

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

平成22年1月15日(隔月1回15日発行)

ISSN 1345-5958

TECHNO NEWS

No.137

15 JANUARY, 2010

ブレインテクノニュース



ワクチン入りミルクを自由に飲ませるだけで免疫ができる。だから、豚のストレスが軽減でき、かつ、大規模養豚に対応できる。

豚丹毒および豚マイコプラズマ肺炎を一度に防御できる経口投与型ワクチンの開発

¹(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所

²(株) 微生物化学研究所

下地善弘¹・小川洋介¹・宗田吉広¹・大石英司²

目 次

総 説

- 化学情報を利用した害虫防除法の開発 1
 高林純示（京都大学生態学研究センター）

国内情報

- 豚丹毒および豚マイコプラズマ肺炎を一度に防御できる経口投与型ワクチンの開発 7
 下地善弘¹・小川洋介¹・宗田吉広¹・大石英司² (¹(独)農業・食品産業技術総合研究機構
 動物衛生研究所 次世代製剤開発チーム, ²(株)微生物化学研究所)
 広範囲な作物病害に効果のある「広スペクトル微生物農薬」開発に目処 12
 竹中重仁 ((独)農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター
 (現在: 農研機構本部・総合企画調整部))
 東南アジアなどで栽培される浮イネの洪水回避機構の解明 17
 服部洋子・芦薙基行(名古屋大学 生物機能開発利用研究センター)
 共生細菌“ボルバキア”的遺伝子がマツノマダラカミキリの常染色体上に大規模に転移
 していることを発見 23
 相川拓也¹・安佛尚志²・二河成男³・菊地泰生⁴・柴田洋⁵・深津武馬² (¹(独)森林総合研究所
 東北支所, ²(独)産業技術総合研究所, ³放送大学, ⁴(独)森林総合研究所, ⁵愛媛大学)
 カドミウム高吸収イネ品種によるカドミウム汚染水田の浄化技術 29
 村上政治¹・荒尾知人¹・阿江教治^{1,2}・中川文彦³・本間利光⁴・茨木俊行⁵・伊藤正志⁶・
 谷口彰⁷ (¹(独)農業環境技術研究所, ²現国立大学法人 神戸大学大学院 農学研究科,
³山形県農業総合研究センター, ⁴新潟県農業総合研究所, ⁵福岡県農業総合試験場,
⁶秋田県農林水産技術センター 農業試験場, ⁷三菱化学株式会社)

地域の先端研究

- ゲノム情報を用いていもち病抵抗性と極良食味特性を結合した水稻新品種「中部125号」 35
 坂紀邦¹・福岡修²・安東郁男³・寺島竹彦¹ (¹愛知県農業総合試験場 山間農業研究所
 (農林水産省指定試験), ²(独)農業生物資源研究所, ³(独)農業・食品産業技術総合研究機構
 作物研究所)

文献情報

- ウシ胚移植前の末梢血由来单核細胞の子宮角内投与は受胎率を向上させる 39
 A. Ideta et al. (*Animal Reproduction Science*, 117, 18-23, 2010) 抄訳: 下司雅也
 トランスポゾンの挿入に起因するエピジェネティックな変化がメロンにおける性決定を引き起こす 40
 A. Martin et al. (*Nature*, 461, 1135-1138, 2009) 抄訳: 高田美信
 大腸菌実験群における、歴史的偶発性と進化における鍵となる革新 41
 Blount ZD et al. (*Proc Natl Acad Sci USA.*, 105 (23), 7899-7906, 2008) 抄訳: 柳原沙恵
 ニジマス血漿タンパク質がスケソウダラ入りのゲル化に与える影響 43
 D.K.Li et al. (*J Food Sci*, 73 C227-234, 2008) 抄訳: 石田貴之

表紙の説明

豚丹毒は、グラム陽性細菌の一種、豚丹毒菌の感染により起こる感染症である。著者らは国内で使用されている生ワクチン株を用い、これに豚マイコプラズマ肺炎病原体の遺伝子を導入することで、豚丹毒と豚マイコプラズマ肺炎の両方に効果のある経口投与型ワクチンの開発に成功した。

写真は、ワクチン入りミルクを自由摂取させてワクチン効果を見た実験の様子である。

詳細については7頁をご覧下さい。

◀総 説▶

化学情報を利用した害虫防除法の開発

京都大学 生態学研究センター

高林 純示

農薬が環境に与える様々な負の効果は、地球規模での環境・社会問題であり、減農薬のための様々な試みが行われてきている。特に土着天敵を利用した害虫防除が世界的にも注目されている。ここでは化学情報を利用し天敵の行動を制御する害虫防除法の開発に関して筆者らの研究成果の概略および海外の研究を紹介する。

1. はじめに

食料・農業・農村基本法（1999年）にうたわれているように、食料の安定供給と農業の持続的発展は国民的な問題であり、各地で減農薬栽培技術開発が試みられている。さらに有機農業推進法（2006年）により、化学農薬を一切使わない農法の研究も推進されることとなった。また、消費者組合による積極的な無農薬・減農薬農産物の商品化に見られるように、日本の消費者の「食の安全」志向は日増しに高まっている。

日本ではこれまでにも各地で減農薬栽培技術開発が試みられ、化学農薬を一切使わない農法の研究も推進されているが、まだ十分に根付いているとは言えない。大きな理由は、無農薬・減農薬農法は手作業による害虫・雑草防除に代表される如く、労働集約型の作業を強いるものであり、農業人口の高齢化と兼業化の進展する我が国の農業においては普及の障害となっているものと思われる。これを解決する方策として、害虫に対しては天敵の効用が期待され、1995年の最初の農薬登録以来、さまざまな天敵利用技術が開発されてきた。しかし、天敵農法はなかなか安定した効果が得られないのが実情である。たとえば、わが国において高齢化する傾向にある中山間地農家の無農薬・減農薬農法の切り札

TAKABAYASHI Junji

〒520-2113 大津市平野2丁目509-3

として天敵を散布する農法は従来から研究されているが、十分な普及には至っていない。大きな理由は、単に天敵を撒いても目的の範囲に定着せずに飛散してしまうからであると考えられる。さらに海外から導入した外来天敵が飛散して生態系に影響を与えてしまうことも障害となつて、一部の成功例を除き、天敵利用は拡大していない。

この稿では、化学情報を用いて天敵農法のこうした弱点を補い、各地の土着天敵を活用することにより、無農薬・減農薬農産物の生産を可能にする技術の現状について、我々の研究成果並びに海外の研究成果の概略を紹介する。

2. 化学情報を利用した害虫防除の基盤

植物が植食性昆虫（害虫）の食害を受けると、未被害時にはほとんど放出されない複数のかおり成分を放出する現象が様々な植物と害虫の組み合わせで報告されてきている⁽¹⁾。このブレンドは、害虫の種によって特異的に変化する。さらに、その特異的なブレンドに対して、食害している害虫の特異的な天敵が誘引されるケースも数多く報告されている⁽¹⁾。例えば、次の項で詳しく述べるが、アブラナ科植物がコナガ幼虫の食害を受けるとそのスペシャリスト天敵であるコナガサムライコマユバチを誘引する匂いブレンドの生産を始める⁽²⁾。このハチは機械的な

キズを受けた株や、モンシロチョウ幼虫の食害を受けた株には誘引されにくいことから、コナガ食害植物とコナガサムライコマユバチとの関係は非常に特異的であると言える。必ずしも全ての害虫被害植物とその害虫の天敵との間でか

かる特異性が見られるわけではない^(1,2)。植物の視点から見ると天敵を誘引するかおりは『SOSシグナル』言うことができ、また害虫の天敵を呼び寄せる現象は「植物の間接防衛」と考えることができる（図1）。

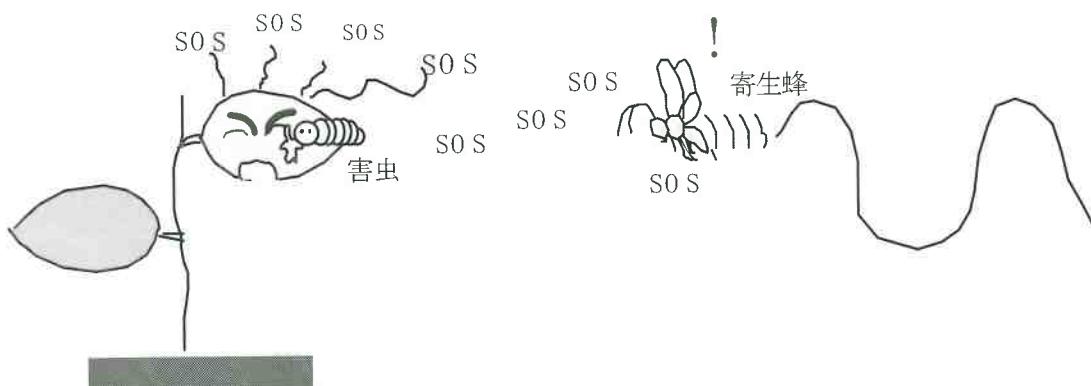


図1 植物の間接防衛戦略 -ボディーガードを雇う植物-

このような植物のかおりを介した植物と天敵と相互作用は、生態学的に興味深いが、かかる基礎研究は直ちに応用へと展開することができる。すなわち、SOSシグナルを何らかの方法でコントロールすることで天敵の行動を制御し、天敵の効率を高める可能性が考えられる。

ここで問題となるのは、SOSシグナルは食害によってはじめて誘導的に生産されるという事である。しかし、これでは天敵がある程度の食害が生じたあとにのみ誘引される。すなわち「来遅れる」ため、食害が先に起きてしまい、作物の価値が低下する。そこで我々は、『SOSシグナル』を人工的に再現したものを農作物の近くに設置すれば、周囲から土着天敵を前もって誘引して害虫による食害を未然に防げるものと考えた（図2）。図2の天敵誘引剤が図1の『SOSシグナル』に該当する。図2の中で天敵活性化剤とあるのは、誘引した天敵の活動を維持するための餌（蜂蜜）を設置する事を意味する。天敵活性化剤は、農生態系とくに雨よけハウス内等で寄生蜂の餌となる花蜜が無い場合に、蜂の寿命と寄生率を向上させるための給餌技術である。

3. 美山町における実証試験

筆者らの研究グループ（京都大学、（独）農業・食品産業技術総合研究機構 中央農業総合研究センター・九州沖縄農業研究センター・近畿中国四国農業研究センター、（株）四国総合研究所、曾田香料（株））は上記のような植物が持つ自然の防衛系を利用した害虫防除技術をアブラナ科、特に雨よけハウス栽培のミズナの重要害虫であるコナガをターゲットとして開発を進めてきた。まずコナガ幼虫に食害されたアブラナ科作物の葉からコナガの土着天敵であるコナガコマユバチを誘引する物質が放出されることを認め、この誘引成分の特定とそれを用いて蜂を呼び寄せる技術（天敵誘引剤）を開発した。さらに誘引したコナガコマユバチに餌を与えるしくみ（給餌装置：天敵活性化剤）を開発し、これらの2つを併用した現地での実証試験を実施した。

誘引成分や給餌装置を利用する場合、潜在的に問題となるのは、（1）誘引成分によって標的害虫や他の害虫をかえって誘引してしまう可能性があること、（2）誘引成分の設置によって、天敵の被害株へ定位する行動が人為的に攪乱さ

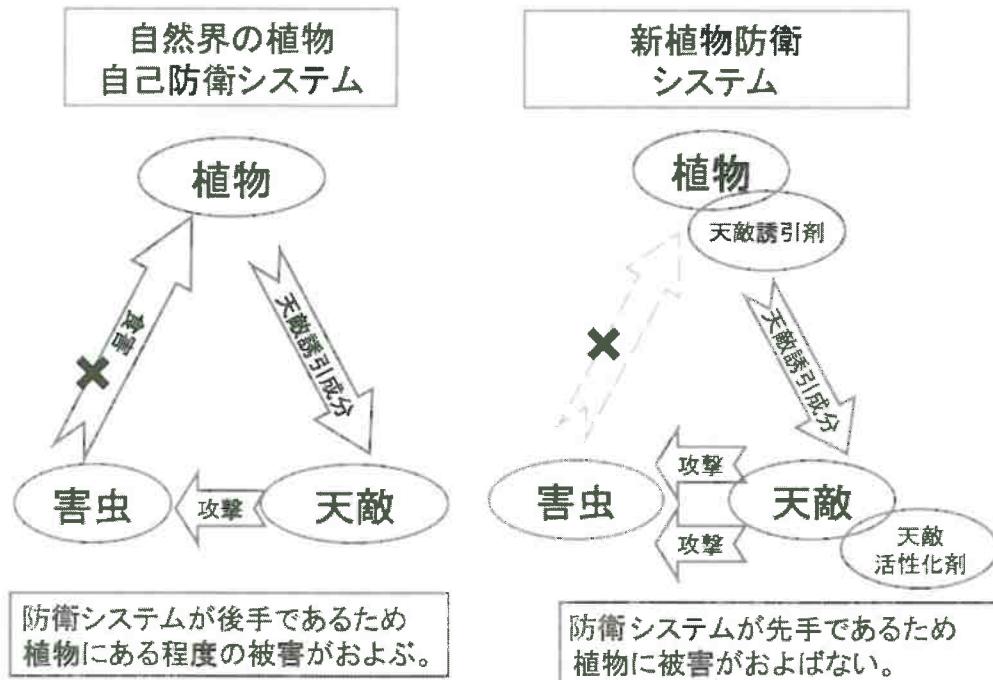


図2 化学情報を利用した新しい害虫防除法の考え方：天敵誘引剤と餌（天敵活性化剤）の配置による行動制御

れる可能性があること、(3) 紙餌装置によって寄生蜂だけでなく、害虫も活性化される可能性があること、等が上げられる。本研究では、これらの点についても慎重に検討を重ね、設置によるマイナスの効果は無いことが確認できた。これらの事前検討を経て、実証試験を行った。

我々の試験地では、イヌガラシなどハウス周辺のアブラナ科雑草上でも、低密度ながらコナガおよびコナガコマユバチが春から秋にかけて発生していた。また、コナガコマユバチがミズナ栽培地域に広く分布していることもわかった。そこでミズナ生産ハウス7棟において、2006年度の5月から10月にかけて誘引剤、活性化剤を設置し、無設置ハウス7棟とコナガの発生状況を比較した。コナガの発生が認められた剤処理ハウスすべてでコナガコマユバチが確認され、コナガの密度が無設置の半分以下に抑えられた。2008年度にもミズナ生産ハウス11棟に2剤を設

置し、無処理ハウス11棟と比較した。その結果、剤設置により密度が同じく半減した。これらの結果は、中山間のコナガコマユバチが分布する地域において、天敵行動制御技術によりコナガの発生抑制が可能になる可能性を示している。

4. 化学情報を用いた天敵の行動制御

誘引性のある品種

育種的な観点で天敵誘引性の高い植物を選抜しようとする試みはこれまでに行われてはいない。しかしながら、その可能性を示すデータがインゲンで得られている。ワーゲニンゲン大学のディッケらは、インゲンの中で背の高くなる品種(ポールタイプ)と背の低い品種(ブッシュタイプ)に注目して天敵誘引性を調べている。両品種が同程度のハダニの食害を受けた場合、誘引性に違いが認められた。実験室内では、ポール

タイプはチリカブリダニを誘引したが、ブッシュタイプは誘引しなかった。そこでブッシュタイプの被害を約倍にして葉の数も倍にしたところ、ようやくブッシュタイプと同程度の誘引性が認められた⁽³⁾。ポールタイプとブッシュタイプは天敵の誘引性で品種改良されたわけではないのは明らかで、これは偶然何かの形質とリンクして、インゲンの誘導間接防衛の高い品種と低い品種ができたのであろう。

トウモロコシに関しては原品種を含めて様々な品種をもちいて、シロイチモジョトウ食害で誘導的に生産する揮発性物質（これは当該ヨトウの天敵寄生蜂を誘引する）の生産量を比較した研究があるが、原品種が最も誘引性が高かったのは興味深い⁽⁴⁾。これらの結果は、従来の育種的手法でも天敵誘引性の高い植物の選抜による化学情報発信力の強化の可能性を示している。

ジャスモン酸の利用

植物が食害応答的に天敵誘引成分を生産する際に重要な役割を果たしているシグナル伝達系の一つがジャスモン酸関連シグナル伝達系（以下ジャスモン酸経路と省略）である。そのキーとなるジャスモン酸は植物細胞が損傷を受けた際に生成するリノレン酸を前駆体として、フィトオキシリピン経路で合成される⁽¹⁾。ジャスモン酸経路の活性化で防衛に関連する様々な蛋白質が合成される。同時に天敵誘引成分の誘導的な生産も始まる^(1, 5)。興味深いことに、ジャスモン酸およびそのメチル化物であるジャスモン酸メチルは、植物体にスプレーすることで、植物の持つジャスモン酸経路を外部より活性化させることができる。

1999年にアメリカのテラーが野外でトマトにジャスモン酸メチルを処理し、その後のトマト上で害虫数が対照区に比べて減少することを報告している。また害虫であるシロイチモジョトウ幼虫の寄生率も増加していた⁽⁶⁾。我々のグループではトウモロコシにジャスモン酸をスプレーすることで、トウモロコシなどイネ科を食害するアワヨトウ幼虫の寄生蜂カリヤコマユバ

チの誘引性が高まることを示した。トウモロコシ健全株を使った実験では、カリヤコマユバチに対する誘引性の強さは、健全未処理株<健全ジャスモン酸処理株となり、健全株でもジャスモン酸処理で誘引性が高まることがわかった。次にアワヨトウが食害した株で調べてみた。まずジャスモン酸を処理した後、アワヨトウの食害ストレスをトウモロコシ株に与えた。その後の誘引性を調べたところ、蜂の誘引性は、食害未処理株<食害ジャスモン酸処理株となった。処理しておけば、その後の食害で天敵をより強力に呼ぶ体質に変わったといえる。空間スケールを上げて人工気象室内の寄生率調査実験も行っている。ジャスモン酸処理株と未処理株にアワヨトウを接種して、その後カリヤコマユバチを放した。24時間後の結果、寄生率がジャスモン酸処理株で有意に高くなっていた⁽⁷⁾。

これらの結果よりジャスモン酸の処理は、天敵の誘引性を向上させることができると結論づけた。ただし、ジャスモン酸は高濃度で植物に悪影響を及ぼすため、処理すればよいというわけではない。処理の際の最適濃度検討は今後の課題である。我々はジャスモン酸の前駆体であるリノレン酸を植物体に処理することでも、現象的には類似の天敵誘引反応をトウモロコシに誘導することができた⁽⁸⁾。リノレン酸はジャスモン酸と異なり処理における植物への悪影響が少ないと考えられ、また安価である。今後実用に向けた検討が必要であろう。

合成した化学情報の処理

これは上記コナガサムライコマユバチの例が該当するが、さらにこの研究に先行した研究がいくつか報告されている。実用をもくろんだ実験系ではないが、ボルドウインとケスラーの二人は、野生のタバコ株がタバコガ食害を受けた際に放出する匂い成分の中のいくつかの合成品を野外の野生タバコ株に設置（食害のイミテーション）する実験を行った。設置によってタバコガ雌成虫の産卵率や卵の捕食率が高まるという例をサイエンスに報告している⁽⁹⁾。興味深い

点として、彼らの報告では天敵の活性化だけではなく、害虫の産卵率の低下という副次的な効果も現れている。害虫の雌成虫にとって、被害葉からの匂い成分は天敵高密度空間を意味するので、そこを忌避したと考えられる。

アメリカのジェームスらはサリチル酸メチルを果樹園に設置して害虫の動態を調べ、設置によって長期間の累計では害虫数は減少する事を報告している⁽¹⁰⁾。彼らはさらに15種類の植物由来の揮発性物質を野外でテストし、13成分で何らかの天敵の誘引性を認めた。化合物によって誘引される天敵とその程度は異なっており特異性を示唆する⁽¹¹⁾。植物揮発性物質の中には、その成分を受容することによって健全な植物が防衛の準備を始めるという現象がいくつかの植物で報告されている⁽¹⁾。従って、天敵誘引成分の設置は、天敵の密度増加だけでなく、植物の防衛機能の強化にもつながる可能性が考えられる⁽¹²⁾。

