

ブドウ糖添加濃度とアサリの軟体部(可食部)の成長の比較

## 海水へのブドウ糖添加とアサリの成長促進効果 —海水サプリメントの開発—

(独) 水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所

<sup>1</sup>生産環境部 <sup>2</sup>栽培資源部

内田基晴<sup>1</sup>・三好達夫<sup>1</sup>・兼松正衛<sup>2</sup>

## 目 次

### 総 説

- 植物の決死の技：膜融合を介した新しい植物免疫機構 ..... 1  
 西村いくこ・初谷紀幸\*（京都大学大学院理学研究科，\*現北海道大学）

### 国内情報

- ビールの泡持ちに関連するオオムギ育種用DNAマーカーの開発 ..... 7  
 飯牟礼隆<sup>1</sup>・木原誠<sup>1</sup>・佐藤和広<sup>2</sup>（<sup>1</sup>サッポロビール株式会社バイオ研究開発部，  
<sup>2</sup>岡山大学資源生物科学研究所）
- 海水へのブドウ糖添加とアサリの成長促進効果 —海水サプリメントの開発— ..... 12  
 内田基晴<sup>1</sup>・三好達夫<sup>1</sup>・兼松正衛<sup>2</sup>（（独）水産総合研究センター瀬戸内海区水産  
 研究所 <sup>1</sup>生産環境部 <sup>2</sup>栽培資源部）
- 昆虫における病原体トレランス機構の発見 ..... 18  
 新澤直明・嘉糠洋陸（帯広畜産大学 原虫病研究センター）
- 濃厚飼料削減を可能にする乳牛精密飼養管理システム ..... 22  
 平田晃・後藤裕・小島智美（（独）農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定  
 産業技術研究支援センター 畜産工学研究部）

### 地域の先端研究

- 超音波を利用した果樹のヤガ類被害防止技術の開発 ..... 27  
 中西友章<sup>1</sup>・小池明<sup>2</sup>（<sup>1</sup>徳島県立農林水産総合技術支援センター果樹研究所，  
<sup>2</sup>現徳島県農林水産部ブランド戦略総局とくしまブランド戦略課）

### 文献情報

- 異種異所移植した精巢由来精子によるはじめての生存子豚の生産 ..... 32  
 M. Nakai et al. (*Reproduction*, 139, 331-335, 2010) 抄訳：下司雅也
- シロイヌナズナにおいてヒストンH2A.Zを含むヌクレオソームが温度感受に関係する ..... 33  
 S. Vinod et al. (*Cell*, 140, 136-147, 2010) 抄訳：高田美信
- 転写因子間の遺伝的相互作用により生み出される酵母の多様性 ..... 34  
 Justin Gerke et al. (*Science*, 323, 498-501, 2009) 抄訳：渡辺大輔
- チーズ中のコク味作用を有するグルタミルペプチド及び*Penicillium roquefortii*による  
 生成について ..... 36  
 Simone Toelstede et al. (*J. Agric. Food Chem.*, 57(9), pp 3738-3748, 2009)  
 抄訳：中路綾希子

### 表紙の説明

水産物として重要なアサリや牡蠣などの二枚貝類は、植物プランクトンをエサとする懸濁物フィーダーであるが、エサとともに海水中にブドウ糖（D-グルコース）を添加しておくこと、これを上皮組織から直接吸収し生育が促進されることを、著者らは見出した。

詳細については12頁をご覧ください。

## ◀ 総説 ▶

## 植物の決死の技: 膜融合を介した新しい植物免疫機構

京都大学大学院理学研究科, \*現北海道大学

西村いくこ・初谷紀幸\*

植物細胞は、内部に発達した液胞をもち、液胞の中に細菌を攻撃するための抗菌物質や分解酵素を多量に蓄積している。一方、細菌は細胞外で増殖し植物を危機にさらす。植物は、細胞外の細菌を撃退するために、どのようにして細胞内部の抗菌物質を利用しているのだろうか?今回、細菌に感染した植物が、液胞と細胞膜を融合させ細胞内外をつなぐトンネルをつくることにより、液胞内部の抗菌物質を外に放出して細菌を攻撃するという新しい植物免疫機構が明らかになった。この防御戦略は植物細胞の過敏感細胞死で終了する。まさに植物の決死の戦略である。

## はじめに

私達ヒトを含む動物は病原菌やウイルスに感染すると、体内の免疫細胞がこれらの外敵を攻撃してくれる。植物も動物と同様に常に様々な外敵にさらされながら生きているが、動物にみられる免疫細胞のような特殊攻撃部隊をもたない。そのため、植物は全身の個々の細胞が外敵に備えている必要がある。そこで植物は、過敏感細胞死と呼ばれる細胞死を伴う戦略を駆使して身を守る。即ち、病原体に感染した細胞は、自らを犠牲にして病原体を巻き込みながら心中する。その結果、病原体は全身に蔓延することなく、植物体は生き残ることができる。

この自殺とも言える過敏感細胞死はプログラム細胞死の一つと位置づけられ、動物のプログラム細胞死(アポトーシス)との共通性に目を向けた研究が盛んに行われるようになった。特に、動物の細胞死の実行因子として caspase (cysteine-aspartic-acid protease)と命名されたシステインプロテアーゼの研究が進む中で、植物の細胞死でも caspases に注目が集まった。多くは、「過敏感細胞死を含む様々な植物のプログラム細胞死の過程で caspases の活性が検出される」、あるいは「caspases の阻害剤が細胞

HARA-NISHIMURA Ikuko, HATSUGAI Noriyuki  
〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

死を抑制する」という報告であった。しかし、モデル植物のゲノム解読の結果、caspases のホモログに相当する分子は見出されず、「植物の細胞死の際に現れる caspase 活性の実体は何か?」という新たな課題が浮上してきた。2002年には「Do Plant Caspases Exist?」と題した論文が国際誌に登場したほどである<sup>1)</sup>。

この課題に対して、2004年に私達は一つの解答を与えることができた<sup>2)</sup>。植物の細胞死の局面で働く caspase-1の実体は、意外なことに液胞内の酵素(液胞プロセシング酵素, VPE)であった。動物細胞の caspases が細胞質ゾルの酵素であることとは対照的である。VPEはウイルス感染による過敏感細胞死を制御していた。その戦略は、VPEの働きにより、液胞の膜を崩壊させ内部に蓄積しているヌクレアーゼやプロテアーゼなどの分解酵素を放出することにより、細胞質ゾルで増殖するウイルスを直接攻撃するというものである。

しかし、VPEは細菌感染による過敏感細胞死に対しては無力であった。また、細菌感染の際に関与するのは caspase-1活性ではなく、caspase-3活性である。そこで浮上してきたのが次の2つの新たな課題である。第一の課題は、「caspase-3活性を示す酵素の実体は何か?」であり、第二の課題は、要旨にあげた「植物は、細胞外の細菌を撃退するために、ど

のようにして細胞内部の抗菌物質を利用しているのだろうか?」というものである。ここでは、私達の最近の研究成果をベースにして<sup>3-6)</sup>、この2つの課題に対する謎解きを行いたい。

### 細胞外で増殖する細菌を撃退するためのトンネル作り

トマト斑葉細菌 (*Pst DC3000/avrRpm1*) をモデル植物であるシロイヌナズナの葉に感染させると、感染した葉の細胞は、細菌を封じ込めるために急速に過敏感細胞死を引き起こす。図1から、感染した部位 (葉の右半分) が数時間で細胞死を引き起こし始めていることが分かる。この細胞死の過程で細胞でどのようなことが起きているかを調べると非常に興味深い現象がみえてきた。

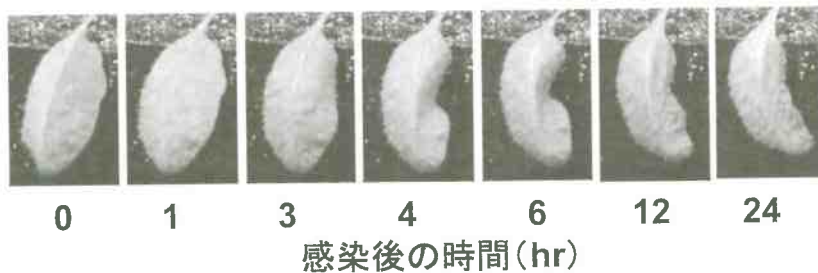


図1 トマト斑葉細菌 (*Pst DC3000/avrRpm1*) を感染させたシロイヌナズナの葉。  
葉の右半分に菌を接種している。

植物の細胞は内部に発達した液胞をもっており、葉の細胞では90%以上の体積を液胞が占めている。液胞の内部には多種多様な分解酵素や抗菌物質が集積していることが知られている。このようなタンパク質が細胞質に漏れることは死に直結する。細菌感染後の細胞を電子顕微鏡で観察すると、感染前の細胞では、液胞を取り囲んでいる膜(液胞膜)は無傷の状態にあるが、感染後3時間目くらいから、液胞膜と細胞膜(原形質膜)が頻りに融合し(図2A, 矢印)、細胞の内部と外部をつなぐトンネルが形成されるこ

