結果は、適切なワクチンを用いることでヒトでも同様の抗体が誘導される可能性を示唆するものである。ただし現時点での組換え体はアレルゲン性が強く、これをワクチンとして利用することは難しいが、著者らは Ca を除去すると IgE 結合能が劇的に低下することを見出した。この組換え体の Ca 結合部位を特異的に変異させることにより、ワクチンとしての利用の可能性が考えられる。また、食物アレルギーでは未だ確立されていない減感作療法が実現するかもしれない。

魚の旨さは他に求めがたいものであり、一人でも多くの魚アレルギー患者とこの旨さを共有できる日が、いつか来るものと信じたい。(抄訳：沖田裕司, OKITA Yuji, 日本水産株式会社中央研究所)

◀海外便り▶

家畜の遺伝子探索と家族の生活

—ロスリン研究所での1年半—

独立行政法人 農業技術研究機構 畜産草地研究所

長 嶺 慶 隆

1. 私的なことから

これまで独身の学生時代、1歳になる長女を伴っての若い夫婦時代、そして今回、中学1年生になった長女と小学3年生の次女を連れての海外生活となった。その年代ごとに外国での研究生生活の苦勞も喜びも異なるが、精神的には家族を引き連れての今回の生活が一番疲れた。その反面、成長の喜びも大きかった。概して、外国

での研究生生活は、楽ではないし、ゆっくりと楽しむことはあまり無い。それでも懲りずに外国に出かけるのは、海外の研究生生活には全力で駆けられる充実感のようなものがあるからだと思う。

人並みはずれた能力や名声のある研究者のことは分からないが、私のような平凡な研究者としては、(1)世界的に見て活気がある研究所で、人間的に信頼できそうなパートナーを見つけ、(2)そこで先端の手法を学び、議論に加わる、(3)突破すべき重要な課題や、自分ならもっとうまくできるぞ、と思うものを見つけ、その問題を解決するといった段取りが有効に思える。

本当に先端の問題は、論文として印刷されたり、日本の学会で論議を呼ぶ時点では、す

NAGAMINE Yoshitaka

〒305-0901 つくば市池ノ台2

でに陳腐になっている場合が多いのではないだろうか。ホットな話題は、世界の一部の研究者間で印刷前の草稿として回っていたり、個人的なメールで知らされる。日本で時流に流されず、こつこつと努力する方法も否定しないが、多くの科学分野で大きな流れは(アメリカを中心とした)英語圏を環流しているように思う。

私は統計育種という分野なので、紙に数式

を書いて議論する。海外の大物たちを相手に全力でぶつかって、「やっぱり、かなわない」とため息をついたり、時には彼らの解けない問題を解決して「やったー」と叫んだり、というのが海外研究の醍醐味の

ように思える。この場合、フランクな文化を背負う英語は研究者にとってはありがたい。もっとも私の英語力では、もって回った言い方も、齒に衣(きぬ)を着せることもできないが、大先生を相手に若い学生が「No, You are wrong!」(先生、間違ってる!)と発言できる英語圏の文化は心地よい。

以下、研究の紹介をするが、この海外便りで学童期の子供を伴っての生活の話は少ないので、研究の紹介とともに子供の学校生活を中心に現地での生活を紹介する。



図1 ロスリン研究所正面入り口

2. ロスリン研究所と 遺伝子探索のこと

2000年10月より2002年3月まで滞在した英国のロスリン研究所は世界一有名な羊といわれたクローン羊ドーリーの故郷でもある。この研究所はスコットランドの首都エジンバラから南へ10kmほどの場所にあり、300名ほどの職員を抱える独立法人機関である。ロスリン研究所はクローン研究ばかりでなく、QTL (quantitative trait loci: 量的形質の遺伝子座) の探索研究でも世界的に知られている。家畜の乳量, 増体速度, 脂肪交雑, ロース芯面積といった主要な形質の遺伝的な能力は, 微小な働きをもつ多くの遺伝子の総和的な効果で決まると言われ, 遺伝子の位置は特定できないとされてい

た。ところが, 1994年, ロスリン研究所のHaley博士らが, スウェーデンの研究者との共同研究で猪と豚の交雑種を使い脂肪厚, 増体速度といった形質の遺伝子の位置 (遺伝子座) を著名な科学誌サイエンス¹⁾に