植物の作出

被害植物が放出する天敵誘引成分の合成酵素を導入することで、食害時の誘引性を高めようとする基礎研究も始まっている^(13, 14)。この場合、ターゲットとなる天敵誘引成分の同定とその合成酵素の特定が不可欠であり、その後、標的酵素遺伝子を導入することになる。オランダの研究グループはシロイヌナズナに(*E*)-4, 8-dimethyl-1, 3, 7-nonatrieneという揮発性テルペンの合成酵素遺伝子を発現させ、ハダニの天敵チリカブリダニの誘引性をオープンスペースで確認している⁽¹³⁾。イスのグループでは、トウモロコシに(*E*)- β -farneseneを主成分とする複数の揮発性テルペンを合成する遺伝子を導入し、ヤガ科幼虫の寄生蜂の誘引性が向上することを報告している⁽¹⁴⁾。

一方、我々は山口大学と共同で、個別の揮発性成分合成酵素に注目するのではなく、食害誘導性の匂い成分の合成の最上流に位置するフィトオキシリピン経路に注目した研究を行った。その経路の最上流に位置する主要な遺伝子であり、かつ緑色植物が普遍的に持っているヒドロ

ペルオキシドリアーゼに注目した。その遺伝子を分子生物学的手法によって活性化し、天敵誘引性を高めようとする試みをシロイヌナズナ、モンシロチョウ幼虫、アオムシコマユバチの系で行い、過剰発現させることで誘引性の向上を確認した⁽¹⁵⁾。さらに過剰発現によって灰色カビ病菌に対する抵抗性も検出できた⁽¹⁵⁾。

食害時における天敵誘引性の高い遺伝子組み換え作物の研究は、組み換え体生物の野外実験の規制などがあり今後の課題である。遺伝子組み換え植物の是非については様々なレベルで議論が活発である。ここで述べているタイプの遺伝子組み換えは、植物に殺虫性の物質や除草剤耐性を導入するタイプではなく、かおりを改変して天敵の効率を高めようというものであり、これまでの遺伝子組み換えとは一線を画している。化学情報による害虫管理における新しい方向性ではないかと考えられる。

プッシュプル戦略

化学情報を用いて害虫を追い出し、天敵を呼び込む作戦はプッシュプル戦略と呼ばれている。古くからある概念であるが、アフリカでICRISAT(国際昆虫生理生態研究センター)とイギリスロザムステッドリサーチセンターが共同で行っているツトガの一一種(*Chiro partellus*)とトウモロコシの芯を荒らすヤガの一一種(*Busseola fusca*)の防除の最近の成功例が最も有名である。トウモロコシの畠の間に害虫を忌避し天敵を誘引する植物(トウミツソウ、シルバーリーフデスマニウム等)を植え、周囲に害虫を誘引する植物(ナピアグラス、スーダングラス)を植えることによって、害虫の数を減らし、さらに天敵の数を増やすことに成功している。これらの実証試験で、害虫の忌避、天敵の誘引に関する植物成分はセスキテルペン類であり、害虫の雌成虫を誘引する植物成分は、緑のかおりと呼ばれる化合物群(青葉アルコール、青葉アルデヒド、青葉アセテート)であることが報告されている⁽¹²⁾。

5. 周辺環境の保全管理 一 展望にかえて 一

化学情報を用いて天敵の効率化を図り害虫を管理しようとしても、周辺環境に肝心の天敵がいなければ話にならない。これまでの研究例は周辺植生で涵養されている天敵を利用しようというのが基本にある。

周辺環境を適切に保全することにより、在来天敵の農生態系への自然の移入が実現し、その結果、害虫個体数が経済的許容水準以下に維持されれば理想的である。しかし実際には、農作業や栽培体系など様々な要因が関与して、その実現は難しい。保全と平行して本稿にあるような化学情報を用いるなどの適切な方法で天敵の移入効率を高めることが必要になってくるだろう。逆に、周囲の雑草などを全部刈り取り、天敵涵養源あるいは活性化源（蜜源）となる周辺植生を排除した場合、本稿のような手法をとっても効果が期待できない。しかし、当然ながら周辺植生で害虫の天敵が涵養されると言うことは、その餌となる害虫、あるいはその害虫の近縁種も涵養されていることを意味し、その保全は両刃の剣ともいえる。周辺環境をどの様な形で保全するかは、各地域の実態に合わせたものでなければならない。

最近の研究ではさらに化学情報によって制御されている天敵が害虫の病原菌であったり、寄生性線虫であったり、鳥であったりする可能性が報告されている。化学情報を介した「植食者の天敵と植物との間接相互作用」という視点は、基礎的にも応用的にも興味ある研究対象であり、その全体像解明のための生態学的、分子生物学的研究のさらなる展開が必要であろう。

引用文献

- (1) Arimura, G. et al. (2009) *Plant Cell and Physiology* 50(5): 911-923
- (2) Shiojiri, K. et al. *Applied Entomology and Zoology* 35: 87-92
- (3) Dicke, M. et al. (1990) *Journal of Chemical Ecology* 16:3091-3118
- (4) Loughrin J.H. et al. (1995) *Journal of Chemical Ecology* 21:1217-1227
- (5) Ozawa, R. et al. (2000) *Plant and Cell Physiology*. 41: 391-398
- (6) Thaler, J.S. (1999) *Nature* 399: 686-688
- (7) Ozawa, R. et al. (2004) *Journal of Chemical Ecology* 30: 1305-1317
- (8) Ozawa, R. (2008) *Entomologia Experimentalis et Applicata* 129:189-199
- (9) Kessler A., Baldwin I.T. (2001) *Science* 291: 2141-2144
- (10) James, D. G. (2003) *Journal of Chemical Ecology* 29:1601-1609
- (11) James, D. G. (2003) *Journal of Chemical Ecology* 31:481-495
- (12) Khan et al. (2008) *Biological Control* 45: 210-224
- (13) Kappers et al. (2005) *Science* 309: 2070-2072
- (14) Schnee et al. (2006) *Proceedings of National Academy of Science, USA* 103: 1129-1134
- (15) Shiojiri et al. (2006) *Proceedings of National Academy of Science, USA* 103: 16672-16676

◀国内情報▶

豚丹毒および豚マイコプラズマ肺炎を 一度に防御できる経口投与型ワクチンの開発

¹独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
次世代製剤開発チーム, ²株式会社 微生物化学研究所

下地善弘¹・小川洋介¹・宗田吉広¹・大石英司²

豚丹毒は、グラム陽性細菌の一種、豚丹毒菌の感染により起こる感染症である。全世界的に発生があり、予防対策としてワクチンが使用される。我々は国内で使用されている生ワクチン株を用い、これに豚マイコプラズマ肺炎病原体の遺伝子を導入することで、豚丹毒と豚マイコプラズマ肺炎の両方に効果のある経口投与型ワクチンの開発に成功した。

1. はじめに

近年、養豚経営の大規模化・集約化の流れは一段と加速化している。平成元年以降、国内の飼育頭数は900～1,000万頭規模を維持しており、飼養戸数は50,200戸（平成元年）から7,230戸（平成20年）と1/7に減少している。これに反して1戸当たりの飼養頭数は平成以後7倍に増加しているが、飼育規模の大規模化に伴い感染症の発生も増加している。平成20年度は離乳豚の10.5%（養豚基礎調査、日本養豚協会），すなわち、年間150万頭以上の子豚が死亡したと推測されている。この死亡の原因の多くは肺炎、下痢である。それらは、豚繁殖・呼吸器障害症候群（PRRS）や豚サーコウイルス関連疾病（PCVAD）を起こすウイルスによるものとされているが、マイコプラズマなどの細菌に汚染されている農場ではそれらが容易に感染し、死亡率の増加を引き起こしている。

ところで、家畜感染症の予防にはワクチンの使用が防疫上、最も効果的であり、かつ、最も

SHIMOJI Yoshihiro¹, OGAWA Yohsuke¹, MUNETA Yoshihiro¹, OISHI Eiji²

¹〒305-0856 つくば市観音台3-1-5

²〒611-0041 京都府宇治市横島町24 16番地

安価な手段となる。現在国内では、従来型の生ワクチン、不活化ワクチンの使用が主流であるが、最近では、遺伝子工学的手法を利用した新しいワクチンの開発が可能になってきた。国内においては、例えば、遺伝子組換え毒素蛋白を利用した豚胸膜肺炎（App）ワクチンや、新興感染症である豚サーコウイルス2型(PCV2)感染症ワクチンがすでに使用されている。前者は、豚胸膜肺炎菌の毒素を大腸菌に作らせた成分ワクチンであり、後者は、豚サーコウイルス2型の構成成分を昆虫細胞に作らせた不活化ワクチンや、2型ウイルスと同種1型ウイルスとを合体させた不活化キメラウイルスワクチンである。このように、豚サーコウイルス2型感染症などの新興感染症に対して、非常に有効なワクチンが即座に開発されたように、遺伝子組換えワクチンは今後も家畜衛生の分野に大きな貢献をすると考えられる。

将来の家畜衛生に貢献できる次世代型ワクチンの一つとして、我々の研究グループは、一つのワクチンで複数の感染症に対して有効なベクターワクチンの開発研究を行っている。ベクターワクチンは、安全性の確認されている生ワクチンや、病気を起こさないように操作した弱毒株に他の病原体の遺伝子を導入したワクチンである。このワクチンの最大の利点は、ワクチン接

豚丹毒および豚マイコプラズマ肺炎を一度に防御できる経口投与型ワクチンの開発

種の手間とコストを減らすことが可能になることである。本稿では、我々がこれまで行ってきたワクチンの開発、特に、大規模養豚に対応できると考えられる経口投与型のベクターワクチン開発について紹介する。

2. ベクターワクチン開発の問題点

ベクターワクチンを開発・実用化するには、以下の i)～iv) の困難な問題をクリアーする必要がある。それらは、i) ベクターにする病原体の病原性を分子レベルで明らかにする、ii) その後、理論的な手法で弱毒株を作製する、iii) 導入する外来遺伝子を選択、効率の良い遺伝子導入技術および発現系を構築する、iv) ワクチン試験、である。まず、i) であるが、これは極めて困難な問題であり、解決には極めて長期間の研究が必要になる。有名なウシ型結核菌の BCG 株の弱毒化のメカニズムが明らかになったのは、BCG 株と人型結核菌の両方のゲノム全塩基配列が決定され比較解析された後である。このため、手っ取り早い方法として、弱毒化のメカニズムは不明であるがすでに使用されている生ワクチンを用いる場合がある。現在、すでに海外において様々な愛玩動物で利用されているカナリアポックスウイルスベクターがその例である。ii) は、遺伝子組換えに必要なプラスミドなどの道具が準備されており、さらに、形質転換系が確立されていることが前提になるが、グラム陽性細菌では確立されていない場合も多い。iii) は、異種病原体の感染防御抗原の同定が前提になり、さらに実用化においては、他者の特許に抵触しないで外来抗原を効率よく発現させる技術の利用が必要になる。iv) は、ベクターワクチンは通常の薬事法に加えて、いわゆるカルタヘナ法による規制を受けるため、その第一種使用規程の承認を受けるには様々な試験が必要になる。

3. これまでの研究の経緯

さて、これまでの研究で、我々は豚丹毒菌の

病原性の本体は莢膜であることを初めて明らかにした¹⁾。また、莢膜を作る遺伝子を不活性化し、弱毒株を作ることに成功している²⁾。この弱毒株に、豚マイコプラズマ肺炎を起こす病原体 (*Mycoplasma hyopneumoniae*) が豚体内に侵入し気管支内に付着・定着するために重要とされる P97 (付着因子) 抗原の遺伝子を導入し、P97 抗原の一部を菌体表層に発現する遺伝子組換え豚丹毒菌弱毒株 (YS-19 株) を作製した³⁾。この組換え株を鼻腔内に噴霧、あるいは、針なし注射器 (needle-free injector) を用いて免疫した豚は、豚丹毒強毒株の攻撃に対して完全な防御を示し、また、豚マイコプラズマ肺炎病原体強毒株の攻撃後、肺炎の病変形成率は有意に減少した^{4), 5)}。ちなみに、この P97 抗原はマイコプラズマの研究者が感染防御抗原ではない、と見向きもしなかった抗原であり、この研究で我々のグループが初めて感染防御抗原であることを証明した。

ところで、針なし注射器は現在主流の注射型ワクチンよりも安全性などの面において有用性はあると考えられるものの、豚を一頭一頭捕まえて接種する必要がある。また、養豚現場では、豚の鼻に向けてスプレーする手間を考えると、とても実用的とは言えない。そこで我々は、大規模養豚に最も適した経口投与型ワクチンとして YS-19 株は使用できないかと考え、YS-19 株の経口投与後の免疫誘導能を解析した。その結果、この株は経口投与では十分な免疫を誘導できないことが判明したが、この理由は、以下の実験で示すように、過度に弱毒化されていることが原因であると考えられた。

4. 経口投与免疫ができるワクチン

我々は、YS-19 株を無菌豚の鼻腔内にスプレーを使い噴霧投与した後、経時的に体内的菌の動態を解析した。その結果、投与後、数時間後に大量の菌が肺内で検出されたが、これらの菌は呼吸器内の防御機構により口腔側に戻された後、食道を介して消化器側へ排出されるものと考え

豚丹毒および豚マイコプラズマ肺炎を一度に防御できる経口投与型ワクチンの開発

られた。投与後、最も長く菌が分離された臓器は扁桃であったが、4日目には扁桃を含めすべての臓器から検出されなくなった。このように、YS-19株は無菌豚を使用した実験においても、極めて短期間に豚の体内から排除されることが判明した。ところで、野外においては、豚丹毒菌をはじめ、サルモネラ菌、連鎖球菌、サーコウイルス、PRRSウイルスなど様々な病原体が扁桃から分離される。このように、豚の扁桃は、宿主が外界から侵入した病原体を最初期段階で認識する上で非常に重要な免疫器官であることから、我々は、経口投与後に扁桃にある程度の期間、定着あるいは増殖できる弱毒株であれば、ワクチンベクターとして必要な免疫が誘導できるのではないかと考え、国内で使用されている豚丹毒生ワクチン株の小金井65-0.15株を用いて実験を行った。その結果、小金井65-0.15株は経口投与後、実験で確認した2週間目まではSPF豚の扁桃に定着できることが確認されたことから、我々は、経口投与型のワクチンベクターとして小金井65-0.15株を使用することにした。

5. P97抗原を発現する小金井65-0.15株の作製

その後、我々は、YS-19株を開発した系を利用し、P97抗原を発現する小金井65-0.15株(KO-P97/53S又はD株)の作製に成功した⁶⁾。

まず我々は、生後3週令の子豚を用い、KO-P97/53S株をミルクに入れ7日間連続して自由摂取させた子豚8頭と、比較対照群としてミルクのみを同じように自由摂取させた子豚2頭を用い、豚丹毒に対するワクチン効果を判定した。その結果、対照群の2頭では、豚丹毒菌の強毒株の接種後、体温の上昇、尋麻疹の発生、沈鬱状態などの臨床症状が見られ死亡した。一方、KO-P97/53S株を飲ませたワクチン群の豚では、臨床症状がまったく見られず、豚丹毒に対する強い防御免疫が確認された⁶⁾。

また、豚マイコプラズマ肺炎に対する防御効

果を見るため、我々は、生後3週令の子豚10頭にKO-P97/53D株を、また、比較対照として豚9頭に小金井65-0.15株を入れたミルクを3日間連続して自由摂取させた(図1)。その後、ワクチン投与最終日から13日目に、豚マイコプラズマ肺炎病原体の入った溶液を豚の鼻腔内にスプレー噴霧し、人為的にマイコプラズマ肺炎を起こさせた。その結果、親株を飲ませた比較対照群の豚において、肺炎病変の肺全体に占める割合は約11%だったのに対して、KO-P97/53D株を飲ませた豚ではその割合は1/4以下の2.3%に抑えられた(図2)⁶⁾。この抑制効果は、現在市販されている豚マイコプラズマ肺炎ワクチンと同等であると我々は考えている。



図1 ワクチン入りミルクを自由に飲ませるだけで免疫ができることから、豚のストレスが軽減でき、かつ、大規模養豚に対応できる。

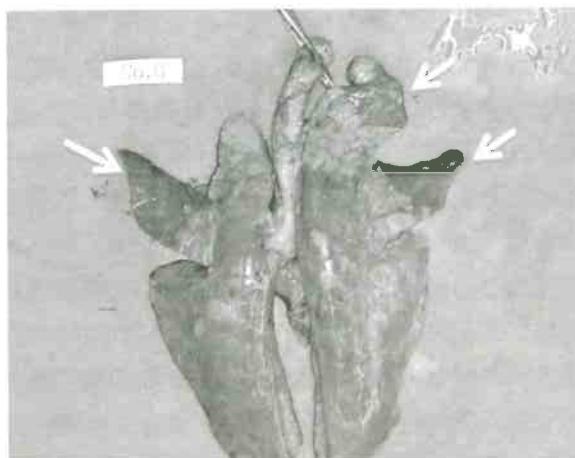
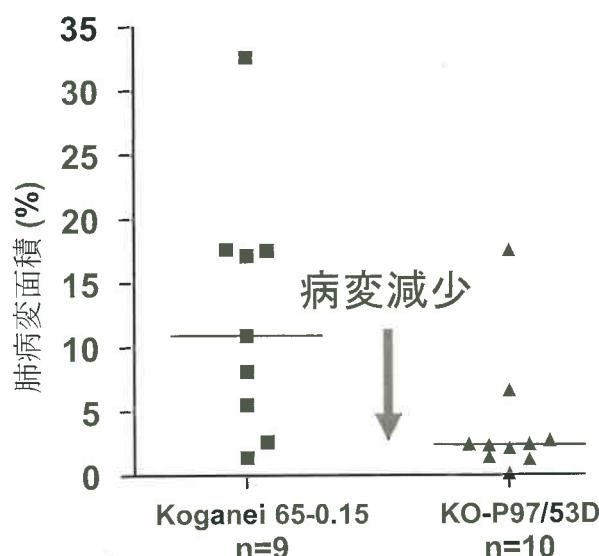


図2 ワクチン入りミルクを摂取した豚群では病変（右写真。白矢印）面積が有意に抑制された。

6. 最後に

遺伝子組換えベクターワクチンは、ベクターに導入する遺伝子を変えるだけで、別の感染症に対するワクチンの開発が可能になる。現在では、病原体入手できなくてもインターネットを通じて目的とする病原体の遺伝情報を容易に得ることができ、その情報から人工的に遺伝子を合成できる。このため、安全性および免疫誘導能にすぐれたプラットフォーム（基盤）ベクターとなる弱毒株、および、様々な外来遺伝子に対応できる発現系を開発することができさえすれば、新興あるいは再興感染症に対して、これまでの方法に比べて即座にワクチンを開発することも可能である。また、ベクターワクチンを用いた場合、ワクチンを接種した動物と自然に感染した動物との区別、すなわち、Diva (differentiating infected from vaccinated animals) 理念に基づいたワクチンの開発も可能になり、国家防疫上、重要な感染症に対応することができる。

ところで、遺伝子組換えワクチンを実用化するためには、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」

（通称カルタヘナ法）の第一種使用規程の承認を受ける必要がある。遺伝子組換えベクターワクチンは、欧米ではすでに愛玩動物（馬を含む）や家禽分野で使用され、その安全性と高い有効性は実証されているが、家畜分野では未だ実用化に至っていない。一方、国内においては、2009年6月に家禽用ベクターワクチンの第一種使用規程が初めて承認され、今後、国内においてもベクターワクチンの使用は盛んになってくるものと思われる。我々は、この度、豚丹毒菌ゲノムの全塩基配列を決定した。今後は、ゲノム解析から得られる情報を基に、更なるすぐれたワクチンベクターを開発し、世界で初めての家畜用のベクター多価ワクチンの実用化を目指したい。

謝 辞

本研究は、農林水産省の「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業（H20～H23）」の支援を受け行っている。また、本研究を遂行するに当たり、動物衛生研究所の動物管理課職員の多大なる支援を受けて行った。この場を借りて深謝したい。

参考文献

- 1) Shimoji Y. et al., (1994) *Infect Immun.* 62(7) : 2806-10.
- 2) Shimoji Y. et al., (1998) *Infect Immun.* 66(7) : 3250-4.
- 3) Shimoji Y. et al., (2002) *Infect Immun.* 70(1) : 226-32.
- 4) Shimoji Y. et al., (2003) *Vaccine.* 21(5-6) : 532-7.
- 5) 下地ら, (2007) 動物衛生研究所研究報告 第113号, 1-11.
- 6) Ogawa Y., et al., (2009) *Vaccine.* 27(33) : 4543-50

[用語解説]

豚丹毒とは

豚丹毒菌（学名：*Erysipelothrix rhusiopathiae*）の感染により起こる動物の感染症で、経済的には豚や七面鳥で被害が大きい。豚では、急性の敗血症、亜急性の尋麻疹、また、慢性の関節炎や心内膜炎を引き起こす。豚およびイノシシの豚丹毒は、国内では家畜伝染病予防法の届け出伝染病に指定されており、毎年1600頭～1800頭の被害報告の届け出がある。また、この疾病は、