とが分かった(図2B)。感染後4.5時間目では、全ての細胞でこのトンネルが観察された。このような植物細胞内の中心液胞と細胞膜の融合という現象は、細胞生物学的にも知られていない。

### 液胞内抗菌物質の細胞外への放出作戦

当然のことながら、トンネルが形成されると液胞内部の物質は細胞外に漏出する。図3は、その様子を液胞型蛍光タンパク質 (Venus) を指標にして示している。液胞型 Venus を発現する形質転換シロイヌナズナの葉の細胞では、細胞内の液胞が蛍光を示し、細胞外に蛍光が観察されることはない(図3A, \*は細胞間隙を示す)。しかし、細菌感染後4.5時間目には、蛍光が細胞外に観察されるようになる(図3B)。これは液胞膜と細胞膜の融合により形成されたトンネルを通して液胞内の蛍光タンパク質が細胞外に放出された結果とみることができる。また、通常液胞と細胞膜の間に局在している葉緑体が、液胞の膨圧の減少に伴って、細胞の中央部になだれ込んでいる様子も見える(図3B, 細胞内の顆粒状に見えるのが自家蛍光を発する葉緑体)。

実際に、感染後の葉から回収したアポプラスト液には、細菌の増殖を抑制する活性が認められた。従って、液胞膜と細胞膜の融合により、液胞内に集積していた抗菌物質が細胞外に放出されていることが確認できた。

細胞の構造から液胞膜と細胞膜の融合をみると面白いことが分かる。通常、生命活動を行っている細胞質は、細胞膜と液胞膜の両方に囲まれていると捉えることができる。従って、液胞膜と細胞膜が融合しても細胞質そのものが傷つくことはない。実際に、トンネルが形成され

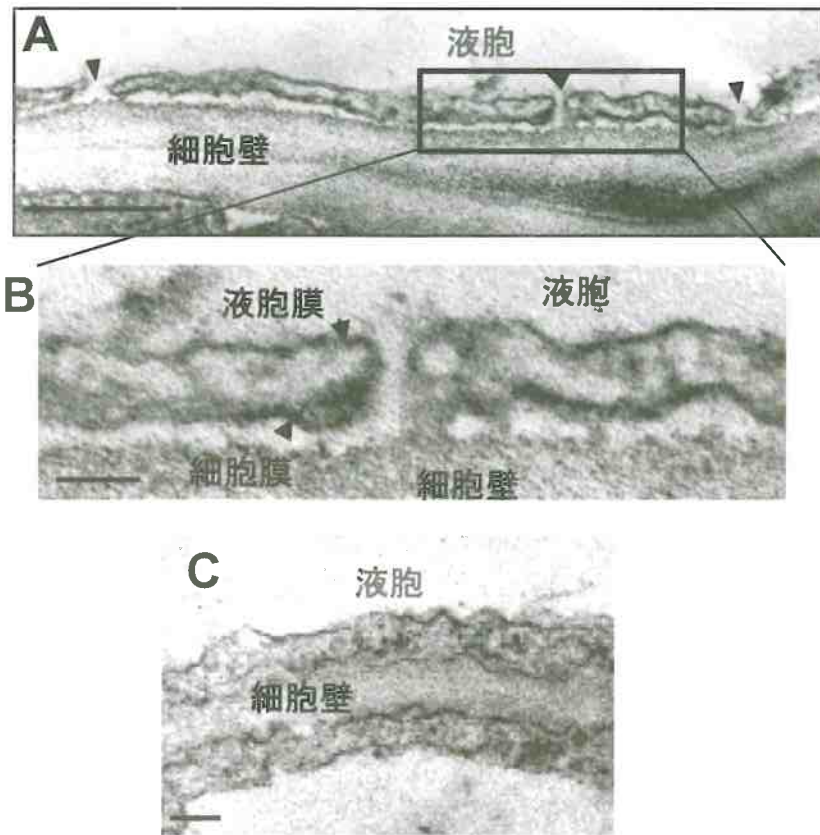


図2 細菌の感染後に細胞内の液胞の膜と細胞膜とが融合し、細胞の中と外がつながるトンネルが形成される。

- (A) シロイヌナズナの葉にトマト斑葉細菌 (*Pst* DC3000/*avrRpm1*) を感染させて、3時間後の細胞の周辺部の電子顕微鏡写真。バーは  $0.5\ \mu\text{m}$ 。  
 (B) Aの電子顕微鏡写真の四角で囲まれた部分の拡大図。バーは  $0.1\ \mu\text{m}$ 。  
 (C) プロテアソームのPBA1サブユニットのノックダウン株 (*ipba1*) の葉に菌を感染させて、12時間後の電子顕微鏡写真。バーは  $0.1\ \mu\text{m}$ 。PBA1の発現抑制により、液胞膜と細胞膜の融合は起こらなくなる。

た後も半日程度は、細胞は死ぬことなく抗菌物質を作り続ける能力を保持していることが分かった。最終的には、液胞から細胞外に放出された分解酵素により細胞死を招くことになるが、その死の間際まで抗菌物質や活性酸素種の生産を続けるのである。これこそ植物の決死の技といえるのではないだろうか。

### Caspase-3 活性をもつプロテアソームサブユニット PBA1 がトンネル作りのスイッチとして働く

植物が忍び寄る細菌をトンネル形成の技で撃退することが分かった。しかし、液胞膜と細胞膜の融合は通常の状態では起こらない。細菌の感染時にのみ膜融合のスイッチが入る。このスイッチの役割を担っているのがプロテアソームと呼ばれるタンパク質分解装置であることが判明した。プロテアソームは巨大なタンパク質分解装置で、3種類の触媒サブユニットをもつ。そのサブユニットの一つであるPBA1の遺伝子をノックダウンすると、細菌感染後12時間経過しても膜融合はまったく起こらない(図2C)。また、液胞内部の物質が細胞外へ放出されることもない(図3C)。

もう一つの発見は、このプロテアソームサブユニットPBA1が冒頭に記載したcaspase-3活性を示す酵素の実体だったというものである。細菌感染

による過敏感細胞死にcaspase-3の活性が関与することは以前から知られていたが、その実体と働きがようやくみえてきた。

### 細菌に対抗するための防御機構のモデル

プロテアソームが分解装置であることを考慮すると、次のようなモデルを描くことができる(図4)。即ち、細胞質ゾルには、液胞膜と細胞膜の融合を阻害する抑制因子が存在し、通常は双方の膜の融合が起こらないように調節して

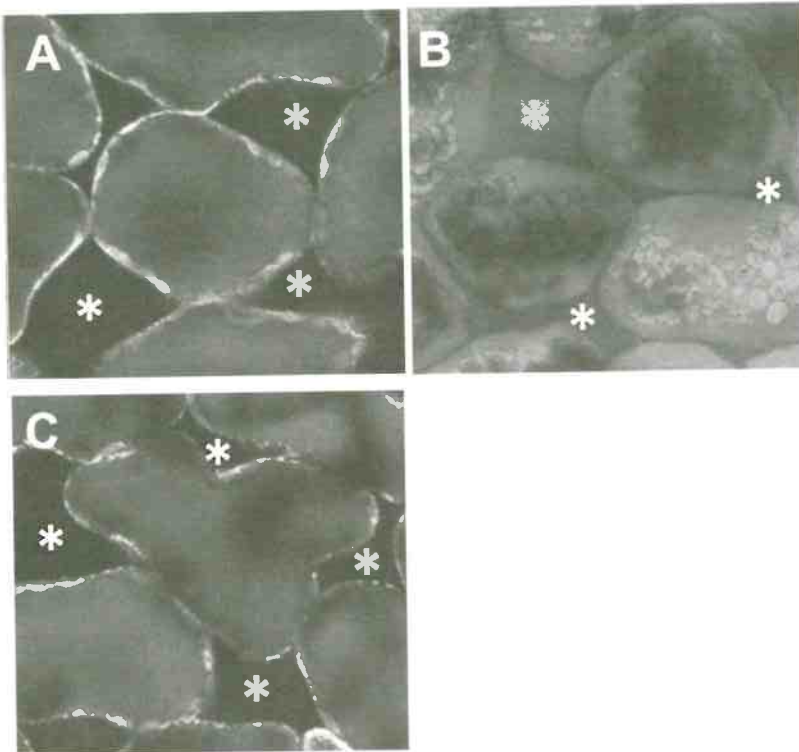


図3 トンネルが形成された結果、液胞内部に集積された物質が細胞外に放出される。

- (A) 液胞型蛍光タンパク質 (SP-Venus-2SC) を発現している形質転換シロイヌナズナの葉の共焦点レーザー顕微鏡像。蛍光は細胞内のみ観察される。\*は細胞間隙を示す。細胞周辺で顆粒状に見えるのは自家蛍光を発する葉緑体。
- (B) この形質転換体の葉にトマト斑葉細菌 (*Pst* DC3000/*avrRpm1*) を感染させて、4.5時間後の像。液胞内の蛍光タンパク質が細胞外 (\*) に検出されるようになる。液胞の膨圧の減少に伴い、葉緑体が細胞の中央部に移動している。
- (C) プロテアソームのPBA1サブユニットのノックダウン株 (*ipba1*) の葉に菌を感染させて、4.5時間後の像。PBA1の発現抑制は、液胞型蛍光タンパク質の細胞外への放出を阻害している。