報告し, それ以降, QTLを探し家畜の改良に役立てようという動きが急速に高まった。

当初, 対象となるQTLは品種間の差を生み出す遺伝子に限定されていた。品種間の差を作るほどの遺伝子は測定値に与える影響が大きく, 探索が容易だからである。そこで, 猪と豚, ヨーロッパ豚と中国豚といった遺伝的にかけ離れた品種の交雑種を用い遺伝子座の探索が行われた²⁾。しかし, 品種内での改良に役立てるにはこうした品種間でのQTL探索は有用とはいえない。例えば純粋種のヨークシャー豚を改良するには, ヨークシャー種内での有用な遺伝子の座を見つける必要があった。



図2 ロスリン郊外の羊の放牧地。石づくりの囲いは古いものでは100年以上の歴史をもつ。

私は着任早々にHaley博士から5つの純粋種集団の分析を依頼された。幸いこれらの集団から増体量, 脂肪厚といった形質でQTLがいくつか見つかった^{3, 4)}。純粋種から検出できるQTLが予想以上に多いこと, またその遺伝的な働きの大きさから, これからの家畜育種の手法に大きな影響を与えるだろう。また, 従来の分析方法ではQTLの探索に際し, データを十分に利用し尽くしていないことが分かったので, 新しい手法を開発した⁵⁾。

3. 子供たちの生活

海外へ子供たちを連れて赴任するとき, 「子供は適応が早いから大丈夫」といった話を聞く。本当にそうだろうか。大人の世界に

は外交術も外交辞令もあるが, 本音の世界に生きる子供たちのほうが (少なくとも) 生活の始まりはずっと辛いのではないだろうか。「いきなりここ (英国) に連れてこられた子供たちは, 泳ぎ (英語) を習う前に海に突き落とさ

れるようなものだ」と言った人がいた, 至言かもしれない。ロスリン近郊には日本人学校は無く, 子供たちは現地校へ入学する予定であった。出発前, 英語力に自信のあった長女は現地のハイスクールを楽しみにし, 小学生の次女は「私は英語の学校なんか行かない」と宣言していた。ロスリン生活が始まって1週間ほどして, 現地の小学校長から次女に呼び出しがかかった。そこで, 「トイレに行きたい, 「家に帰りたい」という英語だけ覚えさせ, いやがる次女を学校へ送り出した。中学1年の長女は, 現地のスコットランド訛りの会話にまったくついていけないと, がっかりして帰ってきた。現地でも中学生ともなる

と生意気盛りで、子供のように好奇心いっぱいにして新入生を迎え入れたりはしないものらしい。毎日、子供の学校での報告に一喜一憂し、時には泣き出す子供を励ますといった生活が数週間も続いた。いつの間にか、3ヶ月もたった頃、学校の心配もしなくなった。スコットランドの子供は日本以上に反応が子供らしく、喜怒哀楽が分かりやすい。ある程度、会話力がつけば、日本より友人づくりは楽なのかもしれない。勉強については、訓練の行き届いた日本の子供は現地では優等生になる。小学3年の次女は（日本では当たり前だが）、「この子は、掛け算（九九）が正確にできる！」とクラスの秀才になった。これほど優秀な初等教育を施す日本が、ノーベル賞受賞者数で英国にかなわないのはなぜか、研究者としては興味深い。

4. 英語で言わなければ、伝わらない

一口に農業研究といっても、現実の農業に直接役立つ技術開発から、当面、役立たないが学術的には有意義な、といった分野まである。前者の技術開発は地域に根ざしたものであり、英語の論文にする必要が無い場合が多い。分かりやすい日本語を使い国内での普及に尽力した方がよいだろう。一方、学術的な研究であれば、英語で発表しなければ研究自体の意味が無いともいえる。こうした研究は国境も時代も越えて、成果を公表し、検証さ