出荷後に食肉検査所の屠殺時において、豚丹毒による病変、すなわち関節炎や心内膜炎が発見された場合、屠体はすべて全廃棄とすることが畜場法で定められている。このように、豚丹毒は生産者にとって大きな経済的損失を与える感染症の一ではあるが、豚丹毒はワクチンの使用で完全にその発生を予防できる。豚丹毒ワクチンには、生ワクチンと不活化ワクチンとがあり、日本国内では注射によりワクチン接種が行われているが、欧米においては飲水を介した生ワクチンの投与も行われている。

豚マイコプラズマ肺炎とは

学名が*Mycoplasma hyopneumoniae*と呼ばれる微生物により引き起こされる感染症で、その発生は世界中で問題になっている。致死性はほとんど無いが、その病原体が感染することで豚は免疫能が低下し、容易に他の細菌やウイルスの2次感染を引き起こす。伝搬性は極めて高く、一旦、農場が汚染されると、この病原体を農場から排除することは容易でない。国内の大部分の農場はこの病原体に汚染されているという報告もある。ワクチンは不活化ワクチンのみが使用されているが、この病原体の性質上、ワクチンで感染を防御することは不可能で、肺炎の程度を抑えることがワクチン接種の目的となる。

◀国内情報▶

広範囲な作物病害に効果のある 「広スペクトル微生物農薬」開発に目処

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター

竹中重仁

(現在：農研機構本部・総合企画調整部)

我が国では年間 72,000 トン(平成 20 年度)もの化学農薬が作物病害防除のために使用されているが、自然環境と調和した持続的農業技術の観点から、「減化学農薬」の防除技術の開発が強く求められている。一方で、作物病害の中でも土壤病害は卓効性のある農薬が少ないため、有効な防除技術の開発が強く求められている。そこで、生物防除微生物として極めて優れた特性を有している *Pythium oligandrum* (PO) の特性を徹底的に解明するとともに、PO の製剤化、重要病害に対する PO の施用法を検討することにより、広スペクトル微生物農薬の開発を試みたので、その成果について報告する。

1. はじめに

非病原性の *Pythium* 属菌である *Pythium oligandrum* (PO) は、農耕地に広く分布する土壤生息菌である。PO は、1) 作物根圏に定着する能力、2) 作物根圏から供給される栄養や空間を勝ち取る競争能力、3) 多くの土壤病原糸状菌に寄生する能力、4) 根圏に定着して作物に幅広い病害抵抗性を誘導する能力など、生物防除微生物として極めて優れた特性を有している。そこで、我々は生研センターの「生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業」(H16~H20)で北海道農業研究センター(竹中重仁、関口博之、増中章)、東北大学(高橋英樹、長谷修)、北海道立十勝農業試験場(清水基滋、池田幸子)、北海三共(株)(半澤卓、出崎里永子)、アリスタライフサイエンス(株)(山中聰、松田明、高井昭)および(株)サカタのタネ(加来久敏、橋本好弘)の6つの研究機関がコンソーシアムを形成し、PO の生物防除微生物としての特性を徹底的に解明するとともに、PO の製剤化を検討し、トマト青枯病を始めとした重要病害に対する PO の性能最適化を図ることにより、広範囲

な作物病害に効果のある「広スペクトル微生物農薬」の開発を試みた。

2. PO のトマト根圏への定着性の解析

PO を土壤病害の微生物農薬として実用化させるために、PO の生物農薬としての特性の一つである作物根圏への定着性の解明を、トマト(品種:マイクロトム)を用いて実施した。

初めに、土壤からの PO の特異的検出定量法と特異的染色法を開発した。土壤からの PO の特異的検出定量法は PO の rDNA の ITS 領域の特異的プライマーと特異的プローブを用いたリアルタイム PCR 法を適用して開発した。本法により、PO の DNA が乾土 1 gあたり 4 pg~40 ng 存在すれば、PO を特異的に土壤から検出・定量できるようになった¹⁾。また、作物の根圏域での PO の動態を明らかにするために、1 次抗体に *Pythium* 菌の細胞壁タンパク質抗体を、2 次抗体に緑色蛍光抗体を用いた蛍光抗体染色法を適用した。本法と共に焦点レーザー顕微鏡を用いることにより、PO のトマトの根部における定着部位や定着程度を観察できるようになった。殺菌、無殺菌の畑土壤にトマトを播種し、1 植物体あたり PO の卵胞子を $5 \times 10^2 \sim 5 \times 10^6$ 個施用して、3 週間育生し

TAKENAKA Shigehito

〒305-8517 茨城県つくば市観音台3-1-1

たトマトの根圏土壌中にPOがどの程度定着しているのかを調べた。その結果、1) POは土壌の殺菌の有無に拘わらず卵胞子の施用量が増加すると、トマトの根圏での定着量が増加すること(図1A), 2) 蛍光抗体染色法の観察から、POはトマトの根部の表皮細胞および根毛に定着し、根部表面を水で洗浄しても強く固着すること(図1B), が明らかとなった。次に、POの卵胞子をどの程度施用すればトマト青枯病に対する抑制効果が認められるかを調べ、1植物体あたりPOの卵胞子を 5×10^4 個以上施用した場合に、無処理区に比べて有意に青枯病による被害程度が軽減されることが明らかとなった。しかし、1) 5×10^6 個処理すると 5×10^4 個処理区に比べて、POが根圏に約60倍多く定着しているのにも拘わらず、抑制効果の顕著な向上は認められなかつこと、2) 接種4日後の根圏土壌における青枯病菌の菌量は、青枯病菌接種前のPOの定着量の違いにはほとんど影響されなかつことから、POの青枯病抑制機構としてトマト根圏での青枯病菌との直接的な競合作用が主因である可能性は低く、POの根圏定着によるトマトへの青枯病に対する抵抗性誘導が関与している可能性が示唆された。

3. POのトマトへの誘導抵抗性機構の解明

POが根圏に定着することによりトマトに病害抵抗性が誘導されるのかを、ノーザン法による防御関連遺伝子の発現解析やシグナル伝達変異体を用いた生物検定等により明らかにした^{2), 3)}。PO卵胞子懸濁液をマイクロトムの根に処理すると、処理4~8時間後にエチレン(ET)生成量が対照の蒸留水(DW)処理区に比べて約11倍に増加するとともに、ET誘導性の防御関連遺伝子である*LeCAS*やジャスモン酸(JA)誘導性の防御関連遺伝子である*PR-6*, *LEATL6*の発現が誘導された(図2)。一方、PO卵胞子処理後にサリチル酸(SA)量を測定すると、DWに比べて有意な差は認められず、SA誘導PR遺伝子(*PR-2a*)の発現も認められなかつた。また、PO卵胞子処理後のマイクロトムの根に青枯病菌を接種すると無処理区に比べて明らかな発病抑制効果が認められたが、JA非感受性変異体マイクロトム(*jai1-1*)の根にPO卵胞子を施用すると*PR-6*の発現誘導は認められず、その後青枯病菌を接種しても無処理区に比べて有意な発病抑制効果は認められ

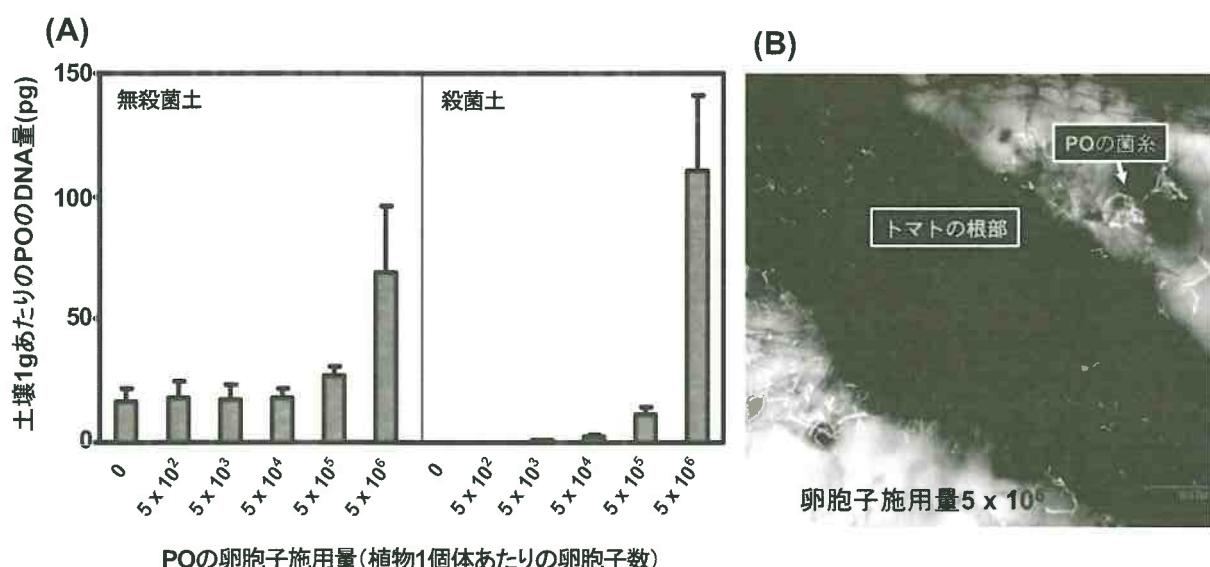


図1 卵胞子施用量の異なる土壌で3週間育生したトマトの根圏土壌でのPOの定着程度(A)と根部表面上に定着したPO菌糸(B)

なかった。以上の結果から、POが根圏に定着することによりETおよびJAを介したシグナル伝達系が関与する抵抗性がトマトで誘導されることが明らかとなった。

次に、我々はトマトに誘導抵抗性を引き起こすPOのエリシター物質をPO菌体より探索し、POの細胞壁タンパク質画分（CWP）にエリシター活性のあることを突き止めた^{4), 5)}。また、POのCWPはトマト以外にもジャガイモ、イネ、テンサイ、コムギ、シロイヌナズナに対して抵抗性誘導活性を有していることが判明した。POのCWPは2種の主要タンパク質（POD-1, POD-2）からなり（図3）、1)各々約15%の糖を含み、2)両者はアミノ酸レベルで約83%の相同性があり、3)合計で7つのCysを有し、中央部に*Phytophthora*菌のエリシタータンパク質であるエリシチンドメインを、C末にO-グリコシド型糖鎖結合ドメインを有する新しいelicitin様タンパク質であることが判明した。このPOのCWPをトマトの根に処理した際に、どのような遺伝子の発現が変動するのかを、トマトのcDNAマクロアレイを用いて解析した⁶⁾。CWP処理4時間後の遺伝子発現解析を行った結果、DW処理より発現が3倍以上に増加した遺伝子として、JAやETを介したシグナル伝達系に関与する遺伝子、糖代謝やアミノ酸代謝に関わる遺伝子、ファイトアレキシン合成などの2次代謝系に関わる遺伝子などが同定され、PO卵胞子処理と共にした遺伝子の発現が確認された。以上の結果から、PO卵胞子とCWP処理で、共通してETとJAを介したシグナル伝達系が活性化されることが明らかとなった。

マクロアレイ解析で、PO卵胞子およびCWP処理により発現が顕著に上昇する遺伝子についてはその機能解析を行った。一つは、RING-H2 zinc-finger モチーフを有するタンパク質遺伝子 *LeATL6*で、1次構造解析および実際の活性試験から、ユビキチンリガーゼE3であることが判明

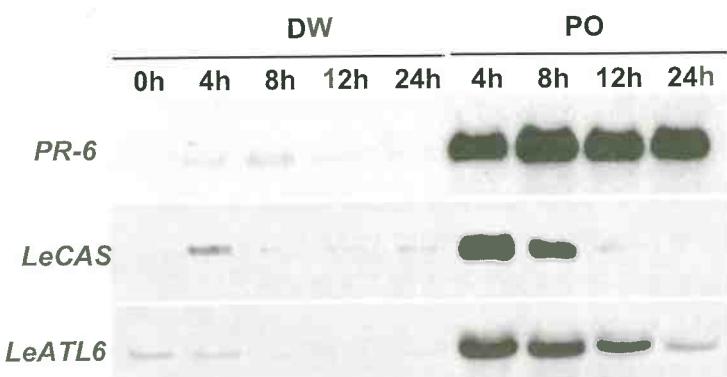


図2 PO定着によりトマトで誘導される防御関連遺伝子

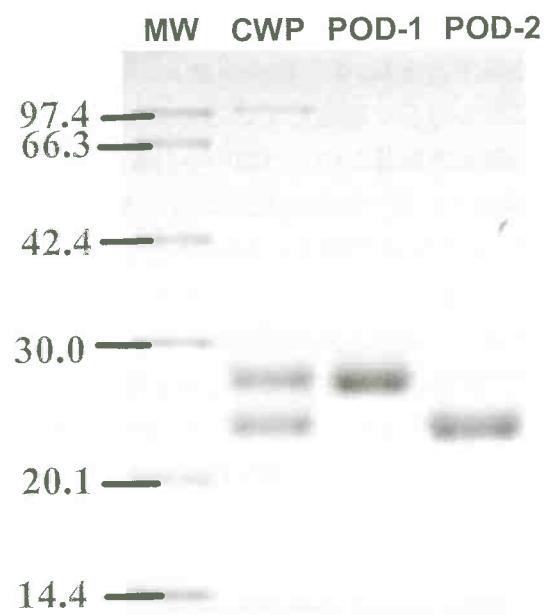


図3 主要タンパク質POD-1とPOD-2からなるPOの細胞壁タンパク質画分（CWP）

した⁷⁾。本酵素は標的タンパク質を分解させる「ユビキチンプロテアソームシステム」の中心的役割を担っている酵素である。このLeATL6によりユビキチン化される標的タンパク質の候補の一つとしてS-アデノシルメチオニン脱炭酸酵素（SAMDC）を酵母two-hybrid系により同定した⁸⁾。また、CWP処理により安定して発現が上昇するβ-シアノアラニンシンターゼ（LeCAS）遺伝子についても解析を進め、LeCASの働きで合成されるシアノアラニンがJAシグナル伝達系

の活性化とトマト青枯病に対する抵抗性誘導に寄与している可能性が示唆された。また、より詳細な分子機構をシロイヌナズナを用いて解析し、NB(nucleotide-binding)-LRR(leucine-rich repeat)ドメインをもつRタンパク質を介する抵抗性に関与するSGT1とRAR1タンパク質および全身獲得抵抗性や根圈細菌による誘導抵抗性での関与が証明されているNPR1タンパク質が、POならびにCWPによる抵抗性誘導にも関与していることが明らかとなった⁹⁾。

以上の結果を総合すると、POによるトマト青枯病の抑制機構はPOによる抵抗性誘導が主因で、POがトマト根部に定着するとトマトはPOの菌体細胞壁に存在するPOD-1とPOD-2のある構造を認識して、SGT1やRAR1を介してJAとETのシグナル伝達系を活性化させ、ファイトアレキシン合成系および塩基性PRタンパク質遺伝子群の発現を誘導させるものと考えられる。

4. PO製剤の開発

POは菌糸、卵胞子、遊走子、遊走子のう等の器官を形成するが、PO製剤の主成分としては、最も保存性の高い卵胞子を選定した。初めに卵胞子を大量に得るための培養条件を液体静置培養で検討し、市販の「人参濃縮ジュース」3%の液体培地(pH無調整)に28~30°C、4週間静置培養する条件が適していることが判明した。また、培養期間を短縮させるため、通気攪拌培養も検討し、培地を人参濃縮ジュース3%，炭酸カルシウム0.1%として、5L容量の通気攪拌培養装置に培地3Lを入れ、運転条件を培養温度30°C、回転数150rpm、通気量3L/minとすることにより、培養日数5日間で菌体が得られることが明らかとなった。次に、PO製剤として水溶液中での分散の良い顆粒水和剤の処方を検討した。初めに、POの卵胞子懸濁液にクレーを加えて脱水し、これに界面活性剤などの成分を添加して混合、押し出し造粒機で成型後、乾燥して顆粒水和剤を作製した。この顆粒水和剤の水和性を向上させPOの生育活性を抑制しない界面

活性剤として、リグニンスルホン酸重縮合物金属塩とナフタレンスルホン酸重縮合物金属塩を、またPOの生育を促進する成分として炭酸カルシウムを選択して、水中での分散が良好な顆粒水和剤(卵胞子濃度10⁶個/g)の製造に成功した(図4)。また、本製剤は脱酸素剤を添加すると室温で6ヶ月間以上の保存が可能であった。

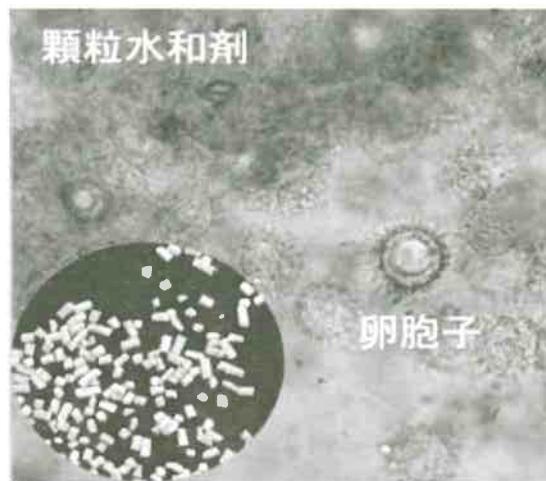


図4 PO顆粒水和剤を水に溶解した時の
卵胞子分散の様子
(出崎里永子氏原図)

5. PO製剤の施用試験

上記のPO顆粒水和剤を用いて、各種病害に対する適応試験を実施した。有効な登録農薬がないトマト青枯病に対しては、本病が甚発生条件下では、PO製剤(卵胞子濃度で1植物体あたり2×10⁶個)の「鉢上げ時1回処理」と「鉢上げ+定植1週間前の2回処理」では防除価が低いが、「鉢上げ+定植1週間前+定植2週間後の3回処理」では有意に発病を抑制することが、本病が小～中発生では「鉢上げ時1回処理」でも有意な防除効果があることが明らかとなった。種いも伝染および土壌伝染するジャガイモ黒あざ病に関しては、種いもをPO製剤(卵胞子濃度で1×10⁴個/ml)に瞬間浸漬して風乾処理することにより有効であることが判明した。さらに、PO製剤を種糲浸種前処理(卵胞子濃度で1×10⁵

個/ml)することにより、イネばか苗病、イネ苗立枯細菌病、イネもみ枯細菌病、イネごま葉枯病、イネ褐条病に対しても、現在、上市されている化学農薬並みの防除効果を示すことが明らかとなつた。

6. おわりに

以上のように、POの特性解明、POの製剤化およびPO製剤の施用技術に関する研究成果は、PO製剤の実用化を可能にするものであるが、実用化には本剤の農薬登録手続きが必要である。そのためには、POの卵胞子の大量培養法をさらに低コスト化することが特に重要な問題であり、現在、それに向けて検討中である。

文 献

- 1) Takenaka S. et al. (2008), *Phytopathology*, 98, 187-195
- 2) Hase S. et al. (2006), *Plant Pathol.*, 55, 537-543
- 3) Hase S. et al. (2008), *Plant Pathol.*, 57, 870-876
- 4) Takenaka S. et al. (2003), *Phytopathology*, 93, 1228-1232
- 5) Takenaka S. et al. (2006), *Mol. Plant Pathol.*, 7, 325-339
- 6) Takahashi H. et al. (2006), *Phytopathology*, 96, 908-916
- 7) Hondo D. et al. (2006), *Mol. Plant-Microbe Interact.* 20:72-81
- 8) Takahashi H. et al. (2010), *J. Phytopathol.*, 158 : 132-136
- 9) Kawamura Y. et al. (2009), *Plant Cell Physiol.*, 50, 924-934

◀国内情報▶

東南アジアなどで栽培される 浮イネの洪水回避機構の解明

名古屋大学 生物機能開発利用研究センター
服部 洋子・芦茹 基行

浮イネは、タイやバングラデシュ、カンボジアといった東南アジアのデルタ地帯で栽培されているイネである。このような地域では、雨季になると大規模な洪水が起こり、多くの作物は水没し溺死してしまう。しかし、浮イネは水位の上昇に合わせて節間伸長を行うことで、洪水による溺死を回避する特殊な機構を持つ。本稿では、最近発見された浮イネ関連遺伝子 SNORKEL とその洪水による溺死回避機構について紹介する。