いる。細菌が感染すると、この抑制因子がプロテアソームで分解されることにより、膜融合が開始する。膜融合の結果形成されたトンネルを介して、液胞内に蓄えられている抗菌物質が放出され細菌を攻撃する。この間も、細胞は抗菌物質を合成する。同時に液胞内の分解酵素も放出され細胞は過敏感細胞死を起こす。

### 病原体の種類による防御機構の巧みな使い分け

冒頭に述べたように植物は、防御のための特殊部隊をもたないため、植物は全ての細胞が感染に対する抵抗力を発揮しなければならない。細胞内で増殖するウイルスに対しては、液胞膜を壊して直接ウイルスを分解する。一方、細胞外で増殖する細菌に対しては、トンネルを形成して抗菌物質を放出する。このように病原体の種類に応じて液胞を使い分けしている (図5)。液胞は全ての細胞が持ちあわせているオルガネラであることを考えると、液胞膜崩壊や膜融合の機構はコストをかけない植物の防御システムであることがよく理解できる。細胞壁に囲まれた植物細胞が自力本願的に病原体の感染から身を守っている様子が少しずつみえてきた。

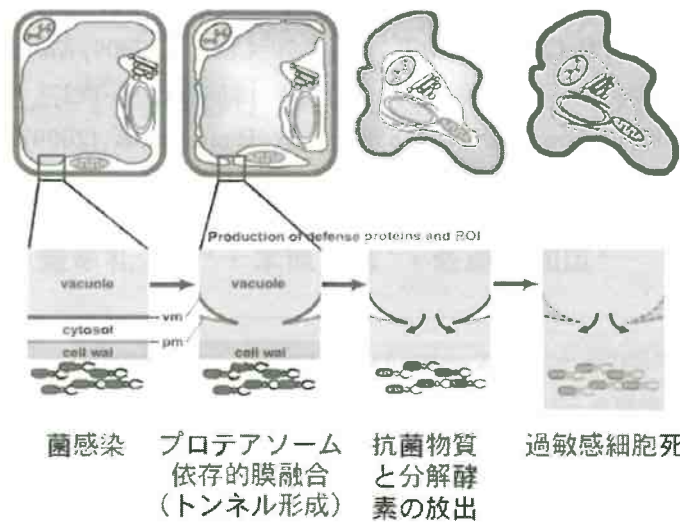


図4 細菌感染に応答して誘導される膜融合（トンネル形成）とそれによる抗菌物質の放出と過敏感細胞死のモデル。

最近の感染を感知した植物細胞は、液胞膜と細胞膜を融合させ、液胞内部に蓄えていた抗菌性物質や分解酵素を細胞外に放出する。この膜融合はプロテアソーム依存的に起こる。次いで、細胞外に放出された抗菌物質により細胞間隙に潜む細菌は増殖を抑えられる。その後、液胞から分泌された分解酵素などの働きにより、植物細胞は過敏感細胞死を起こす。

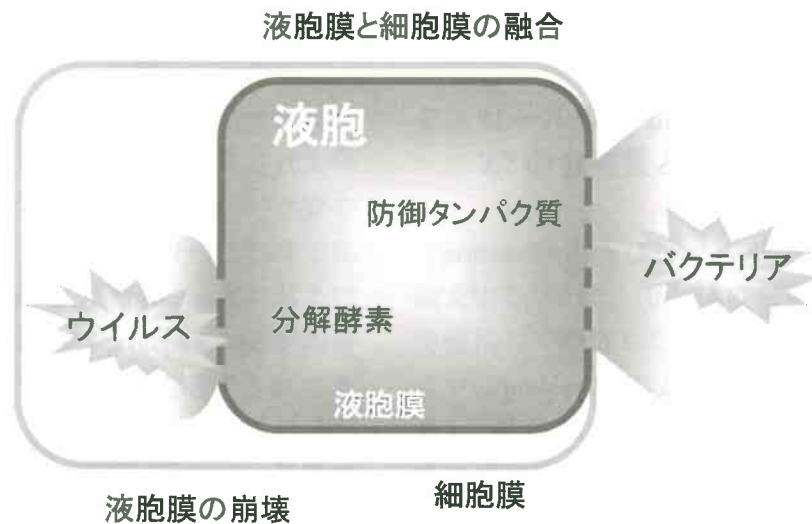


図5 病原体の種類に応じた植物の防御戦略。

植物の全ての細胞は、病原体からの攻撃に備えて液胞内に抗菌物質や分解酵素を蓄えている。細胞外で増殖する細菌に対しては、液胞膜と細胞膜を融合させることによるトンネルを形成して抗菌物質を細胞外に放出して撃退する。一方、細胞の内部で増殖するウイルスに対しては、液胞膜を崩壊させることにより、液胞型のプロテアーゼやヌクレアーゼを含む分解酵素を細胞質ゾルに放出して、直接撃退する。

## 文 献

- 1) Ernst J. Woltering, E. J. et al. (2002) *Plant Physiol.*, 130, 1764-1769
- 2) Hatsugai, N. et al. (2004) *Science*, 305, 855-858
- 3) Hatsugai et al. (2009) *Gene. & Dev.*, 23, 2496-2506.
- 4) Pajerowska-Mukhtar, K. et al. (2009) *Gene. & Dev.*, 23, 2449-2454.
- 5) Chen, I. (2009) *Nature Structural & Molecular Biology*, 16, 1127.
- 6) Baumann, K. (2009) *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10, 815.



## ◀ 国内情報 ▶

## ビールの泡持ちに関連する オオムギ育種用 DNA マーカーの開発

<sup>1</sup> サッポロビール株式会社バイオ研究開発部, <sup>2</sup> 岡山大学資源生物科学研究所

飯牟礼 隆<sup>1</sup>・木原 誠<sup>1</sup>・佐藤 和広<sup>2</sup>

オオムギ種子中に存在するタンパク質である protein Z4 および protein Z7 とビールの泡持ちの関係を明らかにした。さらに、種子中の protein Z4 および protein Z7 の含量程度を判別する DNA マーカーを構築し、そのアレルによって、泡持ち程度を判別できることを確認した。これらの DNA マーカーをビールオオムギ育種に利用することで、泡持ちの良い品種・系統を効率よく選抜できる可能性を示した。

### 1. はじめに

ビールの泡は外観の美しさを形成するだけでなく、香りを逃がさないための蓋の役割も担っている。このため、泡の品質はビール醸造上、極めて重要な特性である。泡の品質は泡持ち、泡立ち、きめ細かさ、付着性などに分類される。この中で泡持ちとは、注いだ泡が消失するまでの時間のことであり、時間が長いビールの泡持ちを良いとする(図1)。泡持ちの程度はビール中の様々な成分が関与する複雑な特性であり、その重要性から多くの研究結果が報告されている<sup>1,2)</sup>。泡持ちにはオオムギ由来のタンパク質の寄与が大きいことが知られており、これまでにオオムギ由来の protein Z (protein Z4 および protein Z7) や lipid transfer protein 1 などが泡持ちに関与するタンパク質として研究されてきた<sup>3,4)</sup>。

通常、ビールオオムギ育種において、初期交配からビールの品質評価に至るまでには、10年以上を要する。またビールを醸造するためには大量のオオムギ種子や麦芽が必要なため、ビール醸造試験に供試できる系統数は限られている。このためオオムギ育種において、サンプル量お

<sup>1</sup>〒370-0393 群馬県太田市新田木崎町 37-1

<sup>2</sup>〒710-0046 岡山県倉敷市中央 2 丁目 20-1

よび経費の点で効率が良く、確実に醸造形質を推定できる選抜方法が求められていた。

本報告では、オオムギ由来の protein Z4 および protein Z7 と泡持ちの関係を明らかにした後、種子中の protein Z4 および protein Z7 含量の調節に関わる DNA マーカーを開発した。また、これら DNA マーカーのアレルごとに泡持ちを測定して、DNA マーカーによる泡持ちの選抜効果を確認した。