れるべき事柄だと思う。世界の共通語（英語）で論文を発表し、英語での質疑に答えられなければ、その研究自体が存在しないものとなる。英語が共通語になった背景は、かつての大英帝国がのちの超大国アメリカを手に入れたことだろうが、英語文化が普遍的な面を多く持っていることも見逃せない。前述したように学生が先生に「それは違う」と気軽に言える文化は、部外者や新参者に開いた文化でもある。現地の初等教育のレベルは低いと言ったが、子供の頃から活発な議論（時には屁理屈）をさせる。好悪はともかく、これからの研究者は、若いうちからこの土俵にあがって戦っていくしかないだろう。

ロスリンでの1年半、成果も感慨も多い研究生活を送ることができた。この機会を借りて関係者の皆様に改めて感謝したい。

文 献

- 1) Anderssonら (1994), *Science* 263, 1771-1774
- 2) Haleyら (1994), *Genetics* 136, 1195-1207
- 3) Nagamineら (2002), *Genetical Research*, 80, 237-243
- 4) Nagamineら, *Genetics*, accepted
- 5) Nagamineら (2001), *Genetical Research* 77, 199-207

生研機構からのご案内

平成15年度各種募集に関するホームページ：生研機構では、4月1日より以下の各事業に関する募集を開始する予定です。つきましては、それぞれの募集要領、応募様式等の詳細についてインターネットのホームページ (<http://www.tokyo.brain.go.jp/>) においてご紹介致しております。どうぞ、ご覧ください。

新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業

新規研究課題募集のお知らせ

「一般型」……………年齢制限無し 「若手研究者支援型」……………39歳以下

■事業の趣旨

生研機構（生物系特定産業技術研究推進機構）では、農林水産業、食品産業等生物系特定産業の分野において、生物の持つ多様な機能を活用することにより、新技術・新分野を創出し、それを通じて農林水産業の発展、地球規模での人口問題、食料問題、環境問題の解決等に資するため、将来の産業技術のシーズとなる基礎的な試験研究を提案公募により実施しています。

平成15年度については、研究者の対象年齢を制限しない「一般型」及び39歳以下の若手研究者を対象とした「若手研究者支援型」の新規研究課題を下記により募集します。

☆「若手研究者支援型」について

世界的に一流の研究成果を上げた研究者の多くは、30歳代にその後の基盤となる研究を手がけていることや、我が国の年功序列的な体制下、若手研究者のポテンシャルを生かす研究環境が大きく立ち後れていることに対応して、

- ①柔軟な発想とチャレンジ精神を持った若手研究者のポテンシャルとイニシアチブを活かす
- ②過去の業績よりも着想の斬新さ、面白さ、発展性を重視する
- ③10年後に科学のパラダイムを作り得るような研究を支援する

という観点により、若手研究者による独創的な基礎研究課題を募集します。

■研究分野：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工学・環境学的手法による生物機能向上分野
- ⑥共通基盤に関する研究分野

生研機構からのご案内

■応募資格

- 日本国内の基礎研究を実施する能力のある機関に所属する常勤の研究者であること。
- 若手研究者支援型に応募の場合は、研究代表者を含む研究チームの構成員の年齢が、平成15年4月1日において39歳以下であること。

★以下の事項に該当の場合は応募できません

- ・本事業において現在、採択されている研究課題の代表者（研究代表者及び構成する課題の代表者）。
- ・他の特殊法人等が実施している基礎研究推進制度において既に採択されている研究課題の研究代表者。
- ・一般型どうし、若手型どうし及び一般型と若手研究者支援型への重複応募は出来ません。

■研究期間：原則として3～5年間

■研究費の規模：1課題当たり年間1億円程度を上限とし、研究の内容に応じて弾力的に運用（間接経費30%を含みます）。

■採択予定課題数：「一般型」・「若手研究者支援型」合わせて7課題程度

■募集期間：平成15年4月1日(火)～4月30日(水)（締切当日必着）

■課題の選定方法：学識経験者で構成する課題選考のための委員会が①書類審査により課題を絞り②面接審査を行い採択候補課題を選定します。

★スケジュール

4月30日	応募締切（締切当日必着）
5月頃	第1次審査（書類審査）
6月頃	第2次審査（面接審査）
10月1日	採択課題決定／研究開始

〈問合せ先〉

生物系特定産業技術研究推進機構（生研機構）新技術開発部 基礎研究課
 TEL 03-3459-6569／FAX 03-3459-6594
 E-mail kisoken@tokyo.brain.go.jp
 URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/>（生研機構ホームページ）