1. はじめに

東南アジアや南アジア、アマゾン川流域や西アフリカにおいては、雨季における多量の降雨によって、大規模な河川や湖沼の氾濫がおき、多くの農地が水没してしまう。また、この洪水は一過的なものではなく長期間にわたっておこるため、多くの作物は生存できない。一方、浮イネは水位の上昇にあわせて節間伸長を行い、草丈を急激に伸長させる特殊な能力を持つため、常に葉先を水面上に出すことが可能となっている。浮イネは、この水面上に出た葉をスノーケルのように利用して呼吸を確保することで酸素不足を解消し、また光合成を行うことで伸長するためのエネルギーを確保することができるため、継続的な節間伸長を行うことができる。浮イネの節間伸長は著しく、最大7m近くまで伸長するという報告がある。浮イネはこのような特殊な機構をもつことで、洪水による被害を回避しているが、その分子遺伝学的なメカニズムはほとんど明らかとなっていないのが現状である。この浮イネが示す深水条件下での節間伸長機構を解明する事は、深水というストレスに対して植物がどのような回避機構を示すのかを明らかにするだけでなく、植物の茎葉伸長がどのように

に制御されているかについて新たな知見を与える重要な研究課題である。

浮イネ性に関する研究は、1940年代に最初の遺伝学的報告がなされてから、長い間興味深い研究対象として行われてきたにもかかわらず、その原因遺伝子は同定されていなかった。その理由として、浮イネ性が複数の遺伝子に支配されている量的形質であることが挙げられる。量的形質とは複数の遺伝子の相互作用と環境要因によって決定される形質であるため、雑種集団の分離が複雑になる。そのため、量的形質に関する遺伝子の単離は大変困難であると考えられてきた。近年になり、量的形質を統計学的に解析し、その数や染色体上の座乗位置の推定を可能にする量的形質遺伝子座 (Quantitative trait loci: QTL) 解析が確立し、これまでに収量性や耐塩性などいくつかのQTLが同定されている。

近年、浮イネに関して多くの生理学的研究が行われた結果、浮イネが深水条件下で節間伸長する際には、植物ホルモンであるエチレン・ジベレリン (GA)・アブシジン酸が関与していることが報告された¹⁾。なかでもエチレンは、深水条件下での節間伸長に重要な働きを持つことが示唆されているが、その作用機構や分子メカニズムについては全く明らかとなっていないのが現状である。

HATTORI Yoko, ASHIKARI Motoyuki

〒464-8601 名古屋市千種区不老町

2. 浮イネ関連遺伝子SNORKELの同定

浮イネの深水条件下での節間伸長に関与する遺伝子を単離する第一歩として、まず、浮イネ性に関与するQTL解析を行い、浮イネ性に関与するQTLの数と染色体上の座乗位置の特定を行った。非浮イネである栽培イネ（台中65号：T65）は深水条件下でほとんど伸長しないが、浮イネ品種（C9285）は深水条件下で著しい節間伸長を示す（図1 A）。これらを交配して得られるF₂集団を用いてQTL解析を行ったところ、浮イネの遺伝子が節間伸長を促進するというQTLが第1, 3, 12 染色体上に検出された²⁾。検出された3つのQTLに関して、それぞれ準同質遺伝子系統を作出して深水処理を行った結果、全ての準同質遺伝子系統が節間伸長を示したことから、検出された3つのQTLは節間伸長を誘導する作用を持つことが確認された³⁾。また、検出された3つのQTLのうち、第12染色体に座乗するQTLが最も強い作用を持つという結果が得られ

たため、第12染色体QTLに関するマッピングを行った。マッピングの結果、第12染色体QTLにはSNORKEL1 (SK1) およびSNORKEL2 (SK2) という2つの遺伝子が存在することが明らかとなつた。単離されたSK1およびSK2は、通常の栽培条件下（浅水条件下）ではほとんど発現がみられないが、深水条件下では著しくその発現が誘導される遺伝子であり（図1 B）、葉身・葉鞘・基部で発現が誘導されることが明らかとなつた（図1 C）。さらに、SK1およびSK2は浮イネ特異的な遺伝子であり、T65や日本晴などの非浮イネ（栽培イネ）は保持していないことも明らかとなつた。また、非浮イネであるT65にSK1およびSK2を導入した形質転換体を作出したところ、深水条件下で節間伸長を示した。さらに、SK遺伝子を非浮イネで過剰発現させると浅水条件下でも節間伸長を誘導した。以上の結果から、SK1およびSK2は浮イネ性を付与する遺伝子であると結論した⁴⁾。

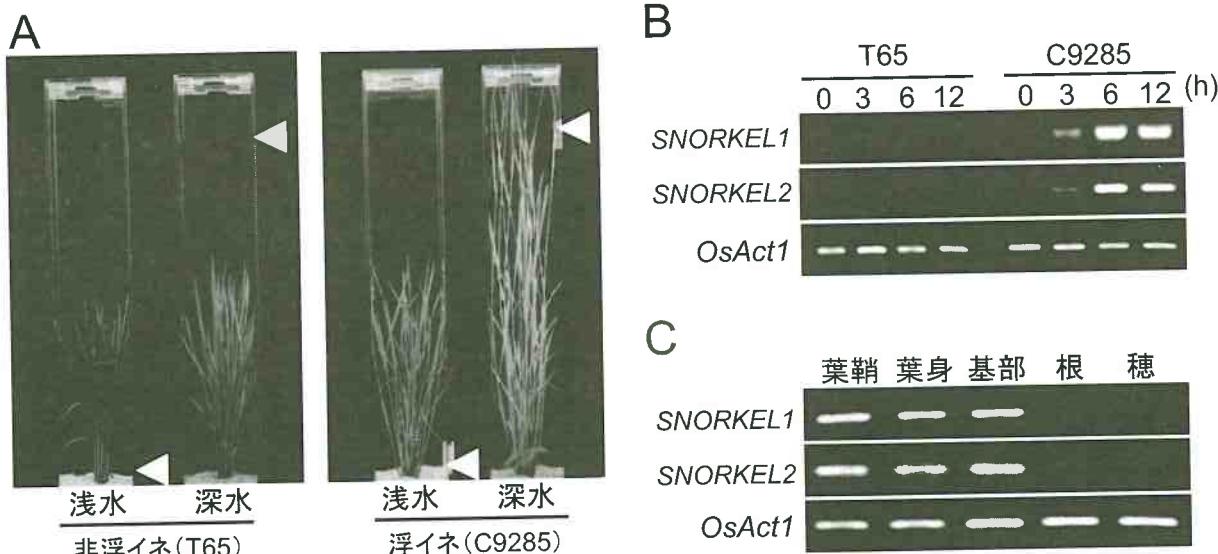


図1 深水条件下における表現型とSNORKEL遺伝子の発現

- A 深水処理後7日目の浮イネの表現型。矢印は水位を示す。
- B 深水条件下におけるSNORKEL遺伝子の発現。数字は深水処理後時間を示す。
- C 深水条件下における部位特異的なSNORKEL遺伝子の発現。

3. *SK1*および*SK2*遺伝子の機能解析

単離した*SK*遺伝子について遺伝子構造を解析すると、内部に核移行シグナルと1つのAP2/ERFドメインをもつことが明らかとなった(図2A)。AP2/ERFドメインをもつ遺伝子は転写因子であると考えられており、*SK*遺伝子はそのアミノ酸配列や数によってエチレン応答性をもつERF型の転写因子群(ethylene response factors: ERFs)に含まれることが推測された(図2B)。*SK*遺伝子がエチレン応答性を持つということは、エチレンやGA, ABA, オーキシン, サイトカイニンなどの植物ホルモンを処理した場合、エチレン処理においてのみ*SK*遺伝子の発現が著しく誘導されるということから確認された(図2C)。

次に、ERFsのプロモータに結合するエチレンシ

グナル伝達上の因子であるEIN3 (ETHYLENE INSENSITIVE3)と*SK*遺伝子のプロモータ領域に関する結合アッセイを行うと、両者での結合が観察されたことから*SK*遺伝子はエチレンシグナル伝達上で働く因子であることが示唆された。また、Yeast-one hybridシステムを用いた転写活性化能の調査から、*SK*遺伝子は特にC末端領域において転写活性化能を有していることが明らかとなった。さらに、緑色蛍光タンパク質を用いて細胞内局在性を調べた結果、*SK*遺伝子産物は核に局在することが明らかとなった。以上のことから、単離した*SK*遺伝子は浮イネ特異的なエチレン応答性を持つ転写因子であり、深水条件下で発現が誘導されるエチレンシグナル伝達上で働く因子であると考えられた⁴⁾。

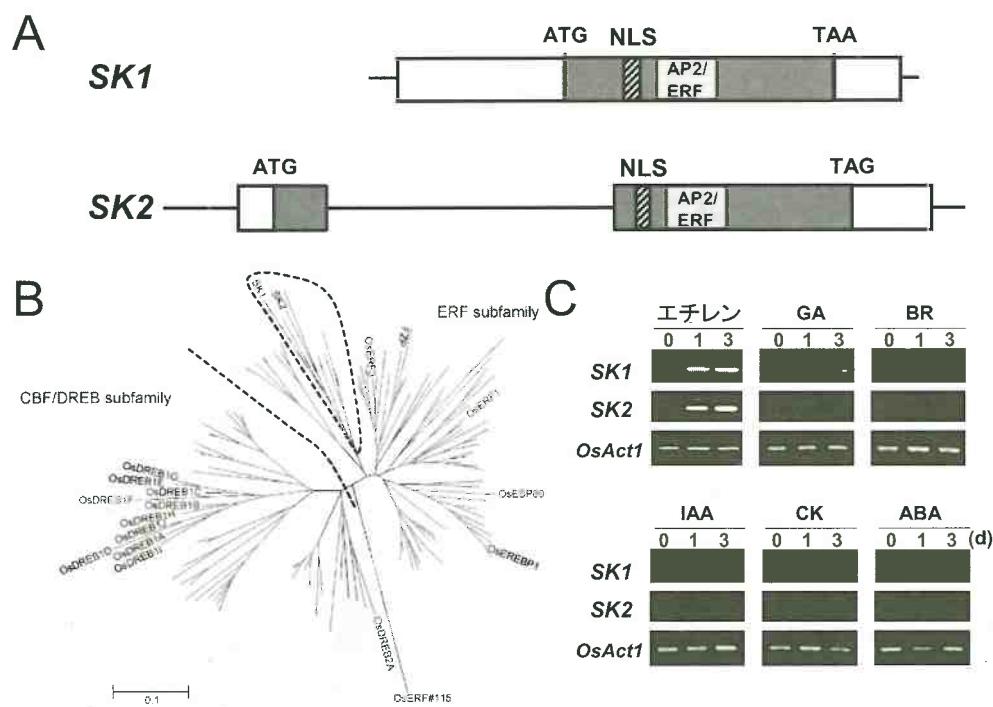


図2 *SK*遺伝子の機能解析

A *SK*遺伝子の遺伝子構造。NLS: 核移行シグナル, □: 非翻訳領域

B 系統樹解析における*SK*遺伝子の分類

C 各種植物ホルモン添加における*SK*遺伝子の発現。BR: ブラシノステロイド, IAA: オーキシン, CK: サイトカイニン, ABA: アブシジン酸

4. 浮イネの節間伸長と植物ホルモン

では、実際に浮イネの節間伸長誘導しているのは何であろうか？これまでの研究から、SK遺伝子が浮イネ特異的な遺伝子であり重要な働きをしていることは明らかであるが、転写因子であるSK遺伝子が直接節間伸長を制御しているとは考えにくい。そのため、植物の伸長生長に深く関与している植物ホルモンに注目した。植物ホルモンは、自身も時間的・空間的に厳密な制御を受けながら、植物の発芽・生長から老化までのありとあらゆるプロセスに関与している。また乾燥・塩・傷害や病原菌の感染など各種のストレスに対する防御反応にも関与していることが知られている。

そこで、深水条件下での浮イネにおいてどのような植物ホルモンが作用しているのかを知るために、まず、植物ホルモン含量がどのように

変化しているのか測定を行った。その結果、浮イネの節間伸長に深く関与していると考えられているエチレンは非浮イネ、浮イネ共に深水条件下で同程度上昇することが明らかとなった(図3 A)。さらに、浮イネにエチレンを添加すると節間伸長が誘導され、エチレン作用阻害剤を加えると節間伸長が抑制されたことから、エチレンは節間伸長に重要であることが明らかとなった(図3 B)。一方、GAは浮イネにおいてのみ、深水条件下で含量が増加する結果が得られた(図3 C)。他の植物ホルモンについては、浮イネと非浮イネの間で著しい差はみられなかった。GAは植物の生長を促進することで知られているホルモンであることから、深水条件下での浮イネ特異的なGA含量の増加が、浮イネが示す節間伸長に深く関与していることが示唆された。さらに、浮イネに通常の栽培条件下でGAを与えると節間伸長が誘導されるが、GA合成阻害剤を同時

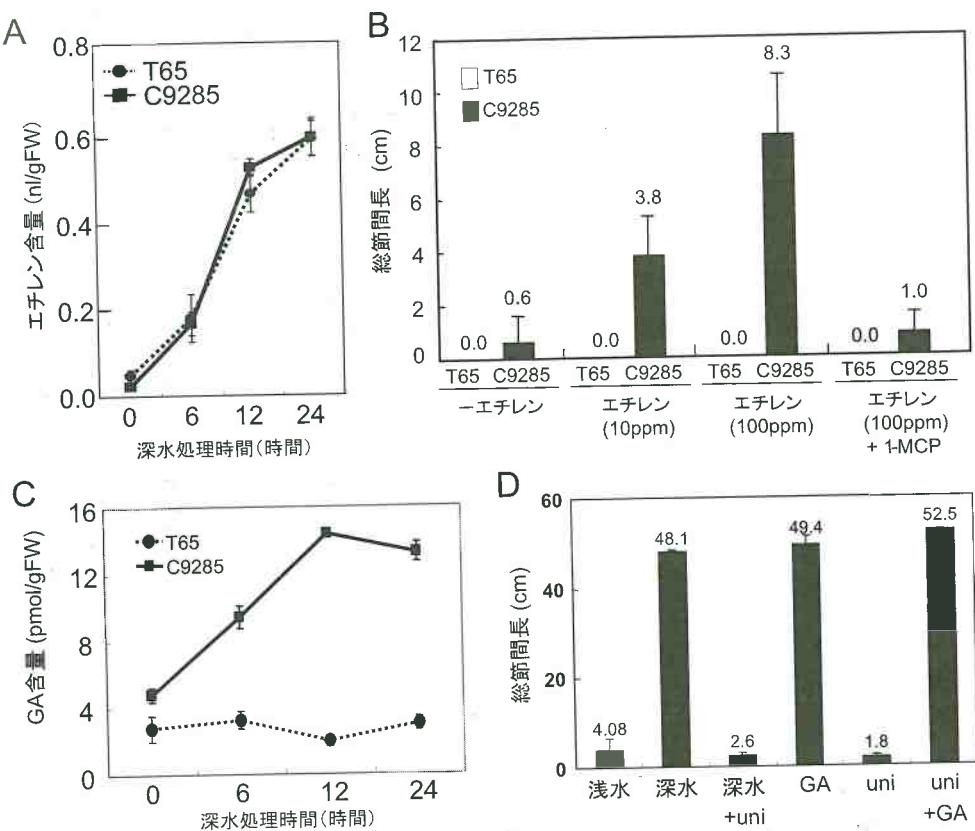


図3 節間伸長と植物ホルモン

A 深水条件下におけるエチレン含量 B エチレン添加による節間伸長。1-MCP:エチレン作用阻害剤
C 深水条件下におけるGA含量 D GA添加による節間伸長。uni: GA合成阻害剤（ウニコナゾール）

に与えるとその伸長が抑制されること、また深水条件でみられた節間伸長がGA合成阻害剤を同時に処理すると抑制されることから、GAは節間伸長に必須であることが推測された(図3D)。

5. 浮イネの洪水回避機構

これまでの研究結果から、浮イネの洪水回避機構について次のようなモデルが考えられる(図4)。深水条件下では、非浮イネ・浮イネとともにエチレン含量が増加する。非浮イネでは、増加したエチレンをシグナルとして受け取るSK遺伝子が存在しないためシグナルが伝達されず、またGA含量も増加しないため伸長できず水没し溺死してしまう。一方、浮イネでは深水条件下で植物体に蓄積したエチレンをシグナルとして受け取るSK遺伝子が存在する。ERFsであるSK遺伝子は、エチレンシグナル伝達経路においてEIN3によって発現が誘導され、さらに下流に存在す

る遺伝子の発現を制御することで下流ヘシグナルが伝達される。同時にGA含量が増加することで節間伸長が誘導され、深水条件下での著しい伸長生長を可能にしていると考えられた。

現在までの結果では、SK遺伝子がGAに対して直接的に作用しているのか、間接的に作用しているのかについてはわかっていない。また、GA含量の増加に対してのみ作用しているのか、あるいはシグナル伝達に対しても作用しているのかについては不明のままである。しかし、浮イネは深水条件下において、エチレンとGAという2つの独立したネットワークをSK遺伝子という特異的な因子でつなぐことによって新たなネットワークを構築し、水位の上昇に対して迅速な反応を引き起こすことで、洪水という不良環境に適応していると考えられる。

6. 今後の展望

SNORKEL遺伝子の発見により、浮イネがどのようにして洪水を回避しているか、その分子メカニズムについて明らかになりつつある。しかし、現在のところ、SK遺伝子という浮イネ特異的な因子が発見されただけに過ぎず、SK遺伝子の下流因子の特定や、SK遺伝子がどのようにしてGAや節間伸長に関わっているのかという部分に関して不明な点が多く残されている。また、浮イネが水位の上昇を植物体のどの部分で、どのようにして感知しているのかについては明らかとなっていない。今後は、SK遺伝子の下流因子を特定すると共に、深水条件下での節間伸長機構についてさまざまな角度から研究を行い、浮イネの洪水回避機構について研究を深めていきたい。

もう一つの重要な研究課題として、浮イネの育種があげられる。浮イネは東南アジアのような大規模かつ長期的な洪水環境下で唯一栽培可能な穀物である。しかし、そのような重要な穀物であるにもかかわらず、その収量が極めて低いことが問題となっている。その原因として、浮イネに関する遺伝学的な知見が乏しいために、

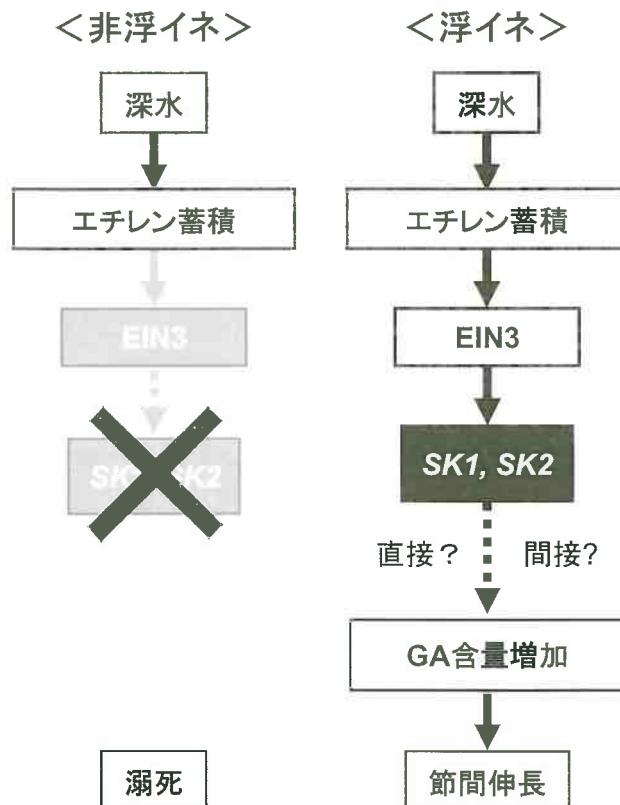


図4 深水条件下における節間伸長モデル

育種がほとんど行われていないことが挙げられる。本研究の成果において、QTL解析によって検出された3つのQTL全てを通常の栽培イネ（T65）に交配によって導入したところ、深水条件下で浮イネとほぼ同程度の節間伸長を示すことが明らかとなった⁴⁾。この結果は、非浮イネに3つの浮イネ関連QTLを導入することで浮イネに変化させられるということを示している。これまでに当研究室にて単離された収量性に関するQTLや、耐病性のQTLなどと浮イネ性QTLを組み合わせることによって、浮イネ性に高収量性を付与させることが可能となり、浮イネ育種において大きく貢献できることが期待される。