### 2. ビール中の protein Z4 および protein Z7 の含有量と泡持ちの関係

protein Z4 および protein Z7 と泡持ちの関係を調査するために、10 品種の麦芽をそれぞれ単独で使用して醸造したビールサンプル、合計 24 点中の protein Z4 および protein Z7 の含有量を定量し、泡持ちを NIBEM 値で評価した。NIBEM 値とは 20℃のビールを泡注ぎだし機で標準グラスに注いで生じる泡の高さが 30mm 降下するのに要する時間(秒)のことである(図1)。また、protein Z4 および protein Z7 の定量はそれぞれを特異的に認識する抗体を用いて ELISA 法により行った。その結果、ビール中の protein Z4 および protein Z7 の含有量と NIBEM 値の間にはそれぞれ正および負の有意な相関関係が見られた(図2)。従って、protein Z4 および protein

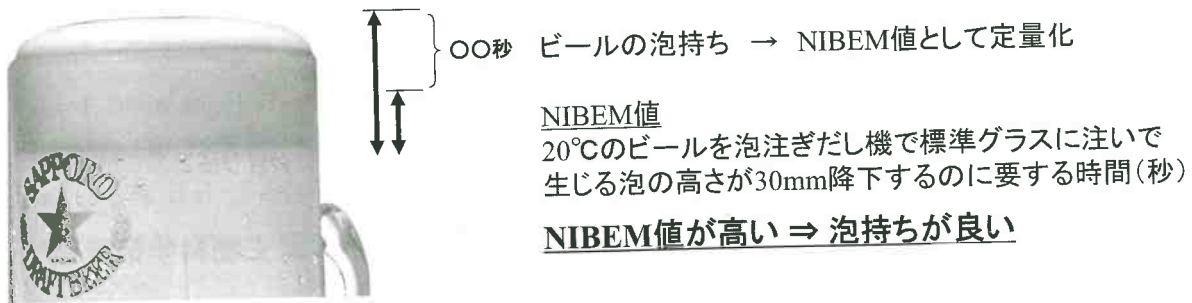


図1 ビールの泡持ちの評価法 NIBEM 値について

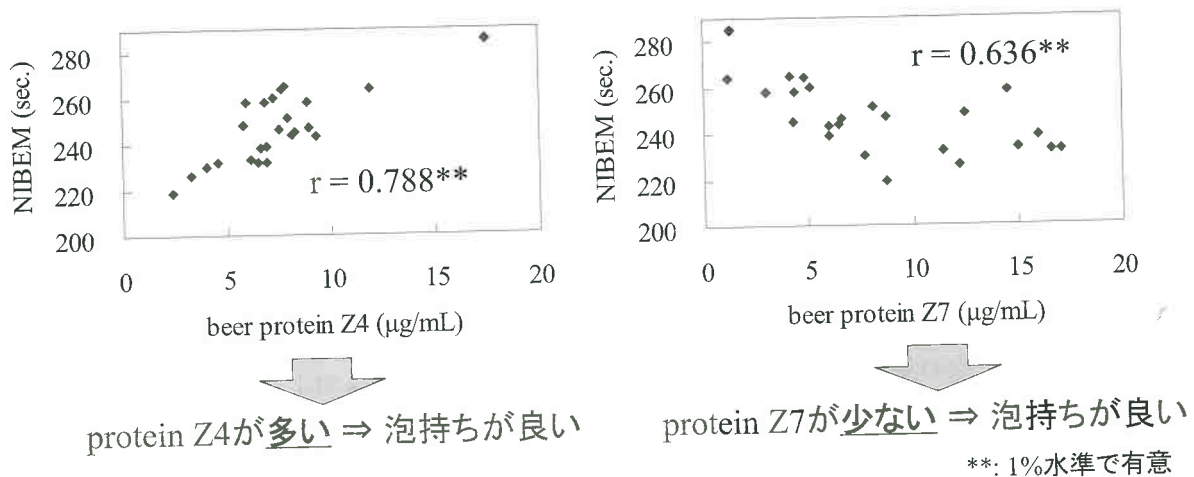


図2 ビール中の protein Z4 および protein Z7 含有量と泡持ち (NIBEM 値) の関係

Z7 は泡持ちの有効な指標になることが示唆された。

### 3. 種子中の protein Z4 および protein Z7 の含有量に関する DNA マーカーの開発

Evans et al.<sup>5)</sup> は麦芽中の protein Z4 および protein Z7 の含有量に関わる量的形質遺伝子座 (quantitative trait locus: QTL) 解析を行い、それぞれ 4H および 5H 染色体に座乗する protein Z4, protein Z7 構造遺伝子近傍に統計的に有意な QTL を検出している。このことから、種子中の protein Z4 および protein Z7 の含有量を支配する遺伝要因は protein Z4 および protein Z7 のプロモーター領域を含む構造遺伝子近傍にあると考えられた。そこで、これらのタンパク質の発現量

に關与する塩基配列の品種による違い (多型) を見出すために、プロモーター領域を含むと予想される翻訳開始コドンの上流域を中心に塩基配列を調査した。protein Z7 については翻訳開始コドンの上流域の塩基配列が 29 bp しか公開されていなかったため、Thermal Asymmetric Interlaced (TAIL) PCR 法により新規に配列情報を取得した。protein Z4 および protein Z7 含有量のそれぞれが高い品種と低い品種について、翻訳開始コドンより上流側を中心に塩基配列を解析したところ、それぞれ 4 箇所および 23 箇所に多型が確認された。これらの多型のうち制限酵素切断配列を含む多型を cleaved amplified polymorphic sequences (CAPS) マーカーとした。ビールオオムギ 20 品種のアレルをこれらの CAPS マーカーで判定したところ、protein Z4 および protein Z7 のアレルによって、K (Kendall)

型と R (Ryofu) 型の品種タイプに分類できた (図 3)。2000, 2004 および 2008 年に同一条件で栽培したビールオオムギ 20 品種について, アレルごとに種子中の protein Z4 および protein Z7 含有量の平均値を算出して比較したところ, いずれの年度においても品種間差は 1%水準で有

意で, 「K 型」は「R 型」より protein Z4 含有量は高く, protein Z7 含有量は低かった (図 4)。従って, これらの DNA マーカーは種子中の protein Z4 および protein Z7 含有量の判別に有効であることが示された。

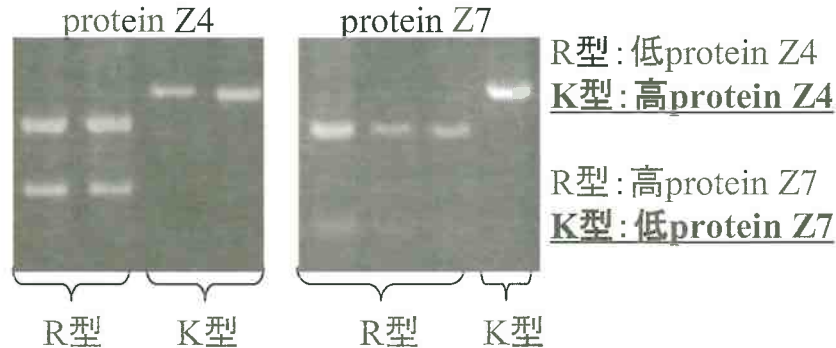


図3 protein Z4 および protein Z7 遺伝子型の判別

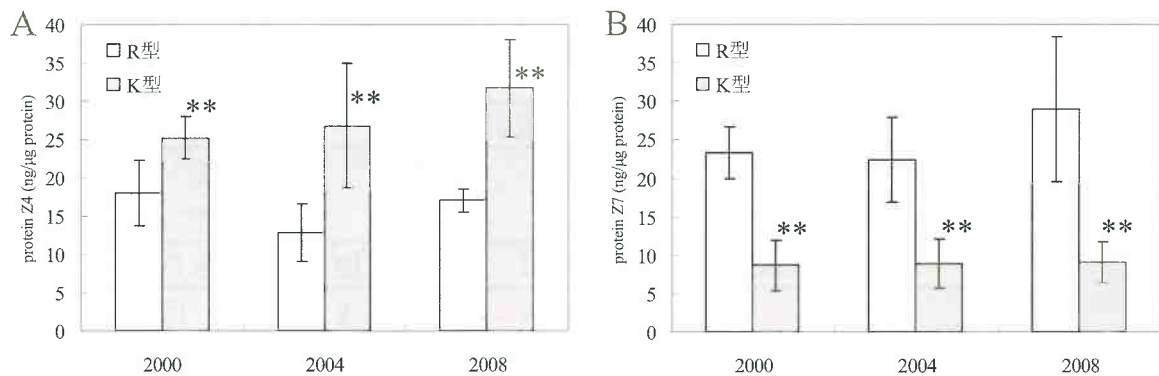


図4 K 型および R 型の種子中 protein Z4 (A), protein Z7 (B) 含有量の平均値 (統計検定は年度内で, \*\*は  $P < 0.01$  で有意に異なる)