*応募要領・様式については生研機構のホームページよりダウンロードできます。

生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業 新規研究課題の募集

生物系特定産業技術研究推進機構（平成15年10月1日以降は独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構）では、異分野の研究者が共同して行う研究開発を通じて画期的な技術開発を推進し、新たな産業を創出することを旨とする「生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業」の一環として、新規研究課題を募集します。

■対象とする分野

新産業の創出が期待される農林水産・食品産業関連分野及びバイオ産業分野等の研究開発（地域資源の有効活用、食品以外の生産資材の開発等を含む）であって、異分野の研究者が共同して行う研究開発を対象とします。

■応募資格：

コンソーシアム（研究共同体）を組織して応募してください。

コンソーシアムは、以下の①～③の条件を満たす必要があります。

- ①異なる分野の研究者による共同での研究開発の遂行
- ②複数の民間企業の参加を必須とし、大学、独立行政法人、公立試験研究機関等のいずれかの機関の参加
- ③コンソーシアムを代表する技術コーディネーターの設置

また、技術コーディネーター及びコンソーシアム参加機関にも要件を設けています。

■研究期間：原則として5年間

■研究費の規模：1コンソーシアム当たり年間5.5千万円程度を予定

■募集期間：平成15年4月1日（火）～4月30日（水）【締切当日必着】

■研究課題の選定方法

学識経験者で構成する課題選考のための委員会において、書類審査で課題を絞り込み、面接審査を行って採択候補課題を選定します。

*応募要領・様式については生研機構のホームページ（URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/>）からダウンロードできます。

問い合わせ先

生物系特定産業技術研究推進機構（生研機構）

新技術開発部 技術開発課

住所 〒105-0001 東京都港区虎ノ門3-18-19 虎ノ門マリビル10階

TEL 03-3459-6567 FAX 03-3459-6577

E-mail: kaihatsu@tokyo.brain.go.jp

生研機構からのご案内

融 資 制 度 の ご 案 内

制度の概要

貸付利率を低減する一般融資制度と、貸付元本を減免する特別融資制度があります。

融資対象者

民間企業、農林漁業団体、公益法人。ただし特別融資は資本金10億円未満の研究開発型企業です。

対象試験研究

生物系特定産業技術に関する応用研究段階または事業化に結びつく可能性の高い試験研究で、試験研究期間は5年以内です。

融資限度額

研究期間中の各年度ごとに、対象試験研究費の7割を限度としてご融資いたします。

貸付対象経費

試験研究に必要な施設設備費・試験ほ場造成費・物品費・材料費・労務費・外注費など。

貸付条件

- (1) 貸付方法：試験研究終了までの間、支出済み経費に対して貸付
- (2) 基準利率：貸付時点の財政融資資金貸付金利に相当する率
- (3) 償還期間・方法：試験研究終了後10年以内。原則として元金均等年2回分割償還
- (4) 据置期間：研究期間中は元金の償還を据置き。研究期間中は利息を据置くことも可能
- (5) 売上納付金契約：試験研究の成果を事業化した場合、その売上高の一定割合を納付
(特別融資制度のみ)

本資金のメリット

- ◎研究開発のリスク軽減のために、試験研究の成功度合いに応じて、利率を低減〈低減率は最大100%〉または元本を減免〈減免率は最大50%〉
 - 一般融資の場合
 - 適用利率 = 基準利率 × 成功度 (1, 0.75, 0.5, 0.25, 0 のいずれかの数値)
 - 特別融資の場合
 - 返済元本 = 貸付金額の1/2 + 貸付金額の1/2 × 成功度
- ◎最長15年の長期・低利（固定制）の資金です。
- ◎研究によって得られた特許権等、研究成果はすべて融資先企業に帰属します。

詳細は窓口にお気軽にお問合わせ下さい。

生研機構 融資課 〒105-0001 東京都港区虎ノ門3-18-19 虎ノ門マリビル10F
TEL 03-3459-6565 FAX 03-3459-6566 E-mail yushi@tokyo.brain.go.jp