謝 辞

本研究を進めるにあたって、名古屋大学の北野英己教授、森仁志教授、松岡信教授、理化学研究所の榎原均博士、生物資源研究所の松本隆博士、呉健忠博士、九州大学の吉村淳教授をはじめ多くの方々にご指導、ご協力を受け賜りました。ここに深謝致します。

本研究は、農林水産省 新農業展開ゲノムプロジェクト（QT-2003およびQT-4002）のサポートを得て行われました。

文 献

- 1) Kende, H. et al. (1998) *Plant Physiol.*, 118, 1105-1110
- 2) Hattori, Y. et al. (2007) *Breed. Sci.*, 57, 305-314
- 3) Hattori, Y. et al. (2008) *Breed. Sci.*, 58, 39-46
- 4) Hattori, Y. et al. (2009) *Nature*, 460, 1026-1030

◀国内情報▶

共生細菌“ボルバキア”の遺伝子がマツノマダラカミキリの常染色体上に大規模に転移していることを発見

¹独立行政法人 森林総合研究所東北支所, ²独立行政法人 産業技術総合研究所,
³放送大学, ⁴独立行政法人 森林総合研究所, ⁵愛媛大学

相川拓也¹・安佛尚志²・二河成男³・菊地泰生⁴・柴田洋⁵・深津武馬²

野外で採集したマツノマダラカミキリ個体群についてボルバキアの感染状況を調査したところ、マツノマダラカミキリ体内からボルバキアの*fisZ*遺伝子が検出された。このことから、マツノマダラカミキリはボルバキアに感染しているものと考え、そのボルバキアの性質を解明するための研究を進めた。ところが、それらの研究の結果、ボルバキアがマツノマダラカミキリに感染しているのではなく、ボルバキアの遺伝子がマツノマダラカミキリの常染色体上に転移しているという事実が明らかとなった。

1. はじめに

ボルバキアは主に昆虫類の細胞内に共生する細菌で、全昆虫種の約60%がこの細菌に感染していると言われている¹⁾。この細菌は、卵の細胞質を通じて母親から次世代へと感染する手段をとるが、その過程で宿主昆虫の生殖機能を操作するというユニークな性質を持つ。たとえば、細胞質不和合性（感染雄と非感染雌との間で次世代を作らせない）、雄殺し（雄に発育すべき卵を孵化させない）、そして雄の雌化（遺伝的には雄でも雌に発育させる）などが挙げられる。このように、ボルバキアは宿主昆虫の生殖機能を巧みに操ることにより、効率的かつ急速に個体群の中に広がっていく²⁾。

近年、このボルバキアが引き起こす生殖異常現象を、害虫に対する生物的防除技術として利用する試みが行われている。たとえば、果物類

AIKAWA Takuya¹, ANBUTSU Hisashi², NIKOH Naruo³, KIKUCHI Taisei⁴, SHIBATA Fukashi⁵, FUKATSU Takema²

¹〒020-0123 岩手県盛岡市下厨川字鍋屋敷
92-25

²〒305-8566 茨城県つくば市東1-1-1

³〒261-8586 千葉県千葉市美浜区若葉2-11

⁴〒305-8687 茨城県つくば市松の里1

⁵〒790-8577 愛媛県松山市道後樋又10-13

の大害虫であるチチュウカイミバエでは、細胞質不和合性を引き起こすボルバキアを利用して、個体群を抑制できることが実験的に示されている³⁾。また、衛生害虫として知られるヒトスジシマカでも、細胞質不和合性をもたらすボルバキアによって、個体群を衰退させる試みが行われている⁴⁾。このように、ボルバキアは害虫に対する生物的防除素材として利用できる可能性を秘めていることから応用的な分野でも注目を集めている。

マツノマダラカミキリはマツ材線虫病の病原体であるマツノザイセンチュウを媒介する昆虫で、日本のマツ林に最も甚大な被害をもたらしている森林害虫である。本病は北アメリカからの侵入病害であり、日本に侵入してから既に100年以上経過しているものの、未だその被害量は年に600,000–700,000m³という非常に高いレベルで推移している。マツノマダラカミキリは、中国、韓国、台湾など日本以外の国でも本病を媒介していることから、東アジアの地域で最も重要な森林害虫として認識されている。

我々は、ボルバキアを利用したマツノマダラカミキリの生物的防除の可能性を検討するため、野外からマツノマダラカミキリ個体群を採集し、それらのボルバキアの感染状況を調査した。その結果、マツノマダラカミキリ体内からボルバ

キアの遺伝子が検出されたことから、マツノマダラカミキリにボルバキアが感染しているものと判断した。ところが、そのボルバキアの性質を解明するための研究を進めた結果、ボルバキアがマツノマダラカミキリに感染しているのではなく、ボルバキアの遺伝子がマツノマダラカミキリの常染色体上に転移しているという事実が明らかとなった。本稿では、この予想外の結論に至るまでの研究の経緯について報告する。

2. マツノマダラカミキリから検出されたボルバキア遺伝子

茨城県かすみがうら市で発生したクロマツ枯死木、および沖縄県宮古島で発生したリュウキュウマツ枯死木を採集し、それらからマツノマダラカミキリ成虫を脱出させた。脱出成虫はすぐに解剖し、脳、胸部筋肉、後脚筋肉、そして精巣または卵巣を取り出した後、それぞれからDNAを抽出してボルバキアの感染の有無をPCR法により調査した。その結果、かすみがうら産のマツノマダラカミキリではすべての組織からボルバキアの遺伝子 (*ftsZ*) が検出されたが、宮古島産のマツノマダラカミキリではどの組織からも検出されなかった（図1）。この結果から、かすみがうら産のマツノマダラカミキリにのみボルバキアが感染していると判断し、かすみがうら産のマツノマダラカミキリをボルバキア感染系統として、一方、宮古島産のマツノマダラカミキリを非感染系統として維持した。

3. 抗生物質処理で除去されないボルバキア遺伝子

細菌であるボルバキアは抗生物質に対して感受性がある。したがって、宿主昆虫に抗生物質入りの餌を与えることによって、宿主体内のボルバキアを除去することが可能である。そこで、ボルバキア感染系統のマツノマダラカミキリに対し抗生物質（テトラサイクリン）入りの人工飼料を与え、体内からのボルバキアの除去を試

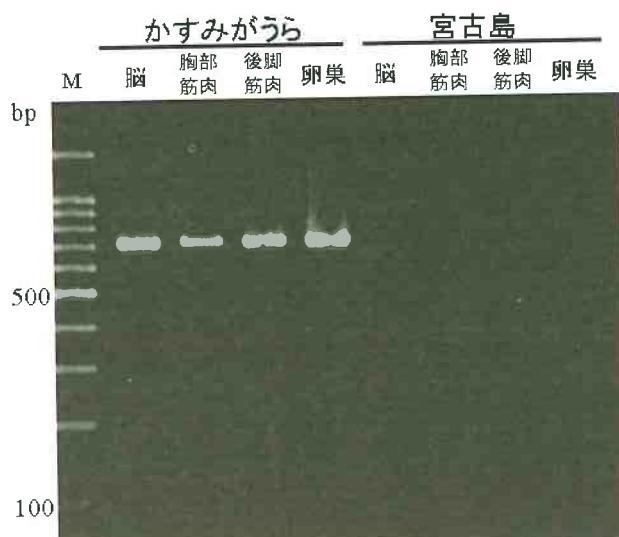


図1 かすみがうら産および宮古島産マツノマダラカミキリ雌成虫の各組織からのボルバキア *ftsZ* 遺伝子のPCR検出。
M : サイズマーカー (100bp DNA ladder)。

みた。まず、ボルバキア感染系統の雌雄を交配させ孵化幼虫を採集し、それらの幼虫をテトラサイクリン（0.5%または1.0%）入りの人工飼料上で2, 4, または6週間飼育した。飼育終了後、幼虫体内から脂肪体を採取し、DNAを抽出してPCR法により *ftsZ* 遺伝子の有無を調査した。幼虫は抗生物質入りの人工飼料上で順調に発育したが、抗生物質の濃度や飼育期間の長さに関係なく、すべての幼虫から *ftsZ* 遺伝子が検出された（表1）。6週間という長期間にわたる抗生物質処理にもかかわらず、マツノマダラカミキリの体内からボルバキアの遺伝子を除去することはできなかった。

4. メンデルの法則にしたがって遺伝するボルバキア遺伝子

一般的にボルバキアを含む細胞内共生細菌は雌から次世代へと感染する手段を取り、雄からは決して感染しない。マツノマダラカミキリのボルバキアの遺伝様式を調査するため、ボルバキア感染系統と非感染系統を用いて2つの組み合わせによる交配実験を行った。1つは、①非感染

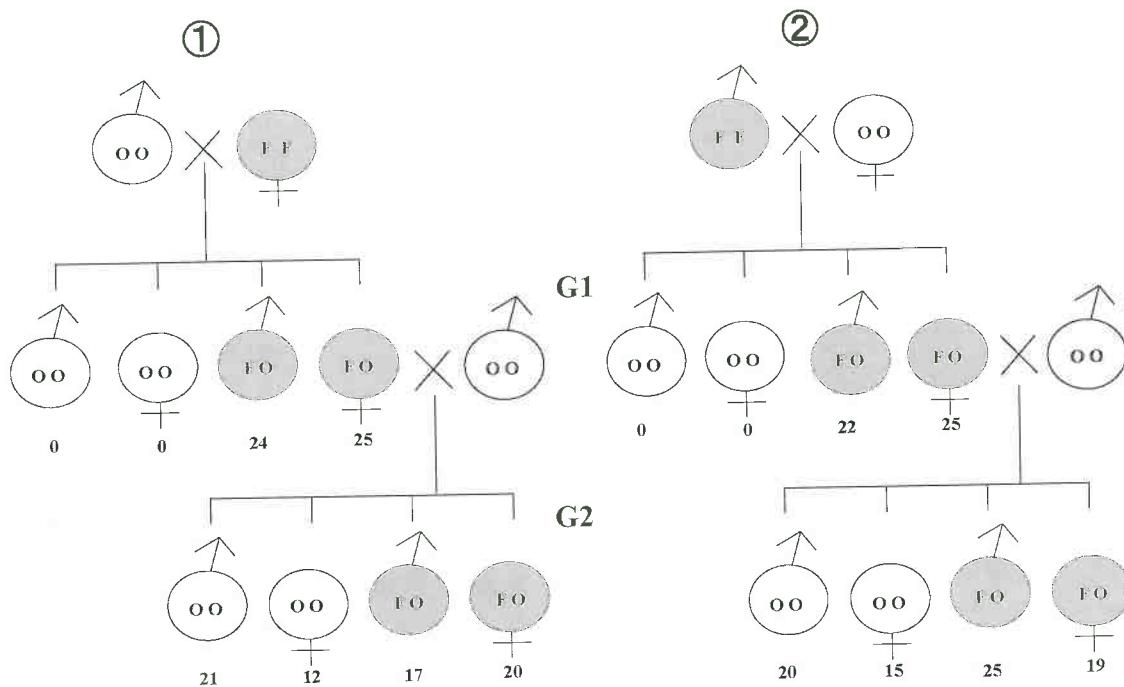
表1 抗生物質（テトラサイクリン）処理によりボルバキア *ftsZ* 遺伝子が除去されたマツノマダラカミキリの割合

飼育期間（週）	<i>ftsZ</i> 遺伝子を除去できた個体の割合 (%)	
	(平均体重±標準偏差mg) [n]	
	テトラサイクリン濃度0.5%	テトラサイクリン濃度1.0%
2	0 (445±92) [9]	0 (218±132) [7]
4	0 (916±340) [9]	0 (818±333) [8]
6	0 (1168±89) [7]	0 (1087±268) [8]

系統の雄と感染系統の雌の組み合わせであり、もう1つは②感染系統の雄と非感染系統の雌の組み合わせである。これらの組み合わせによって得られた次世代幼虫（G1）を人工飼料上で成虫になるまで飼育し、羽化後、成虫の中脚1本を切り取りその筋肉からDNAを抽出してPCR法により*ftsZ* 遺伝子の有無を調査した。次に、*ftsZ* 遺伝子が検出されたG1世代の雌個体と非感染系統の雄を交配させ、その次世代幼虫（G2）をG1幼虫と同様に人工飼料上で成虫になるまで飼育し、再び成虫の中脚の筋肉を採取して*ftsZ* 遺伝子の有無を調査した。その結果、①と②のどちらの組み合わせでも、得られたG1世代の個体はすべて*ftsZ* 遺伝子を持っていた。（図2）。すなわち、マツノマダラカミキリのボルバキア遺伝子は雌からだけでなく雄からも100%次世代に遺伝した。しかし、*ftsZ* 遺伝子が検出されたG1世代の雌個体と非感染系統の雄の交配により得られたG2世代の個体では、*ftsZ* 遺伝子が検出される個体と検出されない個体が約1:1の割合で出現した（図2）。このように、マツノマダラカミキリから検出される*ftsZ* 遺伝子は、まるでマツノマダラカミキリの常染色体上に存在するかのように、メンデルの法則にしたがって遺伝した（図2）。

5. 親の組み合わせパターンにより量が変化するボルバキア遺伝子

もし、この*ftsZ* 遺伝子が本当にマツノマダラカミキリの常染色体上に存在するのであれば、感染系統の雌雄間の交配で得られた次世代の個体（ボルバキア遺伝子ホモ個体）は、感染系統と非感染系統間の交配で得られた次世代の個体（ボルバキア遺伝子ヘテロ個体）の2倍の量のボルバキア遺伝子を持っていると推測される（図2）。そこで、感染系統雄×感染系統雌、非感染系統雄×感染系統雌、感染系統雄×非感染系統雌の3つの組み合わせを作り、得られた次世代成虫から卵巣、精巣、胸部の筋肉を採取後DNAを抽出して、各組み合わせ間で*ftsZ* 遺伝子の量を定量PCR法により比較した。その結果、予測された通り、ボルバキア遺伝子ホモ個体はヘテロ個体の2倍近い*ftsZ* 遺伝子の量を持っており、また、ヘテロ個体間の比較（非感染雄×感染雌と感染雄×非感染雌）では、*ftsZ* 遺伝子の量に違いは見られなかった（図3）。この結果から、マツノマダラカミキリから検出される*ftsZ* 遺伝子は、マツノマダラカミキリの常染色体上に存在することが明らかとなった。

図2 マツノマダラカミキリにおけるボルバキア *ftsZ* 遺伝子の遺伝様式。

①：非感染系統の雄と感染系統の雌の組み合わせ、②：感染系統の雄と非感染系統の雌の組み合わせ。灰色の雌雄シンボルは *ftsZ* 遺伝子を持っていることを示す。雌雄シンボルの円中の文字は *ftsZ* 遺伝子をもつ個体 (FF), *ftsZ* 遺伝子を持たない個体 (OO), *ftsZ* 遺伝子をヘテロで持つ個体 (FO) を示す。雌雄シンボル下の数値は得られた子孫の数を示す。

6. 大規模に転移しているボルバキア遺伝子

ftsZ 遺伝子以外にも転移している遺伝子があるかどうか調べるために、PCR 法により網羅的なボルバキア遺伝子の検出を試みた。はじめに、感染系統の個体を対象にボルバキアが持つ 214 の遺伝子について調査したところ、*ftsZ* 遺伝子を含む 31 の遺伝子が検出された（図 4）。次に、非感染系統の個体についても調べたところ、こちらからも 30 ものボルバキアの遺伝子が検出された（図 4）。すなわち、こ

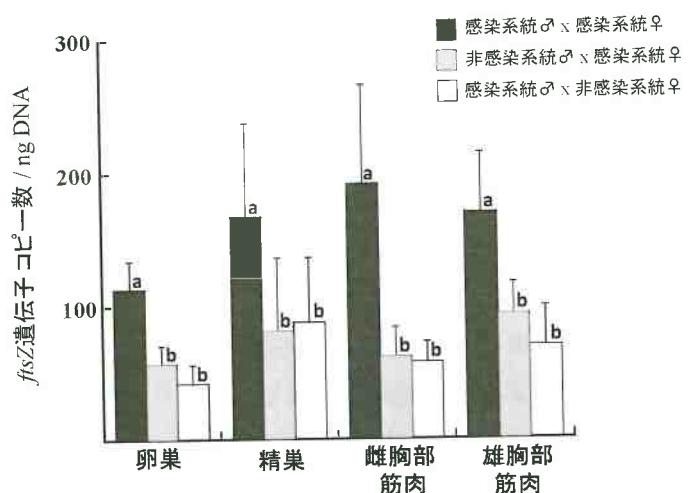


図3 マツノマダラカミキリの体内各組織における *ftsZ* 遺伝子の量
 黒：感染系統雄 × 感染系統雌の次世代、灰色：非感染系統雄 × 感染系統雌の次世代、白：感染系統雄 × 非感染系統雌の次世代。各組み合わせで得られた次世代成虫 10 頭を用い、その平均値と標準偏差を示した。図中の異なる文字 (a, b) は統計的に有意な差があることを示す。

共生細菌“ボルバキア”の遺伝子がマツノマダラカミキリの常染色体上に大規模に転移していることを発見

これら2のマツノマダラカミキリ個体群は、遺伝子の種類や数は異なるものの、どちらも数多くのボルバキアの遺伝子を保持していたことが明らかとなった。

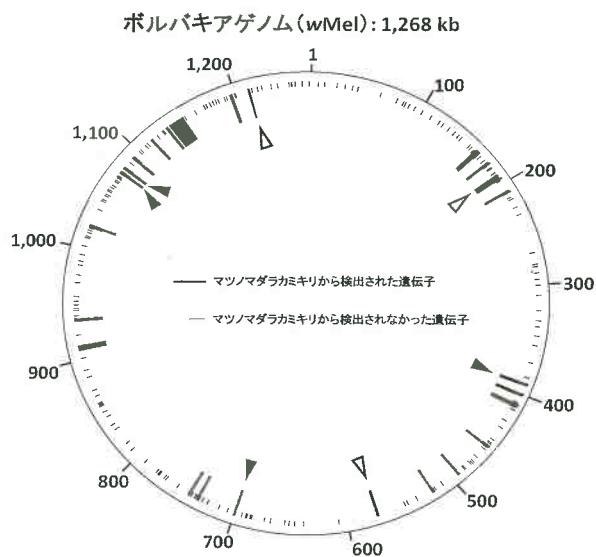


図4 ボルバキアゲノム上(キイロショウジョウバエ由来のボルバキア:wMel)にマッピングしたマツノマダラカミキリから検出されたボルバキア遺伝子

黒三角：かすみがうら産マツノマダラカミキリからのみ検出された遺伝子

白三角：宮古島産マツノマダラカミキリからのみ検出された遺伝子

7. マツノマダラカミキリの7番目の常染色体上に存在していたボルバキア遺伝子

ボルバキアの遺伝子が宿主昆虫の常染色体上にあることを視覚的に示すため、Fluorescent *in situ* hybridizationによる解析を行った。この解析には、ボルバキア感染系統の精巣を染色体標本として、また、3つのボルバキア遺伝子(*priN*, *petaA*, *gyrA*)を含む約5.5kbの遺伝子断片をプローブとして使用した。マツノマダラカミキリには10本(2n=20)の染色体があり、大きい方から数えて7番目の染色体上にボルバキアの遺伝子があることが確認された(図5)。また、1本の染色体上に2つのボルバキアシグナルが見られたことから、感染系統の個体はボルバキア遺伝子のホモ接合体であることが証明された(図2, 図3, 図5)。

8. 終わりに

このように、*ftsZ*遺伝子の検出によってボルバキア感染系統として扱われていたかすみがうら産のマツノマダラカミキリ個体群は、実はボルバキアに感染しているのではなく、ボルバキアの遺伝子を自身の常染色体上に持っている集団であることが明らかとなった。また、*ftsZ*遺伝子が検出されずに非感染系統として扱われていた宮古島産の個体群も、かすみがうら産と同様に、ボルバキアの遺伝子断片を保持していることがわかり、どちらの個体群も水平転移によって獲得したボルバキアの遺伝子を数多く持っていることが示された。しかし、*ftsZ*遺伝子でも見られたように、両個体群から検出されたボルバキアの遺伝子の種類や数は必ずしも一致しないなかったことから、これらには地理的な変異があるのかもしれない。今後、マツノマダラカミキリで起こったボルバキア遺伝子の水平転移という現象をより詳しく理解するためには、日本全国、そしてアジア各国を含めたマツノマダラカミキリの網羅的な調査が必要である。