#### 4. protein Z4 および protein Z7 のアレルと泡持ちの関係

ビール醸造試験で使用した 10 品種は, protein Z4 および protein Z7 のアレルの調査によって, 「K 型」と「R 型」に分類された。それぞれのアレルごとに NIBEM 値を平均して比較したところ (図 5), protein Z4 および protein Z7 ともに, 「K 型」は「R 型」と比較して NIBEM 値

が有意に高かった。この結果から, protein Z4 および protein Z7 のアレルは泡持ちと関連することが示唆され, protein Z4 および protein Z7 のアレルがともに「K 型」を有するオオムギ品種・系統は優れた泡持ちを持つ可能性が示唆された。

世界各地のビールオオムギ 64 品種について, protein Z4 および protein Z7 のアレルを調査し, アレルに基づいて 4 つのグループに分類した (表 1)。日本の品種は半数以上が Group IV

(protein Z4 および protein Z7 がともに R 型) に分類され, Group I (protein Z4 および protein Z7 がともに K 型) に分類されたのは 1 品種のみであった。このように、これら二つのタンパク質

のアレルについて、日本のビールオオムギ品種の多くは泡持ちの劣る遺伝子型を持つことが明らかとなった。

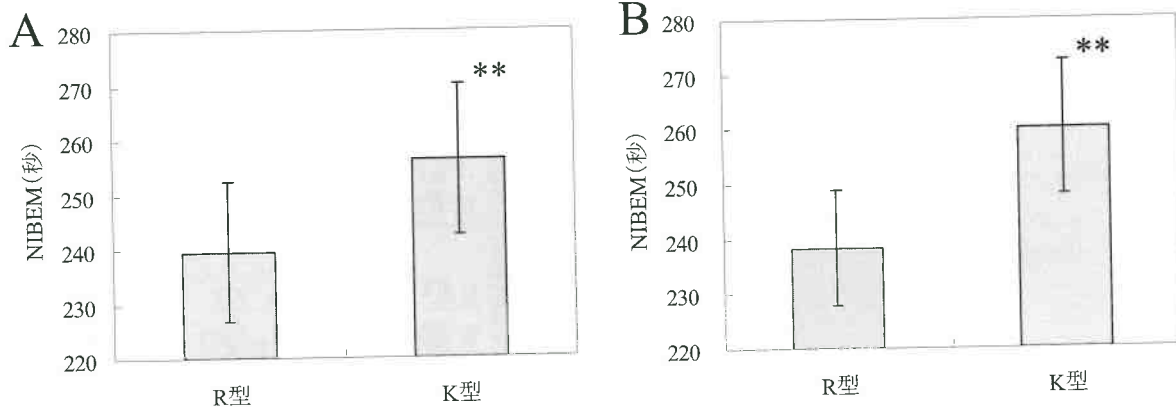


図5 protein Z4 (A), protein Z7 (B) が K 型および R 型を示すビールの泡持ち (NIBEM 値) の平均値 (\*\*は  $P < 0.01$  でそれぞれ有意に異なる)

表 1 世界各地のビールオオムギ 64 品種の protein Z4 および protein Z7 遺伝子型

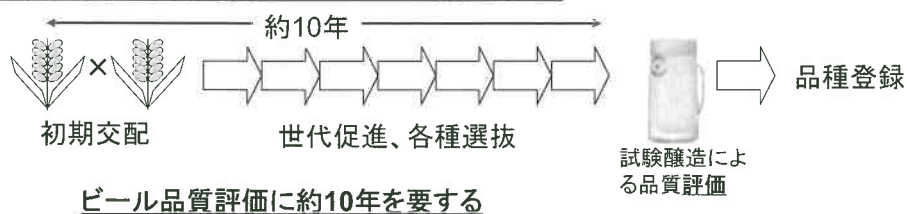
	遺伝子型			
	K型	K型	R型	R型
Protein Z4	K型	R型	K型	R型
Protein Z7	K型	R型	K型	R型
	Group I	Group II	Group III	Group IV
日本	1	3	5	12
北米	5	6	0	0
オーストラリア	2	3	5	2
ヨーロッパ	13	0	6	1

## 5. おわりに

従来のビールオオムギ育種では、初期交配から泡持ちの評価に至るまでに約 10 年を要していたが、本研究で開発した DNA マーカーを利用することによって、泡持ちの選抜が  $F_2$  世代から可能となる (図 6)。従って、ビールの泡持ちに対する選抜効率の大幅な向上が期待される。また、ビール醸造においては、世界中のオオムギ品種の中から protein Z4 および protein Z7 の

アレルがともに「K 型」のものを選んで使用することにより、より泡持ちの良いビールの醸造が可能となるかもしれない。但し、protein Z4 および protein Z7 含量は栽培条件による変動が大きいことが知られている<sup>5)</sup>。また醸造条件によっても泡持ちは変動する。このため、今後はマーカーの遺伝子型、オオムギの栽培条件および醸造条件との相互作用の評価を行って、本研究で開発した DNA マーカーの実用性を確認する必要がある。

### 育種過程における従来のビール品質評価



### DNAマーカーを用いたビール品質評価系の導入

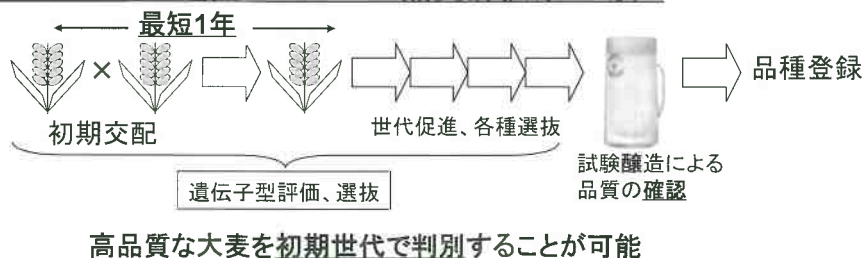


図6 ビール品質関連 DNA マーカーによる評価系を導入した場合の、ビールオオムギ育種の概略

### 文 献

- 1) Bamforth, C. W. (1985), *J. Inst. Brew.*, 91, 370-383
- 2) Evans, D. E. et al. (2002), *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 60, 47-57
- 3) Iimure, T. et al. (2008), *J. Agric. Food Chem.*, 56, 8664-8671
- 4) van Nierop, S. N. E. et al. (2004), *J. Agric. Food Chem.*, 52, 3120-3129
- 5) Evans, D. E. et al. (1999), Australian barley varieties. p. 3.6.1-3.6.6 in: Proc. 9th Aust. Barley Tech. Symp. Melbourne, Victoria

## ◀ 国内情報 ▶

## 海水へのブドウ糖添加とアサリの成長促進効果

## —海水サプリメントの開発—

独立行政法人 水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所  
<sup>1</sup>生産環境部 <sup>2</sup>栽培資源部

内田基晴<sup>1</sup>・三好達夫<sup>1</sup>・兼松正衛<sup>2</sup>

水産物として重要なアサリや牡蠣などの二枚貝類は、水中の植物プランクトンを鰓で濾し取って捕食する懸濁物フィーダーであるが、溶存態のアミノ酸や糖質を上皮組織から直接吸収する能力も有していることは、専門家でも知らない場合が多い。海水中にブドウ糖（D-グルコース）を添加しておくことで、この取り込み機構がはたらいて二枚貝の生育が促進されることを見出した。さらにこれを応用して10倍美味しいスーパーグルメ海産動物を生み出すアイデアも生まれている。

### 1. 海産無脊椎動物の意外と知られていない能力

海産動物を飼育している専門技術者・研究者でさえ知らない場合も多いが、海産無脊椎動物は、海水中の溶存態の有機物（DOM）を直接上皮細胞から体内に取り込む能力を有している。このことは、1909年に Pütter<sup>1)</sup>により仮説として提唱され、その後1960年代から1980年代にかけての一連の研究により証明され、明らかとなった知見である。このような上皮組織からのDOMの取り込み能力は、海産無脊椎動物の中の節足動物門（甲殻類）を除く10門以上の生物種で確認され、soft-bodied marine invertebratesの普遍的な能力とみなされている（表1）<sup>2)</sup>。アイソトープを使用した取り込み実験によれば、DOMを取り込む部位は、特定の上皮組織に集中して存在しており、二枚貝の場合では、鰓と外套膜部位に集中している。DOMを取り込む分子機構はほとんど明らかになっていないが、

UCHIDA Motoharu<sup>1</sup>, MIYOSHI Tatsuo<sup>1</sup>, KANEMATSU Masaei<sup>2</sup>