生研機構からのご案内

出 資 事 業

1. 事業の趣旨

企業等のバイオテクノロジー等に関する試験研究の促進のため、出資を行う制度です。2つ以上の企業等が新たに設立する研究開発会社を対象にした一般出資制度と単独の企業等が新たに設立し、大学又は公的研究機関等と共同で試験研究を行う研究開発会社を対象とした特別出資制度があります。

2. 募集開始時期：

平成15年4月～（ご相談は随時受け付けております。）

《お問い合わせ先》

出資課

電話 03-3459-6565 FAX 03-3459-6566 E-mail : syussi@tokyo.brain.go.jp

生研機構 一般公開

平成15年4月13日(日) 午前10時～午後4時

生研機構本部（さいたま市北区日進町1-40-2）構内

生研機構で開発した各種農業機械，研究開発内容等を紹介する
予定です。皆様のご来場をお待ちしております。

お問い合わせ 電話 048-654-7000(代)

編集後記

第96号をお届けします。今年は桜の開花が平年並みと言われていますが、これから学会が開催される研究分野も多いことでしょう。ちなみに、今年の農業機械学会の年次大会は、生研機構の農業機械化研究所が担当で（運営委員長 生研機構企画部長・気多 正，実行委員長 生研機構畜産工学研究部長・山名伸樹），さいたま市で開催されます。また，最近は，多くの学会誌で欧文化，海外研究者の投稿を受理する国際誌化，さらに国内研究者の海外原著誌への投稿がすみ，門外漢の国内技術者が異分野の先端的研究情報を得るのは容易ではありません。本誌が，少しでもその点の手助けになればと念じております。お忙しいなかを，本誌に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96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

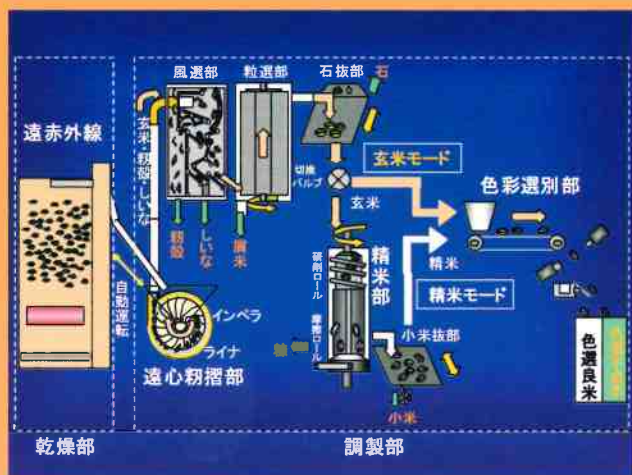
TEL. 03-3459-6565 FAX. 03-3459-6566

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

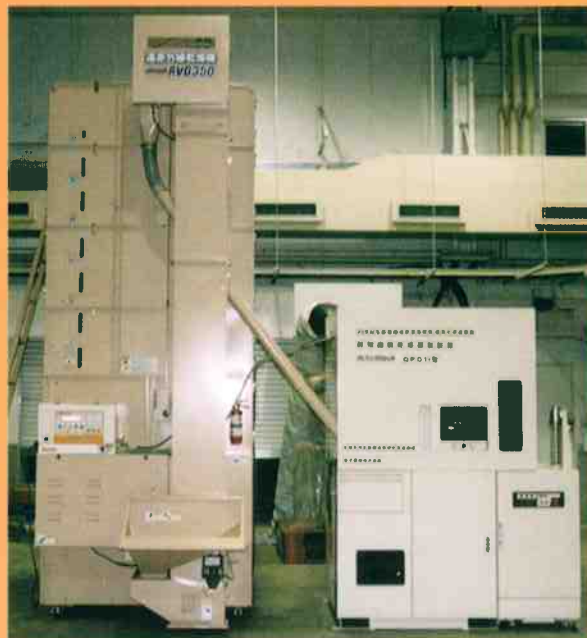
URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/>

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 2003

穀物自動乾燥調整装置の開発 (グレインプロセッサ)



装置の概要



GP02 I 型



GP02 II 型



GP02 III 型

生研機構生産システム研究部乾燥調製システム研究
久保田興太郎・日高靖之・市川友彦

詳細は本誌国内情報21頁をご覧ください。