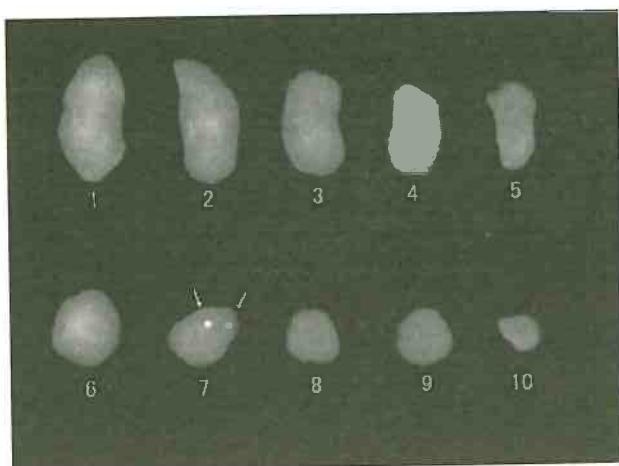


図5 マツノマダラカミキリの染色体上 (metaphase II)

に存在するボルバキア遺伝子

10本の染色体のうち大きい方から数えて7番目の染色体上に

ボルバキアの遺伝子の存在を示すシグナルが見える(矢印)。

これまで、生物の種の壁を越えた遺伝子の移動、すなわち「遺伝子の水平転移」という現象は、細菌などの下等な生物の間では比較的頻繁に起こり、かつ、それらの進化にも大きく寄与していることが知られていたが、昆虫や動物などの高等生物では非常にまれな現象であるととらえられてきた。しかし、昨今の高等生物を対象としたゲノム解析研究の進展により、高等生物でも広く起こりうる現象であることが徐々に明らかにされつつある^{5) 6) 7) 8)}。それらに加え、今回、新たにマツノマダラカミキリで大規模な細菌由来の遺伝子の転移を発見できたことは、今後、高等生物において微生物から獲得した遺伝子がどのような運命をたどり、そして高等生物の進化にどのような影響を与えるのかを研究していく上で大変重要な知見となるであろう。

謝 辞

本研究は、科学研究費補助金（若手研究B：19780126）の助成を受けて行われた。

文 献

- 1) Hilgenboecker, K. et al. (2008), *FEMS Microbiol. Lett.*, 281, 215–220
- 2) Bourtzis, K. and Miller, T. A. (2003), *Insect symbiosis*, CRC press, FL
- 3) Zabalou, S. et al. (2004), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 15042-15045
- 4) Xi, Z. et al. (2006), *Proc. R. Soc. B*, 273, 1317-1322
- 5) Andersson, J. O. (2005), *Cell. Mol. Life Sci.*, 62, 1182-1197
- 6) Keeling, P. J. and Palmer J. D. (2008), *Nat. Rev. Genet.*, 9, 605-618
- 7) Kondo, N. et al. (2002), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 14280-14285
- 8) Dunning Hotopp, J. C. et al. (2007), *Science*, 317, 1753-1756

◀国内情報▶

カドミウム高吸収イネ品種による カドミウム汚染水田の浄化技術

¹独立行政法人 農業環境技術研究所 土壌環境研究領域, ²現国立大学法人
神戸大学大学院 農学研究科, ³山形県農業総合研究センター 食の安全環境部,
⁴新潟県農業総合研究所 基盤研究部, ⁵福岡県農業総合試験場 土壌・環境部,
⁶秋田県農林水産技術センター 農業試験場 生産環境部, ⁷三菱化学株式会社
コーポレートマーケティング部

村上政治¹・荒尾知人¹・阿江教治^{1,2}・中川文彦³・
本間利光⁴・茨木俊行⁵・伊藤正志⁶・谷口彰⁷

カドミウム高吸収イネを「早期落水栽培法」で2~3作栽培することにより、汚染土壌中のカドミウム濃度は20~40%低減した。その跡地に栽培した食用イネ玄米中のカドミウム濃度は、本研究成果を用いない場合に比べて40~50%低減した。「もみ・わら分別収穫法」と「現地乾燥法」を組み合わせることにより、カドミウムを吸収させたイネの処理費用をより抑制することに成功した。

1. はじめに

カドミウムは、もともと土壤や鉱物中など天然に広く存在する重金属元素であるが、日本国内には、過去の鉱山、精錬所及び工場等から排出された高濃度のカドミウムを含む排水や排煙によって汚染された水田が存在する。コメに含まれるカドミウムの国内基準値は、1970年に1.0 mg/kgと制定された。それ以来、カドミウム濃度が1.0 mg/kgを超過する汚染米を産出したカド

ミウム汚染水田に対しては、これまでに恒久対策として「客土」が行われてきた。一方、カドミウム濃度が0.4~1.0 mg/kgの準汚染米を産出した水田に対しては、カドミウム吸収抑制対策として、「アルカリ資材施用(注1)」や「出穂前後3週間湛水管理(図1上)」が推奨されてきた。しかし、2006年7月、コーデックス委員会(FAO/WHO合同食品規格委員会)が、コメに含まれるカドミウムの国際基準値を0.4 mg/kgと制定したことを受け、現在、厚生労働省はカドミウムの国内基準値を0.4 mg/kgに改正することを検討している。カドミウム濃度が0.4~1.0 mg/kgの準汚染米を産出する水田の中には、上述のカドミウム吸収抑制対策のみでは現在検討されている新たな基準値を達成できないものもあり、その場合には、水田土壤中のカドミウム濃度自体を低減させる土壤浄化対策を別途実施する必要がある。しかし、従来の主要な土壤浄化対策技術である「客土」は、コストが高く、かつ大量の非汚染土壤を必要とすることから、大面積での実施は困難である。そのため、安価で広範囲に適用できる土壤浄化技術の開発が望まれている。

MURAKAMI Masaharu¹, ARAO Tomohito¹, AE
Noriharu^{1,2}, NAKAGAWA Fumihiko³, HONMA
Toshimitsu⁴, IBARAKI Toshiyuki⁵, Ito Masashi⁶,
TANIGUCHI Akira⁷

¹〒305-8604 つくば市観音台3-1-3

²〒657-8501 神戸市灘区六甲台町1-1

³〒990-2372 山形市みのりが丘6060-27

⁴〒940-0826 新潟県長岡市長倉町857

⁵〒818-8549 筑紫野市大字吉木587

⁶〒010-1231 秋田市雄和相川字源八沢34番地1

⁷〒108-0014 東京都港区芝4-14-1

カドミウム高吸収イネ品種によるカドミウム汚染水田の浄化技術

(注1) 農林水産省が推奨するイネのカドミウム吸収抑制技術のこと。アルカリ資材施用法とは、熔成りん肥やケイ酸カルシウムなどのアルカリ性の土壤改良資材を散布して土壤のpH(水

素イオン濃度)を高めることによって、カドミウムを土壤中のリン酸などと結合させ、植物の根から吸収しにくい状態にする技術のこと。

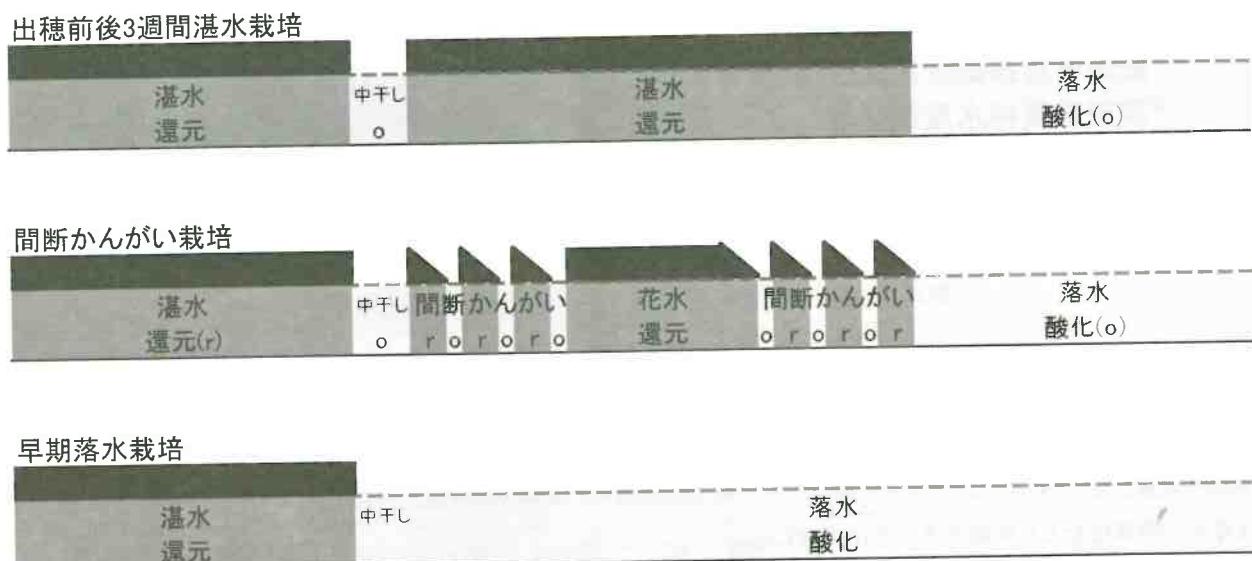


図1 本試験で採用した水管理法

上：出穂前後3週間湛水栽培法。農林水産省が推奨するイネのカドミウム吸収を抑制する方法の一つ。湛水条件下では、カドミウムは土壤中の硫黄と結合して根から吸収されにくい硫化カドミウム（CdS）として存在する。そのため、生育初期の中干しまでの約1か月間と、カドミウムの吸収が高まる出穂前後3週間を湛水することで、イネ玄米に蓄積するカドミウムを低減させることができる。

中：間断かんがい法。通常の食用イネ品種の栽培法。中干し以後、湛水と落水を数日ごとに繰り返すことで適度の酸素を土壤に供給し、根の力を落とさないようにするのが目的。開花期の水不足は不稔もみの発生を多くするため、花水と呼ばれる湛水が行われる。

下：早期落水栽培法。カドミウム高吸収イネ品種のカドミウム吸収量を高める方法で、中干し以後、落水を継続する栽培法。本研究で開発した。湛水して土壤を酸素不足の状態（還元状態）にすると、カドミウムは根から吸収されにくい硫化カドミウム（CdS）として存在する。しかし、落水して土壤に酸素がある状態（酸化状態）にすると、硫化カドミウムの硫黄（S）が酸化され硫酸イオン（SO₄²⁻）になるため、カドミウムは根から吸収されやすいカドミウムイオン（Cd²⁺）になる。そのため、中干し以降落水を継続することで、カドミウムの吸収を高めることができる。

2. 植物を用いた土壤浄化技術（ファイ トエキストラクション）

環境への影響が少なく、低コストな有害化学物質汚染土壤の浄化技術として、植物に有害化学物質等を吸収させ汚染土壤を浄化するファイトエキストラクション（phytoextraction）が有望

とされている。これまでの欧米での研究の多くが、有害化学物質に耐性のある超集積植物（注2）を浄化植物としたものであった。しかし、我々は、超集積植物は栽培や収穫が困難な野生種であり、水田での実用化は難しいと考えた。そこで、農環研などの研究グループは、水田における栽培技術が確立されているイネそのもの

カドミウム高吸収イネ品種によるカドミウム汚染水田の浄化技術

に着目した。カドミウムをよく吸収する複数のイネ品種（長香穀：ちょうこうこく，IR8，モーれつ）をインディカ種の中から発見し、それらが水田土壤中のカドミウムをよく吸収する条件を調べるための現地試験を行った¹⁻⁴⁾。

（注2）植物体中の重金属類が高濃度になっても生育可能な植物のこと。カドミウムの場合は葉中濃度が100 mg/kg以上の植物をいう。カドミウム濃度が高くても生育量が小さいときは、カドミウム吸収量（カドミウム濃度×生育量）は必ずしも高くない。

3. イネのカドミウム吸収を最大化する水管理法

一般的に、食用イネ品種は湛水と落水を繰り返す間断かんがい法で栽培する（図1中）。このような水田土壤中でのカドミウムの存在形態は、湛水条件では植物に吸収されにくい形態（CdS）で存在するが、落水すると植物に吸収されやすい形態（Cd²⁺）で存在することが知られている。一方、イネは、生育初期の1ヶ月～1ヶ月半の間は湛水しないと収量が減少する。これらのこと踏まえて落水時期を変えた栽培試験を行ったところ、移植後約30日（温暖地の場合）～50日（寒冷地の場合）の間は湛水条件で栽培し、その後は水を入れずに落水状態を継続する「早期落水栽培法」（図1下）が、イネの収量を低下させることなく、カドミウム吸収量をもっとも高めることが分かった（図2）⁴⁾。

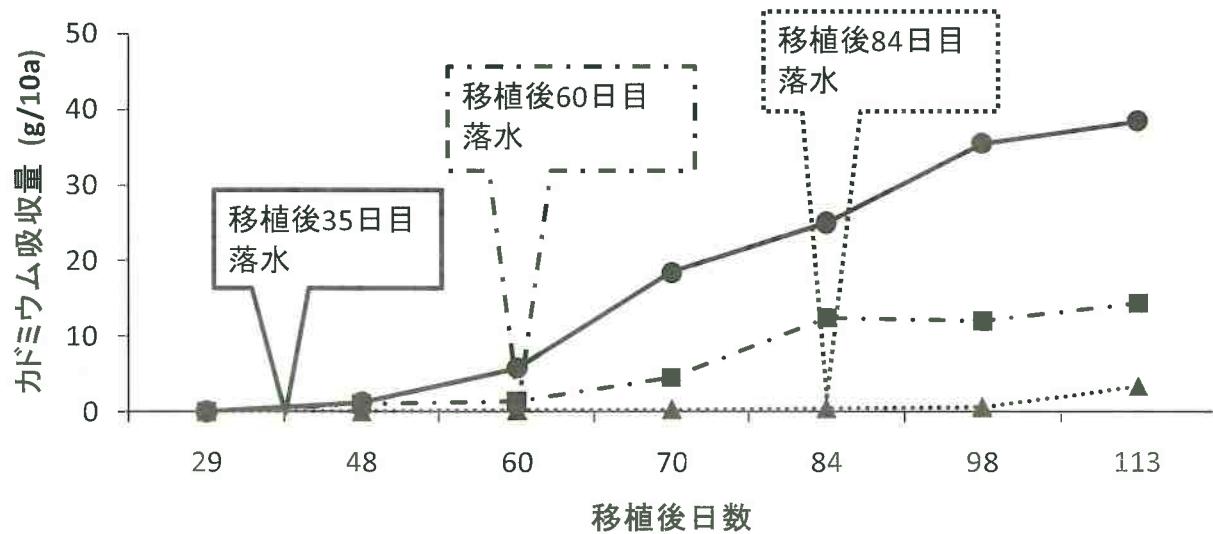


図2 落水期の違いによるカドミウム高吸収イネ品種「モーれつ」のカドミウム吸収量の経時変化（温暖地で栽培）

4. カドミウム高吸収イネ品種の栽培に伴う土壤のカドミウム濃度の変化

早期落水栽培法でカドミウム高吸収イネ品種を2～3作栽培し、その都度地上部を水田の外へ持ち出すことにより、水田土壤のカドミウム濃

度（0.1 mol L⁻¹塩酸抽出法）は、20～40%低減した（図3）⁴⁻⁶⁾。

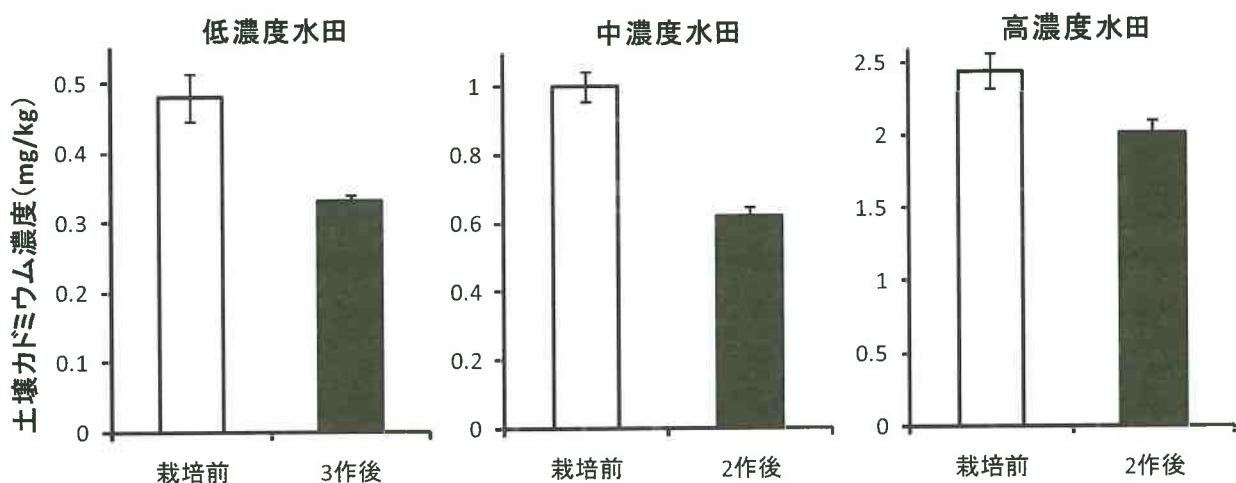


図3 カドミウム高吸収イネ品種の栽培前と栽培後の土壤カドミウム濃度

低濃度水田ではIR8を3作、中濃度水田では長香穀を2作、高濃度水田ではモーれつとIR8を1作ずつ栽培した。

5. 後作食用イネ品種のカドミウム濃度

カドミウム高吸収イネ品種を栽培した跡地に食用イネ品種を栽培したところ、玄米中のカド

ミウム濃度は、カドミウム高吸収イネ品種による早期落水栽培法を実施しなかった対照区と比較して、40～50%減少した（図4）⁴⁻⁶⁾。

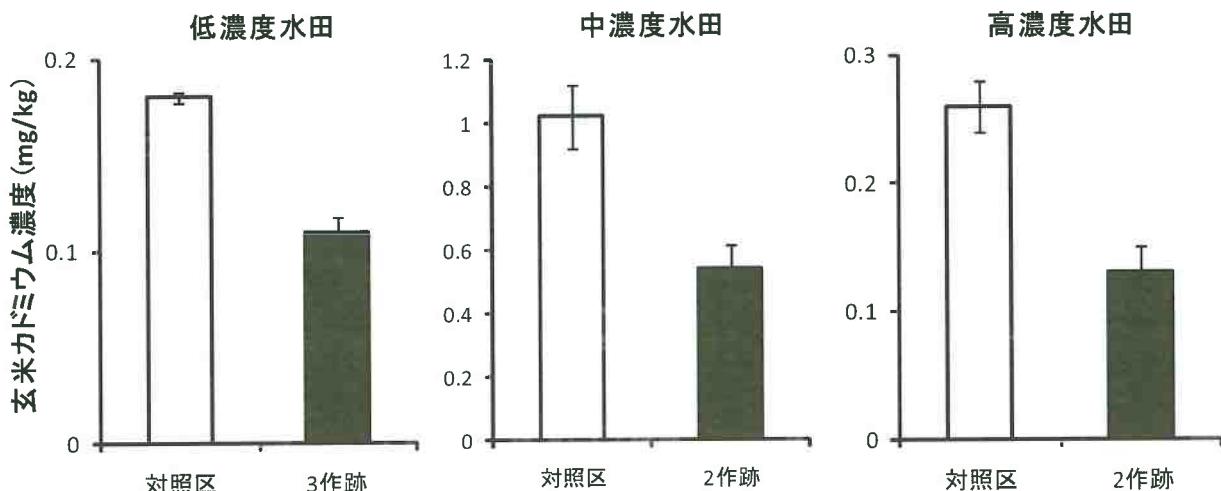


図4 カドミウム高吸収イネ栽培跡地に栽培した食用イネ玄米のカドミウム濃度
(ファイトエキストラクションを行っていない対照区との比較)

低および中濃度水田では間断かんがい栽培、高濃度水田では出穂前後3週間湛水栽培を行った。

6. 収穫・乾燥

カドミウム高吸収イネの収穫は、「もみ・わら分別収穫法」で行った。この収穫法は、まずもみだけを収穫し、稻わらは数日間水田に放置

して天日乾燥させる（図5左上）。これにより収穫直後には70～80%あった水分が40～50%まで減少した（図5右）。その後、稻わらをロール状にして収穫し（図5左中）、パレットに載せて上部を透湿防水シート（注3）でおおって約2ヶ

カドミウム高吸収イネ品種によるカドミウム汚染水田の浄化技術

月間水田に置く「現場乾燥法」により（図5左下），水分を20~40%にまで減少させることができた（図5右）。また，もみをフレキシブルコンテナバッグ（ポリエチレン等の化学繊維製の梱包材）に入れ，稲わらと同様に上部を透湿防水シートでおおって約2ヶ月間水田に置いたとこ