<sup>1</sup>〒739-0452 廿日市市丸石 2-17-5

<sup>2</sup>〒794-2305 愛媛県今治市伯方町木浦甲 2780

基質の取り込み速度が Michaelis-Menten の式に従うことから、キャリアーを介した仕組みであることが示唆されている。これまでに取り込みが確認されている分子種としては、アミノ酸の他、糖質や脂質など多岐にわたっている。ただし、上皮組織からの吸収であるので、取り込みが可能なのは低分子のものに限られ、糖質の場合で3糖程度以下であると予想される。ただし、単糖や2糖なら何でも取り込むというわけではなく、取り込み可能な糖質の種類には特異性があり、生物種によっても取り込む糖質の種類に違いが見られる。このような知見が集積する中で、この分野の研究者は、アミノ酸の取り込みに焦点をあてて研究を行うことが多かった。栄養面での貢献を考えるとN源にもC源にもなりうるアミノ酸をより重要と考えるのは当然であろう。しかし、アミノ酸を海水に添加すると、速やかに細菌の増殖が起きて水質が悪化するため、72時間以上の連続した飼育試験が困難である。このことが関係してか、長い研究の歴史の中で、海産無脊椎動物がDOMを取り込むことにより成長が促進されるなどの何か目に見えるプラスの効果があることは証明されてこなかった。ところで、天然海水中に存在するDOMの

表1 海産無脊椎動物によるグリシンの取り込み  
(グリシン濃度2mM)

生物	時間 (hr)	グリシンの減少率 (%)
海綿動物門		
<i>Microciona prolifera</i> (カイメン類)	22	90
<i>Cliona celata</i> (カクレセンコウカイメン)	18	38
刺胞動物門		
<i>Tubularia crocea</i> (ウミヒドラ)	18	19
<i>Schizotricha tenella</i> (ヒドロ虫)	18	25
<i>Metridium dianthus</i> (イソギンチャク)	21	31
<i>Astrangia danae</i> (サンゴ虫)	21	57
紐形動物門		
<i>Cerebratulus lacteus</i> (ヒモムシ)	24	58
外肛動物門		
<i>Bugula turrita</i> (コケムシ)	18	70
環形動物門		
<i>Nereis virens</i> (ゴカイ類)	17	87
<i>Chaetopterus variopedatus</i> (ツバサゴカイ)	24	50
星口動物門		
<i>Golfingia gouldii</i> (ホシムシ)	18	36
軟体動物門		
<i>Littorina littorea</i> (タマキビガイ)	22	100
<i>Mercenaria mercenaria</i> (ウミウシ)	17	20
<i>Aequipecten irradians</i> (イタヤガイ類)	22	37
<i>Mytilus edulis</i> (ヨーロツパイガイ)	24	46
節足動物門		
<i>Balanus balanoides</i> (フジツボ類)	23	0
<i>Orchestia agilis</i> (ハマトビムシ、端脚目甲殻類)	22	1
<i>Limulus polyphemus</i> (アメリカカブトガニ)	22	2(増)
<i>Palaemonetes vulgaris</i> (テナガエビ)	16	0
<i>Pagurus longicarpus</i> (ホンヤドカリ)	23	1
<i>Uca pugnax</i> (シオマネキ)	22	1(増)
棘皮動物門		
<i>Asterias forbesi</i> (ヒトデ類)	22	97
<i>Thyone briareus</i> (ナマコ類)	18	33
半索動物門		
<i>Saccoglossus kowalevskii</i> (キボシムシ)	18	24
背索動物門		
<i>Ciona intestinalis</i> (ユウレイボヤ)	18	38
<i>Amaroucium stellatum</i> (ナメクジウオ)	22	22

(Stephens and Schinske 1961を改変)

うち、アミノ酸および炭水化物濃度は、それぞれ通常  $20 \mu\text{g l}^{-1}$  (約  $0.2 \mu\text{M}$ ) 及び  $250 \mu\text{g l}^{-1}$  (約  $1.4 \mu\text{M}$ ) 程度かそれ以下のレベルであることが知られている<sup>3)</sup>。このような天然海水中に存在している DOM が海産無脊椎動物の栄養源として重要な役割を果たしているのではないかという生態学的な興味から、取り込み試験は、概ね  $1 \mu\text{M}$  前後 ( $0.25 \mu\text{M}$  -  $10 \mu\text{M}$ ) の範囲の濃度レベルで実施されてきた<sup>4)</sup>。しかし、このような低濃度レベルの添加では、例えば3週間程度の飼育試験を実施したとしても有意な成長差が検出されないことが後述の我々の実験結果からも示唆されている。このような理由から、100年もの間、現実的なメリットが確認されなかった海産無脊椎動物の上皮細胞からの栄養吸収の仕組みは、いつしか専門家からも忘

れられた知見となっていた。

## 2. ブドウ糖のアサリ稚貝に対する成長促進効果

筆者も、実は海産無脊椎動物の上記のような上皮細胞からの取り込み能力をあらかじめ知っていて実験をしていたわけではなかった。最初は、内湾域で増え過ぎて困っているアオサ (*Ulva* spp. 緑藻類) と、それと同じエリアに生息しているアサリとの関係を調べていたのが始まりだ。この研究の過程で、アオサの藻体から溶出されてくる有機物のなかの低分子画分 (分子量 1000 以下) の物質が、アサリ稚貝の軟体部 (身) や殻の成長を抑制することを見出した。アオサ藻体から溶出される物質の中で、量的に多いのは、ラムノースとグルクロン酸からなる硫酸多糖であるラムナン硫酸であることが化学分析により示唆された。そこで、手始めに標品として手に入るラムノース及びグルクロン酸について、飼育海水への添加試験をおこなったところ、それぞれ 7mg/L 及び 0.7mg/L 以上の添加で、アサリ稚貝の成長に有意な影響を与えることが判明した。ただし、この時の影響というのは、軟体部の成長には影響を及ぼさず、殻の成長のみを抑制するというネガティブなものであった。アオサに含まれているアサリに対する成長抑制物質は何かという問題は、ひとまず置いておいて、糖質のようなごくありふれた低分子の有機物が 1 mg/L レベルという低濃度でアサリ稚貝の成長に影響を及ぼすこと、また物質の種類によって、軟体部と殻の両方に影響を及ぼしたり、どちらかだけに影響を及ぼしたりするということはこれまで知られていなかった新しい知見である。さらに、このとき面白いと感じたのは、アサリ稚貝の肥満度指数 (=軟体部重量/殻重量 x100) が、見かけ上大きくなっており、身入りのいいアサリに変化していたことである。これが殻の成長抑制によって起こったことでなく、軟体部の成長促進によって起こったことであ

ば、いうまでもなく食品分野で大きなメリットがある。そこで、軟体部と殻の成長を同時に促進する物質、あるいは殻の成長には影響せず、軟体部の成長だけを促進する物質を求めてアサリ稚貝に対して有機物添加試験を重ねた。しかし、最初の頃に調べた物質は、ことごとくアサリの成長に対して抑制的にはたらくものばかりであった。例えば、栄養成分として貢献する物質の候補として脂質が考えられる。脂質そのものでは海水に溶けないので、糖と脂肪酸がエステル結合して溶解性の向上したショ糖脂肪酸エステル類を数種類試したが、1 mg/L 以上の濃度で軟体部と殻の両方の成長に対して明確に抑制的にはたらい。テルペン類も試したが、やはり 1 mg/L 濃度で軟体部の成長を有意に抑制した。このように沢山のネガティブな成長効果の山を積み重ねた上で見出したのが、ブドウ糖による成長促進効果である (図 1)。ブドウ糖が  $\alpha$ 1-4 結合した貯蔵糖系の糖質に焦点をあてて調べた結果、単糖 (D-グルコース) の他、2糖 (マルトース)、3糖 (マルトトリス) までは軟体部と殻の成長が促進される傾向が認められ、一方、5糖以上 (マルトペンタオース、プルラン) では明確な影響がなく、上皮組織からの吸収に基づく成長促進効果であることを暗示した。今回の成果が得られたことには幸運も味方した。糖質の添加は、毎朝 1 回の植物プランクトン餌料の投与と同時に行い、7 時間止水状態に保って摂餌させた後、夕方から翌朝まで 17 時間ろ過海水をかけ流して 3 週間飼育した。糖質は、アミノ酸に比べて、水質への影響が少ない上に、毎日 7 時間だけの暴露にとどめた結果、水質の悪化が全く起こらず、飼育が順調に行われた。ちなみに海水を交換しないで飼育すると、糖質を添加して 3 日後くらいからバイオフィームやフロックが生じ、アサリへの悪影響が懸念される状況となる。