ろ，水分含量は収穫時とほぼ同じ20%程度で，腐敗や発芽は見られなかった。

（注3）水は通さないが，湿気（水蒸気）は通す性質をもつシートである。厚さは0.1~0.5mm程度。材質はポリエチレン製不織布が主であり，価格が安い。

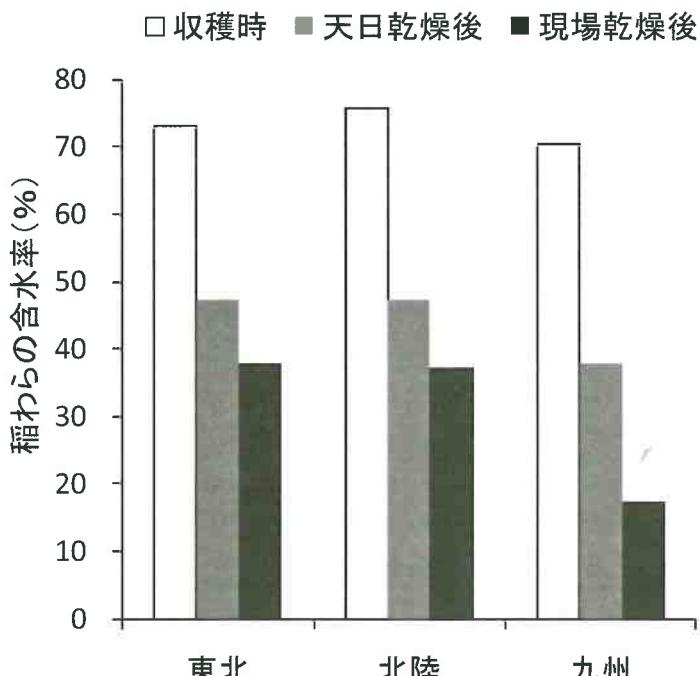
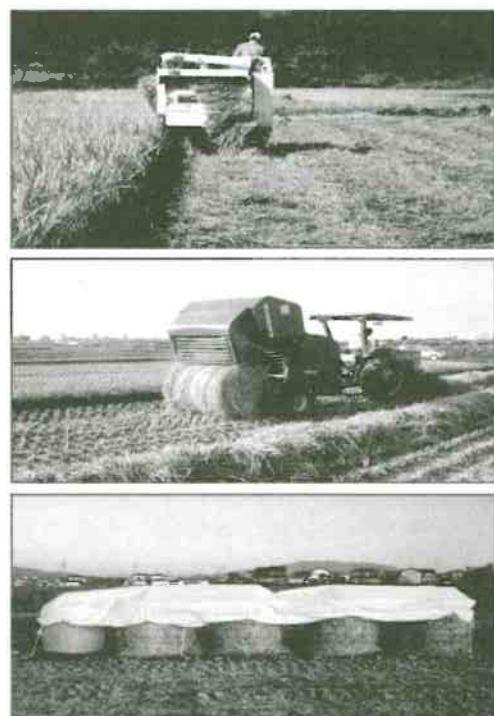


図5 もみ・わら分別収穫・現場乾燥の様子とわらの水分含量の変化

7. 燃却試験、コスト試算

収穫したカドミウム高吸収イネについて，ダイオキシン類対策のとられた焼却炉での焼却試験を行ったところ，煙突から出る排ガス中のカドミウム濃度は測定可能な濃度を下回っていた。したがって，焼却に伴うカドミウムの二次汚染のリスクは非常に低いことが分かった。また，焼却前の収穫物の水分を40%以下に減少させておくことで，焼却コストを水分70%の場合の半分以下に抑制できることも分かった。

カドミウム高吸収イネ品種を用いたファイトレメディエーションの1作・10アールあたりのコスト（注4）を試算したところ，天日乾燥・現地乾燥を行うことで稲わらの水分が40%になっ

た場合は25万円程度，収穫直後の水分70%の稲わらを焼却する場合は，焼却費だけでなく輸送費もコスト高となり30万円程度となった。現場で稲わらの水分を40%以下にできる「もみ・わら分別収穫・現場乾燥法」は，低コスト化の有力な方法である。また，もみを分別するため，玄米をバイオエタノール等の原料として有効に利用することも可能である。

（注4）コストは，栽培費，輸送費，焼却費の合計。栽培費の内訳は，生産資材費，栽培管理費，収穫作業委託費，農機具費，諸材料費，光熱・動力費。輸送費の内訳は，輸送費と在庫費。焼却費の内訳は，焼却処理費と燃焼灰処理費。もみ（水分20%）も含む。

8. まとめ

今回の一連の試験結果から、「もみ・わら分別収穫・現場乾燥法」でカドミウム高吸収イネを3作栽培することにより、10アール当たり75万円程度の費用で、土壤中カドミウム濃度を20~40%低減することが可能であり、さらには、跡地で栽培した食用イネ品種の玄米カドミウム濃度を、ファイトトレメディエーションを行わない場合に比べて40~50%低減することが可能であると考えられた。なお、上記のコストは、客土工法（10アール当たり520万円以上）に要するコストの1/7程度である。

9. 今後の予定・期待

今回の研究で用いたカドミウム高吸収イネ品種のうち長香穀は、カドミウム吸収量は高いものの、脱粒性や倒伏性に関して改善の余地がある。このため、収穫時期を早めるなど栽培法を工夫する必要があるが、これらの特性を改善した品種を育成中で、栽培がさらに容易になることが期待できる。また、イネのカドミウム吸収にかかわる遺伝子を特定する研究も行われており、カドミウム吸収能力のより高いイネ品種等の作出も期待できる。収穫したイネからカドミウムを除去し、エネルギーなどの原料として有効利用する研究も検討している。

また、コメ以外の畑作物についてもカドミウム濃度を低減していくため、畑作物を対象としたファイトトレメディエーションの研究も進めている。

本技術が農作物中のカドミウム低減対策の実用技術として利用されるようになると、ファイトトレメディエーション実用化の世界初の例となる。現在、海外の研究者との共同研究も検討されており、世界のカドミウム汚染稻作地域における実用浄化技術となることが期待される。

文献

- 1) M. Murakami, N. Ae and S. Ishikawa (2007) *Environ. Pollut.*, 145, 96–103.
- 2) T. Arao and N. Ae (2003) *Soil Sci. Plant Nutr.*, 49, 473–479.
- 3) M. Murakami, N. Ae, S. Ishikawa, T. Ibaraki and M. Ito (2008) *Environ. Sci. Technol.*, 42, 6167–6172.
- 4) T. Ibaraki, N. Kuroyanagi and M. Murakami (2009) *Soil Sci. Plant Nutr.*, 55, 421–427.
- 5) T. Honma, H. Ohba, A. Kaneko, T. Hoshino, M. Murakami and T. Ohyama (2009) *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 80, 116–122.
- 6) M. Murakami, F. Nakagawa, N. Ae, M. Ito and T. Arao (2009) *Environ. Sci. Technol.*, 43, 5878–5883.

ゲノム情報を用いていもち病抵抗性と極良食味特性を結合した水稻新品種「中部125号」

◀地域の先端研究▶

ゲノム情報を用いていもち病抵抗性と極良食味特性を結合した水稻新品種「中部125号」

¹愛知県農業総合試験場 山間農業研究所（農林水産省指定試験）

²独立行政法人 農業生物資源研究所

³独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究所

坂 紀邦¹・福岡修一²・安東郁男³・寺島竹彦¹

イネいもち病圃場抵抗性と極良食味特性の結合は難しく、両形質を併せ持つ品種はほとんど無い。我々は、陸稻「戦捷」のいもち病圃場抵抗性を解析し、ゲノム情報を有効に利用して、いもち病圃場抵抗性遺伝子 *pi21* とその極近傍に位置する食味不良遺伝子との連鎖を打破した「中部125号」を開発したので紹介する。

1. はじめに

いもち病は最も重要なイネの病害であり、生産性の向上、消費者の食に対する安全・安心への関心に応えるためには、いもち病抵抗性品種の作付けによる耕種的防除が必要である。しかし、いもち病抵抗性と良食味特性の結合が困難¹⁾なため、現在の日本で作付けされている主要品種のほとんどはいもち病に対する抵抗性を持たない。また、日本では1960年代に作付けされたいもち病真性抵抗性品種の罹病化の教訓から抵抗性の安定している陸稻等の圃場抵抗性を利用した育種が進められているが²⁾、陸稻等の圃場抵抗性はその遺伝様式の複雑さや生物検定の難しさから十分に解析されているとは言えず、現在まで育種利用も充分には進んでいなかった。

一方、近年のゲノム研究の進展は著しく、いもち病圃場抵抗性育種においてもゲノム情報を用いた育種及び遺伝解析が進められ始めている。本報告では、ゲノム情報を有効に利用する

SAKA Norikuni¹, FUKUOKA Shuichi², ANDO Ikuo³, TERASHIMA Takehiko¹

¹〒441-2513 愛知県豊田市稻武町

²〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2

³〒305-8518 茨城県つくば市観音台2-1-18

ことで、いもち病圃場抵抗性と「コシヒカリ」並の極良食味特性を結合した「中部125号」を開発したので紹介する。

2. 陸稻「戦捷」のいもち病圃場抵抗性の解析

いもち病に極強く、80年以前から日本で母本として用いられてきた陸稻「戦捷」に、いもち病抵抗性がごく弱い日本型水稻「農林29号」を交配し、その後代の葉いもち圃場抵抗性をQTL解析した³⁾。その結果、「戦捷」の葉いもち圃場抵抗性に関する4つのQTL領域を見出し、それらは、第4染色体のRFLPマーカーG271及びG177、第11染色体のC1172ならびに第12染色体のS826の近傍に検出された（図1）。

この知見に基づき、それぞれのQTL領域を独立に保有するように、DNAマーカーで選抜を加えながら「戦捷」にいもち病圃場抵抗性の弱い良食味品種「ミネアサヒ」を戻し交配し、QTL領域とQTLが検出されなかった染色体断片を一部に残したのみの「ミネアサヒ」準同質遺伝子系統群（NILs）を育成した⁴⁾。

これらのNILsをいもち病検定に供試し、その作用力を調査した。その結果、「戦捷」の4つの

ゲノム情報を用いていもち病抵抗性と極良食味特性を結合した水稻新品種「中部125号」

QTL領域のいもち検定抵抗性強度には大きな差異が認められ、最も作用力の高かったのは、第4染色体のいもち病圃場抵抗性遺伝子*pi21*⁵⁾を含むG271領域であった(図1)。この領域の葉いもち抵抗性の作用力は、基準品種との比較からいもち病常発地でも本病に対する農薬防除を省略できる水準と考えられたため、この領域の日本水稻への導入を第一の育種目標とした。

3. *pi21*導入NILと品質・食味との関連

*pi21*極近傍に設計した複数のPCRマーカーを有効に活用し、*pi21*近傍の染色体領域のみを「戦捷」型とする複数の「ミネアサヒ」 NILを選抜し、その分離集団後代で固定したものについて生育・収量調査を行った。この結果、*pi21*を持つNILは、持たないNILに比べ明らかに品質・食味が劣った。この試験に用いたNILは*pi21*近傍領域が最も短いもので*pi21*を含む「戦捷」型領域は500kb程度であった。

4. ゲノム情報を活用した大規模連鎖解析

*pi21*極近傍領域だけを「戦捷」型としても、食味が劣った原因として、二つの可能性が考えられた。一つは、*pi21*がいもち病抵抗性だけではなく、食味にも関係するのではないか。また、二つ目は*pi21*の近くに食味に良くない影響を与える別の遺伝子があるのではないかというものである。ただし、二つ目の仮説を証明するには、遺伝子の位置情報を考慮した詳細な遺伝学的解析によって、いもち病抵抗性と食味との関係を明らかにすることが必要であった。

そこで、「ミネアサヒ」 NILに良食味品種の「コシヒカリ」を2回戻し交配したF₂、約6000個体について詳細なDNA分析を行い、陸稻「戦捷」に由来する*pi21*を持ち、その周辺で「戦捷」に由来する染色体領域の長さの異なる個体を選抜した。それらの後代系統の食味を調査したところ、*pi21*のすぐ隣の遺伝子が水稻「コシヒカリ」に由来する場合、食味が著しく改善されたのに対し、*pi21*の数個隣の遺伝子を「戦捷」から受け継いだ系統では食味が劣り、これらの中に食味に良くない影響を与える遺伝子が含まれる

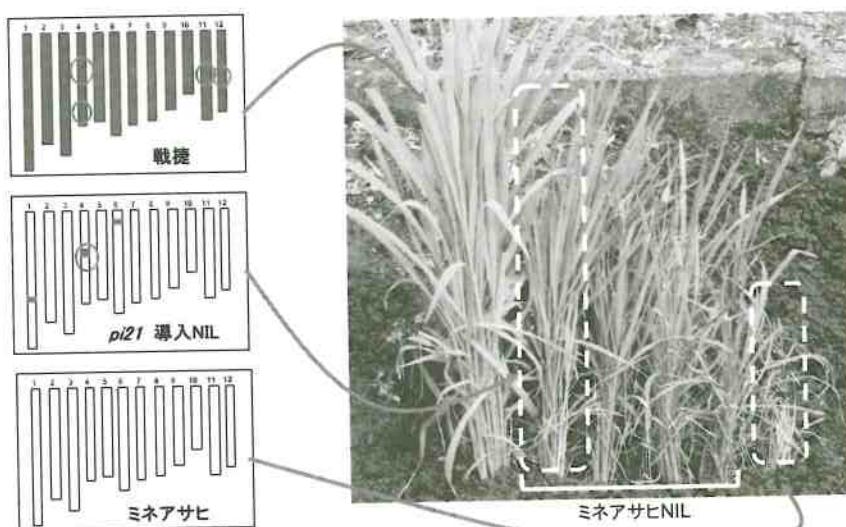
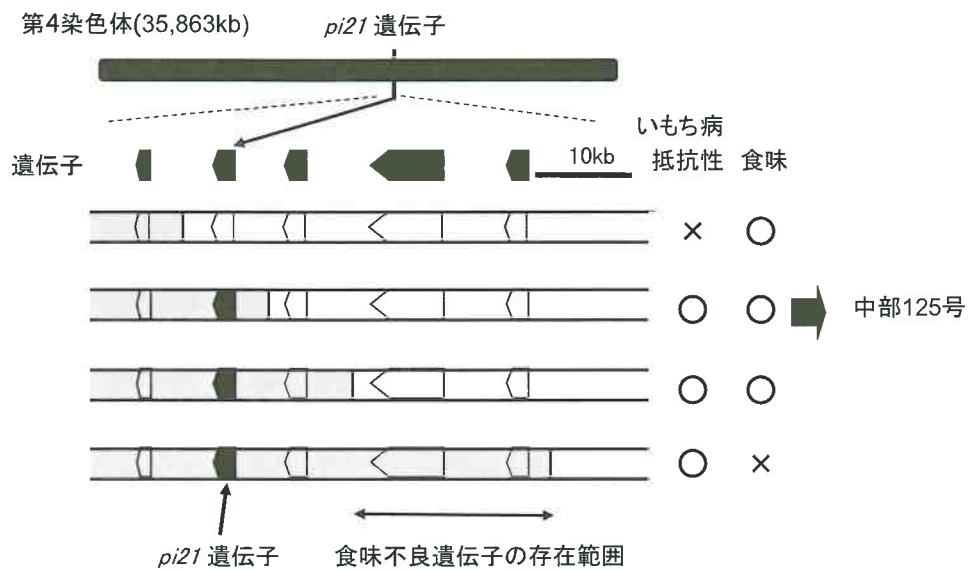


図1 陸稻戦捷のいもち病抵抗性遺伝子*pi21*を導入したミネアサヒNILの作用力

□ : ミネアサヒの染色体領域 ■ : 戦捷の染色体領域 ○ : 戦捷のいもち病抵抗性QTL領域

ゲノム情報を用いていもち病抵抗性と極良食味特性を結合した水稻新品種「中部125号」

図2 *pi21*遺伝子近傍での組換え型個体のいもち病抵抗性と食味

■ : 戦捷の染色体領域 □ : コシヒカリの染色体領域

ことが推定された（図2）。このことから、いもち病に強い系統の食味が劣る原因是、抵抗性遺伝子と食味に良くない影響を与える遺伝子が密接に連鎖しているために、その両方が同時に「戦捷」から水稻に取り込まれた結果であることが明らかとなつた⁶⁾。

5. いもち病圃場抵抗性と「コシヒカリ」並の極良食味特性を結合した「中部125号」

上記の選抜系統のうち、系統番号「K14」は出穗・成熟期は「チョニシキ」と同じで、食味特性は「コシヒカリ」と同等であったため「中部125号」を付名し、愛知山間では、主に温暖地中山間部における立毛形質といもち病に対する系統選抜等を担当し、独立行政法人作物研究所（作物研）においては、温暖地平坦部における立毛形質と高温で登熟した際の品質選抜等、独立行政法人農業生物資源研究所（生物研）では、ゲノム調査を分担するという各々の得意分野を生かして選抜・固定を図ってきた。

更に、いもち病抵抗性と極良食味特性の結合

の重要性を理解していただいている宮城県古川農業試験場及び福井県農業試験場において「中部125号」についての食味試験を複数回、実施し「中部125号」は、「コシヒカリ」、「ひとめぼれ」等と同等の極良食味特性を持っていることを確認していただいた。

また、*pi21*遺伝子は劣性であり、植物が本来生産すべき機能を失うことでのいもち病に対する抵抗性を獲得している。このため、*pi21*を持つことで植物側に不利な要因が発生するのではないかとの懸念があり、特に収量性との関連が心配された。このため、育成地の愛知山間、作物研に加え、独立行政法人東北農業研究センター、宮城県古川農業試験場、福井県農業試験場、宮崎県総合農業試験場において2年間の詳細な生産力検定試験を実施していただいたところ、「中部125号」は「コシヒカリ」とほぼ同等の収量性を持つことを確認できた。

6. おわりに

以上の結果から、いもち病に強く「コシヒカリ」並の極良食味特性を持つ「中部125号」を作



図3 中部125号の葉いもち抵抗性

り出すことに成功した(図3)。「中部125号」は、平成21年8月21日に愛知山間、生物研、作物研の共同育成種として品種登録出願を行った。「中部125号」を栽培することにより、いもち病の農薬を減らした良食味米の生産が可能となり、消費者の安全・安心志向に応えることができるとともに、収益性の向上が期待できる。更に「中部125号」を母本とすることで、*pi21*遺伝子を利用した品種開発への貢献も大いに期待できる。

しかし、*pi21*遺伝子の単独利用は初めてのケースである。導入後のいもち病発生状況の追跡調査及び他の圃場抵抗性遺伝子の集積等、いもち病克服に向けて努力を続けていきたいと考えている。

謝 辞

本研究は、農林水産省研究プロジェクト（「アグリ・ゲノム研究の総合的な推進」、「新農業展開ゲノムプロジェクト」）の支援を受け行ったものである。関係する多くの方々のご支援に深謝

いたします。また、食味及び収量試験にご協力いただいた皆様にも改めて御礼申し上げます。

文 献

- 1) 櫛渕欽也 (1978) 今月の農薬, 22, 46-53
- 2) Takita, T. et al. (2002) *Natl. Agric. Res. Cent. Tohoku Reg.*, 100, 93-117
- 3) 加藤恭宏ら (2002) 育種学研究, 4, 110-124
- 4) Saka, N. et al. (2005) *Rice is life*, IRRI, Manila, Philippines, 487-489
- 5) Fukuoka, S. et al (2001) *Theor. Appl. Genet.*, 103, 185-190
- 6) Fukuoka, S. et al. (2009) *Science*, 325, 998-1001

◆文献情報►**ウシ胚移植前の末梢血由来单核細胞の子宮角内投与は受胎率を向上させる**

Administration of peripheral blood mononuclear cells into the uterine horn to improve pregnancy rate following bovine embryo transfer.