## 3. 海水サプリメントの開発へ

今回見出された知見は、アサリだけでなく、



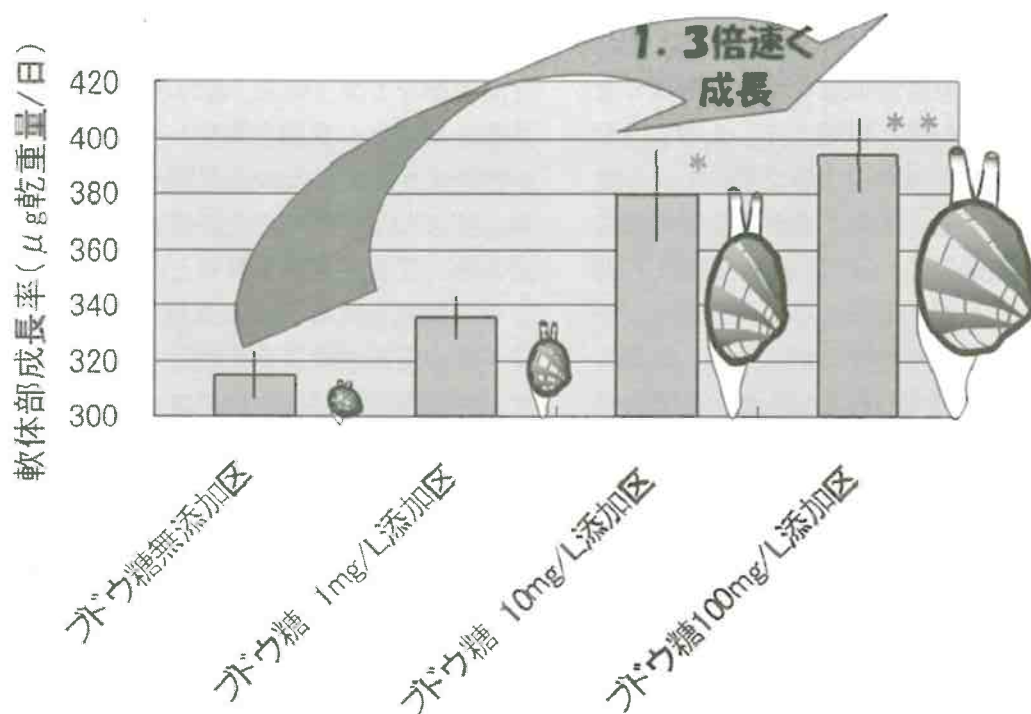


図1 ブドウ糖添加濃度とアサリの軟体部（可食部）の成長の比較（餌料は同じ量を添加）

各試験区について稚貝を15個体ずつ収容した水槽を3個ずつ用意して試験。

22日間飼育後に1日あたりの殻長成長率を水槽ごとに測定し、3連水槽の結果の平均値で比較。

成長率に統計的有意な差があった\* (P<0.05)、\*\* (P<0.01)

広く海産無脊椎動物を飼育する際に、海水に栄養物質を添加するやり方で栄養を投与するという新しい方法を提案する。極端に言えば、海産動物の“水耕栽培”だ。ただ、懸濁物フィーダーが要求する栄養を100%溶存態の形で補給するのは、常識的には難しいだろうとも予想しており、栄養を補完する目的で利用する水産飼料資材の開発を志向している。わかりやすい言葉でいえば、“海水サプリメント”の開発だ。現在のところ、ブドウ糖など貯蔵糖系の糖質数種類に限り、有用性を認めたとこであるが、他の物質、例えばアミノ酸系の有機物もプラスにはたらくであろうと予想している。ただし、水質を悪化させない投与方法・装置を開発することが鍵となるであろう。

ところで、水産の現場のどのような場面で、今回の成果が役に立つことが考えられるだろう。日本の天然アサリの漁獲量は、1980年代には

14万t前後であったが、近年は3万t程度にまで落ち込んでいる。そこで、独立行政法人水産総合研究センターや都道府県の水産試験場では、アサリの資源量の回復に資するため、アサリの人工種苗を大量生産することに取り組んでいる。アサリの人工種苗の大量生産については、現在大きな問題点が2つある。一つは、餌料となる植物プランクトンを低コストで大量培養して、安定供給することが難しいことである。図1でみたように、同じ量の植物プランクトン餌料を投与した条件下で比較した場合、ブドウ糖を添加することで、3割程度の成長促進が認められていることから、餌料を節約したり、餌料が安定供給できない状況に陥った際に栄養を補完したりする目的で海水サプリメントが利用されると期待される。種苗生産でのいま一つの問題点は、アサリ飼育の初期に起こる生残個体の著しい減耗である。アサリは、卵から孵化後、2~

3週の間、浮遊幼生としての時期を過ごし、その後、着底して成貝へと成長していく。この際、浮遊幼生が着底すべき時期になかなか着底しないというケースがしばしば起こり、このような場合には、その後の稚貝の生残が悪いということが経験されている。着底が遅れるとその後の生残が低くなる理由については、浮遊幼生の時期が長くなることで、遊泳に必要なエネルギーの消費がかさみ、エネルギー的に消耗して死亡するという機構が考えられる。もしそうであれば、エネルギー貯蔵物質とみなせるブドウ糖を海水サプリメントとして投与し、稚貝にエネルギーを補給することで、生残率が劇的に改善するのではないかと期待している。

#### 4. 10倍美味しいスーパーグルメアサリをつくるアイデア

ブドウ糖がアサリの上皮組織から体内に取り込まれると、解糖系、TCA サイクルを通じて様々な有機酸へと変換されていくと推定される。従ってブドウ糖を取り込ませることで、アサリ体内の有機酸濃度が増加してくる可能性がある。

貝類の有機酸成分のうちコハク酸などは、貝類の旨み成分として昔から有名である。従って、ブドウ糖をサプリメント添加することで有機酸含量を増やし、貝類を美味しく変化させることができるかもしれない。貝類のなかでもアサリは、“だし”が出るのが重要な食品であることから、アサリ成貝を材料として選んで、ブドウ糖を添加した海水に浸漬し、24時間後のアサリ体内の有機酸濃度を比較した。その結果、アサリ可食部（軟体部）中のコハク酸含量がブドウ糖無添加区と比べて2.8倍、ピルビン酸が4.3倍となり、総有機酸量で比べても1.5倍に増加していた(図2)。有機酸含量だけに限って話をすると1.5倍～4.3倍美味しくなっているということになるだろうか。しかし、この貝を調味料を加えずフライパンで蒸し焼きにして食してみたが、残念ながら味の違いは正直なところ判断が付きかねた。トータルとしての旨みにはアミノ酸含量の方が強く効いてくるとも考えられたので、今後は有機酸含量に加えて、アミノ酸含量を高めることを検討していく予定である。海産無脊椎動物が短時間のうちに溶存態のアミノ酸を取り組むことは、既に多数報告されている。

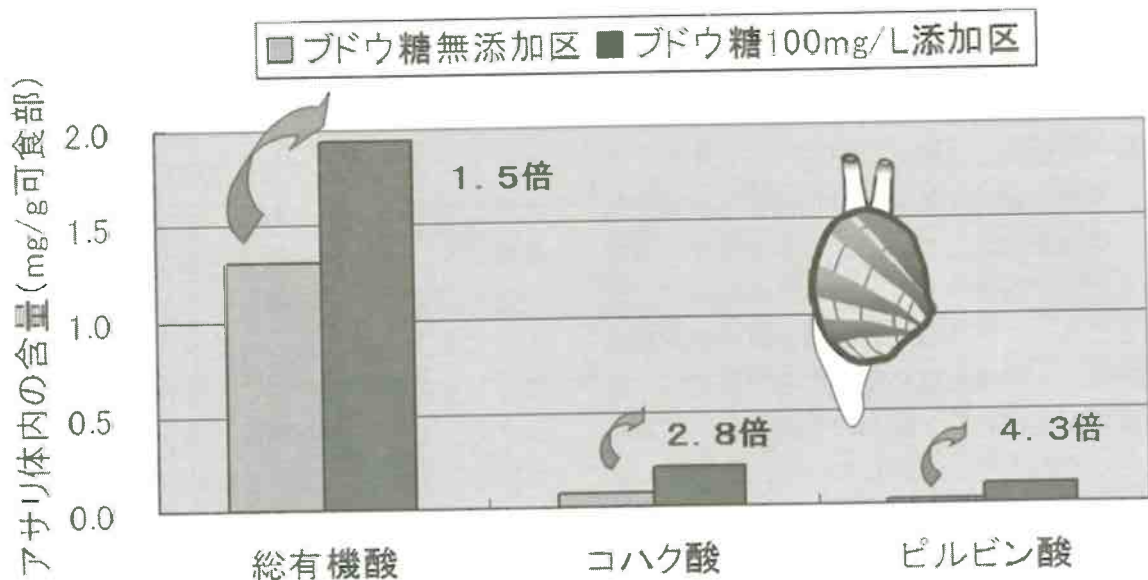


図2 アサリ体内の有機酸含量(旨み成分)の比較  
(両試験区とも10個体の平均値で比較)