A. Ideta, S. Sakai, Y. Nakamura, M. Urakawa,
K. Hayama, K. Tsuchiya, H. Fujiwara^a, Y. Aoyagi
Zen-noh Embryo Transfer Center, ^aDepartment of Gynecology and Obstetrics, Kyoto University.
Animal Reproduction Science, 117, 18-23 (2010)

ウシにおいて胚移植技術は、繁殖効率や遺伝形質を改善するために用いられてきているものの、胚移植の成功率は技術の開発当初からあまり改善されていない。胚移植における最も高い受胎率は70%程度であると考えられており、残り30%の不受胎は、着床前の胚と子宮内膜間で妊娠認識の失宜によりもたらさせると考えられている。また、妊娠初期の2～3週間の子宮内膜の不十分な発育は、不受胎の原因の1つと考えられている。子宮内膜免疫細胞から產生されるサイトカインやケモカインが胎子を育てられるように子宮を準備させ、胎盤形成にも関与することが報告されている。交配後の雌性生殖器内で產生されるサイトカインとケモカインは、妊娠のために不可欠な局所的な子宮内膜の変化を引き起こし、繁殖成績を向上させる可能性が示唆されており、インターロイキン(IL)-1は、胚の着床過程やある種の動物においては胎盤形成を調整することが報告されている。IL-1には、IL-1 α とIL-1 β の2つが存在するが、IL-1 α はヒト胚が着床できるように子宮内膜構造を改変することが、一方、IL-1 β はウシ胚の初期発生を調整することが報告されている。IL-8は好中球化学遊走物質であり、単球と血管内皮細胞由來の強力な血管形成因子であり、IL-8を含むケモカインがヒト胚の着床に重要な役割を演ずることが報告されている。すなわち、局所に存在する免疫細胞は、反芻有蹄動物においても胚の生存に重要な役割を演ずることが示唆されている。子宮内への脾細胞や胸腺細胞投与は、マウスに

おいて子宮内膜の分化を調整することが報告されている。さらに、ヒト末梢血単核細胞の子宮内投与は、体外受精-胚移植において連続して妊娠に至らない不妊患者の妊娠率を改善することが報告されている。これらの研究は、子宮内への免疫細胞の投与が妊娠成立のために必要な子宮内膜反応を引き起こすことを示すものであり、免疫細胞を用いて子宮環境を条件づけることにより、妊娠性が増す可能性が示唆されている。しかしながら、ウシにおける子宮内での免疫細胞の役割についてはほとんど知られていない。そこで、本研究においては、自己の末梢血単核細胞の子宮角内投与がその後の胚移植における受胎率を向上させるかどうかが検討された。まず、培養24時間後に末梢血単核細胞のインターロイキン(IL)-1 α 、IL-1 β とIL-8の転写数が高まるものの、培養48時間後には培養24時間後よりも低下することが明らかとなった。そこで、発情周期4日目の黄体側子宮角内に非外科的に24時間培養後の同一個体由来末梢血単核細胞を投与し、発情周期7日目に胚移植を実施して末梢血単核細胞前投与区と未投与区の妊娠率を比較した。末梢血単核細胞前投与群の60日目における妊娠率(76.7%, 56/73)は、未投与群(59.7%, 43/72, p < 0.05)に比べて有意に高かった。これらの結果から、子宮角内への自己由来末梢血単核細胞の投与は、その後の胚移植の妊娠率を改善することが明らかとなった。

ウシにおいて胚移植技術は、繁殖効率や遺伝形質を改善するために用いられてきている。種々の改良が行われてきているが、胚移植による妊娠率は技術の開発当初からあまり改善されていない。今回、自己由来末梢血単核細胞の子宮角内投与がその後の胚移植における受胎率を向上させうることが示された。本方法が、どのようなウシに対しても受胎率を向上させるのであれば、胚移植における受胎率を飛躍的に向上させる可能性がある。さらなる例数の追加とともに、生化学的、分子生物学的側面からも、本手法を検証していく必要がある。

(抄訳：下司雅也，GESHI Masaya，独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所)

◀文献情報▶

トランスポゾンの挿入に起因するエピジェネティックな変化がメロンにおける性決定を引き起こす

A transposon-induced epigenetic change leads to sex determination in melon.

A.Martin¹, C.Troadec¹, A.Boualem¹, M.Rajab¹, R.Fernandez¹, H. Morin², M.Pitrat³, C.Dogimont³ and A.Bendahmane¹.

¹ INRA-CNRS, UMR1165, Unité de Recherche en Génomique Végétale, France, ² Plateforme de Cytologie et d'Imagerie Ve'ge'tale, Institut Jean Pierre Bourgin, France, ³ INRA, UR 1052, Unité de Ge'ne'tique et d'Ame'lioration des Fruits et Le'gumes, France

Nature, 461, 1135-1138 (2009)

植物では、性決定機構によって両性花芽分裂組織からの單性花の発生がおこる。この性決定による雌雄の分化により、他家交配が促進され種内の遺伝的多様性の増大につながると考えられる。本研究に用いたメロンでは、性決定は2つの遺伝子座Andromonoecious (a)とgynoecious (g)によって支配されることが明らかになっており、雌雄異花同株型 (AAGG), 雄花両性花同株型 (aaGG), 雌性型 (AAgg), 両性花型 (aagg)が見られる。著者らは以前、a遺伝子がエチレン生合性に関わる酵素CmACS-7をコードすることを報告していた。野生型のCmACS-7が発現することにより雄しべの発達は抑制される。また、CmACS-7は、心皮の発達には関与しないことも明らかにしていた。

本論文では、ポジショナルクローニングにより、g遺伝子の単離を行った。マッピングによって1.4kbのnon-coding領域に原因があることを見いだし、この領域の解析を行ったところ、雌性型系統であるGynadouでは、hATファミリーのトランスポゾンの挿入があることを明らかにした。497系統の遺伝資源の遺伝子型を調査したところ、雌性型、両性型の4系統のみにこのトランスポゾンの挿入が見られた。さらに、メチル化感受性制限酵素を用いた解析をおこなったところ、こ

のトランスポゾン領域ならびに、近傍の遺伝子がメチル化を受けていることが分かった。この遺伝子は、C2H2ジンクフィンガー型転写因子 (CmWIP1)をコードしており、シロイヌナズナでの相同遺伝子TTI, NTTは心皮の発達に関わることが報告されていた。次にCmWIP1遺伝子のメチル化状態を詳しく調べたところ、トランスポゾンの挿入が見られる系統では、プロモーター領域が強くメチル化を受けていた。また、メロンでは組織培養を経ることによって雌性花が部分的に雄性花へと転換することが知られているが、この部分的雄性花ではCmWIP1プロモーターのメチル化が低下していることが分かった。これらの結果から、CmWIP1プロモーターのメチル化による転写制御が、メロン雌性花の性決定に重要であろうと考えられた。この証明のために著者らは、TILLING法による逆遺伝学的手法を用いた。突然変異集団からCmWIP1遺伝子内への変異が起きた個体を得た。CmWIP1の機能に重要と考えられるアミノ酸が置換した変異体では、雌雄異花同株から、雌性型への変換が見られた。さらに、CmWIP1機能欠失変異体ではa遺伝子であるCmACS-7遺伝子の発現が誘導されることを見いだした。しかしながら、CmWIP1転写因子とCmACS-7プロモーターが直接結合するという結果は得るには至らなかった。

以上の結果から、CmWIP1が主に雄花の心皮原基で発現して雌性器官の発達を抑制するとともに、CmACS-7の発現を間接的にではあるが負に制御することによって雄花への性決定がなされるというモデルを示した。このモデルによって、雄花型、雌花型、両性花型への性決定機構が説明可能となった。今後は、CmWIP1によるCmACS-7発現制御機構の解明や、雄花両性花同株型のCmWIP1遺伝子発現の詳細な解析により、メロン性決定機構が詳細に解明されることを期待するとともに、作物育種への応用についても期待したい。

(抄訳：高田美信, TAKADA Yoshinobu, 東北大学大学院 生命科学研究科)

◀文献情報▶

大腸菌実験群における、歴史的偶発性と進化における鍵となる革新

Historical contingency and the evolution of a key innovation in an experimental population of Escherichia coli.

Blount ZD, Borland CZ, Lenski RE

Department of Microbiology and Molecular Genetics, Michigan State University, East Lansing, MI 48824, USA.

Proc Natl Acad Sci U S A., 105(23), 7899-7906
(2008)

「進化」には、偶然（突然変異）と必然（自然淘汰）という対立要素からなる「歴史的偶発性」が関わっていると通常考えられているが、実験的に解明を試みた例はほとんどない。本論文は、12の大腸菌集団を約20年間継代培養し続けることによって、「進化」というものを実験的にとらえようとした壮大な物語である。

好気条件下でクエン酸塩を資化できない(Cit⁻)という特徴は、大腸菌を他の菌と識別するのに通常使われる形質の一つである。しかし、大腸菌はクエン酸塩を資化するポテンシャルがあると考えた著者らは、一つの大腸菌から12のコロニーを培養し、それらを12の集団としてクエン酸塩を含むグルコース最少培地で継代培養し続けた（実験1）。培養24時間目でOD₄₂₀を毎回測定した結果、一つの集団のOD₄₂₀が33,127世代以降ずっと急上昇し、クエン酸塩資化能を有するコロニーも多数分離されたことから、クエン酸資化能を獲得した(Cit⁺)ことが明らかとなった。

実験2では、実験1で継代実験した大腸菌を500世代毎に冷凍保存しておいたものを用いて、クエン酸塩資化能の獲得時期を検証する実験を行った。各冷凍保存サンプルからそれぞれ1,280コロニーを選抜し、クエン酸塩プレートを用いてクエン酸塩資化能を判定した。その結果、30,000世代目、30,500世代目、31,000世代目ではCit⁺株は観察されず、31,500世代目では0.5%、32,000世代目では15%、32,500世代目では19%，

33,000世代目では1.1%がCit⁺株であった。よって、Cit⁺の形質を持つ変異体は、31,000世代目から31,500世代目の間で出現したことが示唆された。

実験3では、33,000世代目から分離してきたCit⁺株およびCit⁻株を、クエン酸塩を含むグルコース最少培地で培養した際の増殖曲線を比較した。その結果、Cit⁺株はCit⁻株と比較して定常期のOD₄₂₀の値が高く、有意に多く増殖したことが示された。Cit⁺株の増殖曲線はゆるやかな右上がりの曲線を描いていることから、Cit⁺株はグルコースを使い終わると即座にクエン酸塩資化に切り替えることが明らかとなった。また、Cit⁺株はCit⁻株と比較して、グルコースの資化速度が遅いことも明らかとなった。

最後に、変異株が生まれた場合の生態系の推移を明らかにするため、33,000世代目から分離してきたCit⁺およびCit⁻株を様々な割合で混合し、継代を重ねてCit⁺株とCit⁻株の割合の変遷を解析した（実験4）。その結果、初発の混合割合に関わらず、13日間継代するとCit⁻株の割合が約1%に近づくことが示された。Cit⁺株は個体数を拡大したが、Cit⁻株も少数派ながら存続し続けることが明らかとなった。これは、Cit⁻株がグルコースの消費においてCit⁺株より優れていた（実験3）ことが原因であると考えられる。

今後の展開について、著者らは①遺伝学的、②生理学的、③生態学的、④種分化的といった4つのカテゴリーで解析を進めていきたいと考えている。特に遺伝学的な分野においては、全ゲノム配列の解明が有力な情報源となることを説いている。また、種分化的な観点においては、通常大腸菌の種の境界と考えられているクエン酸塩資化能が、継代を重ねることでCit⁻からCit⁺に変化したことから、種の識別の際の線引きについても課題を示唆している。

シンプルだが実によく計算されつくした本実験系は、非常に美しい。そして、著者らが示唆するように、今後まだ多くの「進化」に関する情報を得ることが期待される。われわれ生命体は何億年もかかって「進化」してきたわけだが、これを実験的に再現するためには、世代

時間の短い微生物なしには考えられない。微生物の持つ可能性というものを改めて感じることができるものではないだろうか。

(抄訳：柳原沙恵, YANAGIHARA Sae, カルピス株式会社・健康・機能性食品開発研究所)

◆文献情報▶**ニジマス血漿タンパク質がスケソウダラすりみのゲル化に与える影響**

Effect of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) plasma protein on the gelation of Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) Surimi

D.K.Li, H.Lin, and S.M.Kim

College of Food Science and Engineering, Ocean Univ. of China, Qingdao 266003, China.

J Food Sci., 73, C227-234 (2008)

魚肉から製造されるすりみは、一般的に水晒し工程で水溶性タンパク質を除去し、筋原繊維タンパク質を濃縮することで生産される。これに食塩を添加し、擂潰、加熱することで筋原繊維タンパク質の網目構造形成によるゲル化が起こり、ちくわやかまぼこといった水産練り製品となる。練り製品では、食感や色が品質上重要な要素となるが、それらは様々な因子の影響を受ける。品質の問題として、練り肉を60°C付近の温度で加熱すると、すりみに含まれるプロテアーゼの影響により、ゲルの強度が低下する。このような負の現象を「戻り」という。

今回報告する論文は、魚類由来のプロテアーゼ阻害剤に着目している。プロテアーゼ阻害剤は、戻りによるゲル強度の低下を防ぐ効果があり、牛血漿タンパク質（BPP）やニワトリ血漿タンパク質（CPP）、卵白（EW）などはその効果が報告されている。しかしながら、それらはBSEや鳥インフルエンザの影響により使用が困難であることや、アレルゲンであるという問題がある。そこで筆者らは、ニジマス血漿タンパク質（RPP）についてプロテアーゼ阻害という観点からスケソウダラすりみのゲル化に与える効果について考察している。

まず、筆者らはシステイン及びセリンプロテアーゼに対するRPPの阻害活性を評価するため、トリプシンとパパインを用いた試験を行っている。その結果、両プロテアーゼに対し、RPP濃度依存的に阻害活性があることが認められた。次に、すりみから加熱ゲルを作製し、物性、白

み、ドリップについて評価を行っている。加熱ゲルは、すりみに2%NaCl及びRPP(0~1.50mg/g)を添加し、55°Cで1時間、90°Cで20分の2段加熱により作製した。55°C付近では、すりみ中のプロテアーゼの影響により、ゲル強度の低下が起こるため、筆者らはこれを「戻りゲル」として用いている。ゲルの破断強度を測定した結果、RPPを0.75mg/g添加したものが、無添加のゲルに比べ85%も増加し、また破断時の歪みについても36%の増加が認められた。前述した3種類のプロテアーゼ阻害剤のひとつである卵白（EW）と比較した結果、EWを2.00mg/g添加した戻りゲルの破断強度及び歪みの増加率よりも大きく、RPPの物性改善の効果が大きいことを示した。また、白みについても、0.75mg/gの添加により白さが増すという結果になり、同濃度でドリップが低下するという結果も踏まえ、水分の保持が白みの増加に影響していると推測している。すなわち、RPPのプロテアーゼ阻害により、筋原繊維タンパク質の網目構造の形成が維持され、物性の向上及び水分保持による白みの向上につながっていることが示唆された。また、物性、白み及びドリップをRPP添加濃度で評価すると、0.75mg/gが最適濃度であったことから、過剰量のRPPは筋原繊維タンパク質の網目構造の形成に対し阻害的に働くのではないかと推測している。また本研究では、RPP添加ゲルのタンパク質の溶解性の評価も行っており、結果は上記推測を支持するものであった。

以上の結果から、RPPはスケソウダラすりみ中のプロテアーゼに対する阻害効果があり、最適濃度の添加により物性や白みを効果的に増加させると結論づけている。本研究結果は、BSEや鳥インフルエンザ、アレルゲンの問題を解決できる点、さらにこれまで廃棄されていた未利用の魚類血液を有効利用できるという点で注目すべきであり、今後すりみ生産への応用に期待できる。

(抄訳：石田貴之，ISHIDA Takayuki，日本水産株式会社 中央研究所)

BRAIN

バックナンバーのご案内
第136号
2009年11月15日発行

総 説
ウシゲノムの解読と今後の展望 杉本喜憲

国内情報
種なしスイカの効率的生産のための部分不活性花粉の保存技術 杉山慶太・阿久津雅子・嘉見大助
養蜂の安定生産と環境微生物 — 機能と実用化 — 前田昌調
ユリの香り抑制法の開発 大久保直美
農作業安全 e ラーニングシステムの開発 積栄・志藤博克・岡田俊輔・米川智司

地域の先端研究
ハスマンヨトウ核多角体病ウイルスを用いた微生物防除剤の開発 神谷克巳・鈴木郁子

文献情報
乾乳期間がその後の泌乳期における繁殖成績に及ぼす影響 (抄訳: 下司雅也)
CHL1は植物において硝酸塩センサーとして機能する (抄訳: 高田美信)
出芽酵母において、低親和性トランスポーター(Pho90)のSPXドメインは輸送活性を調節する (抄訳: 安田伸斗)
マリネオシンA, B, 海洋性放線菌由来の細胞毒性スピロアミノ化合物 (抄訳: 佐藤誠造)

生研センターからのご案内

BRAIN

バックナンバーのご案内
第135号
2009年9月15日発行

総 説
土壤からの鉄吸収に重要なイネの遺伝子の発見 板井玲子・西澤直子

国内情報
チューリップ花弁からバイオプラスチック原料 加藤康夫
液胞膜で機能するアルカロイド輸送タンパク質 伊藤慎悟・矢崎一史
花粉管ガイダンス物質の同定と種間多様性 金岡雅浩・東山哲也
酸味を甘味に変える不思議なタンパク質ネオクリンの活性発現メカニズム 中島健一朗・古泉文子・朝倉富子・三坂巧・阿部啓子
植物病原菌の宿主感染・オルガネラ数の制御とオートファジー 阪井康能・高野義孝

地域の先端研究
カキなどからのノロウイルス検出率の向上—細菌を利用した検体処理方法の改良— 川村理・佐々木絢子
感水紙専用画像処理ソフトの開発 白井善彦・宮原佳彦・水上智道・林和信・中野和弘

文献情報
ホルスタインフリージアン未経産牛あるいは経産牛の過剰排卵処置時の凍結融解性選別X精子あるいは未選別精液の人工授精による胚生産 (抄訳: 下司雅也)
シロイヌナズナ発達途中の胚乳におけるPolIV依存型siRNAの片親性発現 (抄訳: 高田美信)
微生物による環境変化の適応的予測 (抄訳: 若井丈人)
魚肉すり身やかまぼこに対する筋形質タンパク質の機能性評価 (抄訳: 久保田光俊)

生研センターからのご案内

編集後記

137号をお届けします。本号の総説では高林純示氏（京都大学 生態学研究センター）に化学情報を利用し天敵の行動を制御する害虫防除法の開発についてご紹介戴きました。

その他の研究情報としては、下地善弘氏（動物衛生研究所）らに豚丹毒および豚マイコプラズマ肺炎を一度に防御できる経口投与型ワクチンの開発、竹中重仁氏（北海道農業研究センター、現在農研機構本部・総合企画調整部）に広範囲な作物病害に効果のある「広スペクトル微生物農薬」の開発、服部洋子氏（名古屋大学）らに東南アジアなどで栽培される浮イネの洪水回避機構の解明、相川拓也氏（森林総合研究所東北支所）らに共生細菌“ポルバキア”的遺伝子がマツノマダラカミキリの常染色体上に大規模に転移していることの発見、村上政治氏（農業環境技術研究所）らにカドミウム高吸収イネ品種によるカドミウム汚染水田の浄化技術、坂 紀邦氏（愛知県農業総合試験場）らにゲノム情報を利用していちもん病抵抗性と極良食味特性を結合した水稻新品種「中部125号」の育成について、それぞれご紹介戴きました。

また、本号の文献情報は、下司雅也氏（畜産草地研究所）、高田美信氏（東北大学）、柳原沙恵氏（カルピス（株））、石田貴之氏（日本水産（株））にご執筆戴きました。

ご多忙な中玉稿をお寄せ戴きました執筆者各位に深甚の謝意を申し上げます。 (佐々木記)

前回136号訂正のお詫び

ブレインテクノニュース136号23頁右段10行目の「3. 移動栽培技術」は「3. 試作システムの構造」の誤りでした（論文名「農作業安全eラーニングシステムの開発」（著者 積栄氏他））。

謹んでお詫び申し上げますとともに、訂正をさせていただきます。

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支援センター（生研センター）の許諾を得て行って下さい。

生研センター 業務のご案内

～研究開発を強力に支援いたします～

提案公募型の委託研究制度

- 民間企業の実用化段階の研究支援なら 民間実用化研究促進事業
- 技術シーズ開発のための基礎研究や 応用・発展研究及びベンチャー創業を目指すなら イノベーション創出基礎的研究推進事業

その他の支援制度

- 「共同研究先のあっせん」、「遺伝資源配布先のあっせん」などもお気軽にご相談下さい。
詳細は、生研センター企画部企画第1課までお問い合わせください。

ブレインテクノニュース 第137号

平成22年1月15日発行

発 行 人 曽根 則人

編 集 人 浅野 将人

発 行 所 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

⑤生物系特定産業技術研究支援センター（生研センター）

〒105-0001 東京都港区虎ノ門3丁目18番19号 虎ノ門マリンビル10階

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

e-mail brainkil@ml.affrc.go.jp URL <http://brain.naro.affrc.go.jp/tokyo/>