一方、海水中の塩濃度が高くなると貝類や甲殻類が、浸透圧調整のために生物体内のアミノ酸含量を高めて対応すること（このような浸透圧調整物質のことをオスモライトと呼ぶ）も既に知られており、海産動物体内のアミノ酸濃度を人為的に高めることは充分可能であると見込んでいる。筆者らは、アサリではないが、他の真核生物の場合で、細胞内のアミノ酸含量を5~10倍にすることが可能であることをメタボローム解析によって既に認めており、細胞内のアミノ酸含量を10倍高めて、10倍美味しい“スーパーグルメアサリ”を調製するアイデアは、意外と早く実現するかもしれない。

## 5. 海に点滴すると海は元気になるか？

2009年から新型インフルエンザの流行が続いている。風邪をひいて体力を消耗した場合、お医者さんにいってブドウ糖（グルコース）注射をしてもらおうと、たちまち効いて元気になったりするのを読者もご経験のことであろう。最近、魚がさっぱり獲れず、海に元気がないという類の指摘をしばしば耳にする。そこで、海にブドウ糖注射をしたら海も元気にならないだろ

うか？筆者は、このようなことを真面目に考え、研究所内に人工干潟を造り、長期間に渡り、海水や干潟にブドウ糖の点滴を始めたところだ。人工干潟の上にはアサリを収容し、成長への影響もみている。さて、この実験の結末はどうか？読者には申し訳ないが、本稿では、予告に留めさせて頂く。陸での栽培(稲)の歴史は1万年。対して、水産動物の栽培の歴史は、高々100年。持続的な栽培技術の確立に向けて知恵を出す余地は、海ではまだまだ沢山残っている。

## 文 献

- 1) Pütter, A., (1909), Die Ernährung der Wassertiere und der Stoffhaushalt der Gewässer. *Fischer*, Jena
- 2) Stephens, G.C., Schinske, S.R., (1961), *Limnol. Oceanogr.*, 6: 175-181
- 3) Dawson, R., Pritchard, R. G., (1978), *Mar. Chem.*, 6: 27-40
- 4) Manahan, D.T., Wright, S.H., Stephen, G.C., Rice, M.A., (1982), *Science*, 215: 1253-1255

## ◀ 国内情報 ▶

## 昆虫における病原体トレランス機構の発見

帯広畜産大学 原虫病研究センター

新澤直明・嘉糠洋陸

蚊やダニなどの病原体媒介節足動物は、病原体を保持しながらも自身は病気にならない。病原体が体内に存在するにも関わらず致死性を回避している状態、いわゆるトレランスについて、マップキナーゼの一種である p38 が関与していることを明らかにした。ショウジョウバエを用いた解析から、p38 は病原体排除機構には全く影響を与えずに個体にトレランスを付与すること、また侵入した病原体を貪食細胞内に閉じ込めることにより、その病原性を抑制していることが明らかとなった。

## 1. はじめに

マラリアや西ナイル熱、日本脳炎やフィラリアなど、蚊やダニなどの節足動物によって媒介される感染性疾患は依然として脅威である。これらの疾病を媒介する節足動物はベクター（運び屋昆虫）と呼ばれ、農作物、家畜、野生動物、そして伴侶動物（ペット）に広く被害を及ぼしている。またこれらの中には人間と動物間に病原体が相互伝播する人獣共通感染症を媒介するものも多数存在し、対策が不可欠となっている。

それぞれの疾病を引き起こす病原体（ウイルスや寄生虫）が節足動物の体内で成長・増殖し、それらの病原体が宿主に伝播されることにより感染が成り立つ。感染症の本質は、宿主個体と病原微生物間に存在する「寄生する・寄生される」といった単純な生物学的関係といえる。病原体媒介節足動物も、病原体に対する耐性機構を持っていることが知られている。病原体と節足動物間で成立する病原体-ベクター相互関係が理解され、病原体を制圧できるベクター側抵抗因子を発見することは、従来の抗生物質などとは全く異なった概念の薬物ターゲットを与え、病原体を保持することが不可能な昆虫を作出する道を開くと考えられる。

SHINZAWA Naoaki, KANUKA Hirotaka

〒080-8555 北海道帯広市稲田町西 2 線 13

そこで筆者らは、蚊やダニなどの媒介節足動物に対して、病原体が体内にありながらもほとんど病原性を示さないという事実に着目した。これは、媒介節足動物が、病原体の排除を目的とした通常の免疫システムとは異なる「感染耐性機構」を有することを示唆する。この仕組みにより、あたかも病原体と節足動物が共存している状態が作り出され、その結果ベクターとしての媒介能を保持することが可能になっていると考えた。そこで本研究では、病原体を媒介する節足動物が持つと思われる感染耐性（トレランス）のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

## 2. レジスタンスとトレランス

メアリー・マローン (Mary Mallon) は、1900 年代初頭に世界で初めて臨床報告されたチフス菌 (サルモネラ菌) の健常保菌者である。自身は病気を発症しないにも係わらずチフス菌を持ち続け、その結果多くの食中毒を引き起こしたことから「腸チフスのメアリー (Typhoid Mary)」と呼ばれた。このように、病原体とあたかも共存しながら生活する状態として「不顕性感染」や「潜伏感染」が知られているが、なぜ病原体が宿主や媒介節足動物の免疫などの防御反応から逃れ、またその病原体を持つ個体自身が病気

にならないのか、長らく不明のままであった。宿主やベクターの感染防御応答は大きく2種類の異なる性質に分類される。一つは、病原体を積極的に排除するための「レジスタンス (resistance)」, もう一方は、宿主やベクターに与えられる病原体によるダメージを制御するための「トレランス (tolerance)」である。従来の免疫学・感染症学では、レジスタンス機構の解明に重点が置かれていたが、近年、種々の動物における感染応答において、トレランス機構が存在することが示唆されている<sup>1)2)</sup>。病原体感染時の宿主やベクターにおける健康状態は、レジスタンスとトレランスの協調作用により決定されると考えられ、トレランスが不顕性感染など臨床的に症状を示さない状況に強く貢献していると予想されていた。本研究では、節足動物において、トレランスを制御する宿主因子、及びトレランス制御機構として貪食細胞の新しい機能を同定することに成功した。

### 3. p38 マップキナーゼはトレランスを制御する

自然免疫を司る Toll 様受容体がショウジョウバエから発見されたことは記憶に新しく、節足動物は我々哺乳類とよく似た分子機構により、感染防御に対する応答をしていることが明らかになった<sup>3)</sup>。近年、ショウジョウバエを感染症モデルとして用いている研究が数多く成されており、蚊やダニを用いた研究では困難であった節足動物側因子の網羅的解析等が可能となった。著者らは、トレランスを制御する因子を遺伝学的に同定するために、ショウジョウバエ・細菌感染モデルを構築した。食中毒の原因菌の一つであるサルモネラを用いた遺伝学的スクリーニングにより、サルモネラ感染による致死性を抑制する因子として、ショウジョウバエ p38 マップキナーゼ (Dmp38b) を同定した<sup>4)</sup>。Dmp38b 強制発現個体および機能欠損型変異体を用いた解析により、感染によって活性化した Dmp38b は、抗菌ペプチド発現などの免疫機構に影響を

与えず、個体内での病原体の増殖を抑制する機能を持たないことが示された。すなわち、細菌が体内に存在するにも関わらず、その病原性に対して耐性を示す状態、いわゆる「トレランス」が付与されていることが見出された (図 1 B,C)。これは、無症状であるのにマラリア原虫や日本脳炎ウイルスが節足動物体内で生存しているという、あたかもメアリー・マローンの不顕性感染とよく似た状態である。

### 4. p38 は貪食性囲い込みによりトレランスを付与する

細胞内寄生細菌であるサルモネラのショウジョウバエ貪食細胞内での挙動を観察する目的で、貪食細胞内で特異的に GFP を発現するレポータープラスミド (pMIG1) を用いた (図 1 A)<sup>5)</sup>。pMIG1 を保持したサルモネラによる感染実験の結果、p38 が活性化している貪食細胞は、その大きさを 3-4 倍にも肥大させ、細胞内に多くの増殖した菌体を含むことが明らかになった (図 2 A)。我々は、この膨張した貪食細胞が大量の菌体を細胞内に封じ込める現象を「貪食性囲い込み (phagocytic encapsulation)」と名付けた。微細ビーズを用いた貪食阻害後のサルモネラ感染実験では、肥大化した貪食細胞は観察されず、p38 誘導性トレランスは解消された。また、p38 によるトレランスを得ている個体は体液中の菌体数が少なかったことから (図 1 D)、貪食性囲い込み作用は体液中への菌体の脱出を阻害することで宿主にトレランスを付与していることが明らかとなった (図 2 B)。この現象は、宿主 (ヒトや動物など) に病原体を伝播する蚊やダニのようなベクターの実態や、その生物学的意義に迫る発見と考えられる。

### 5. おわりに

貪食性囲い込みは、体内に侵入した病原体を隔離するという極めて原始的な防御応答であることが示唆される。貪食作用は、脊椎動物では

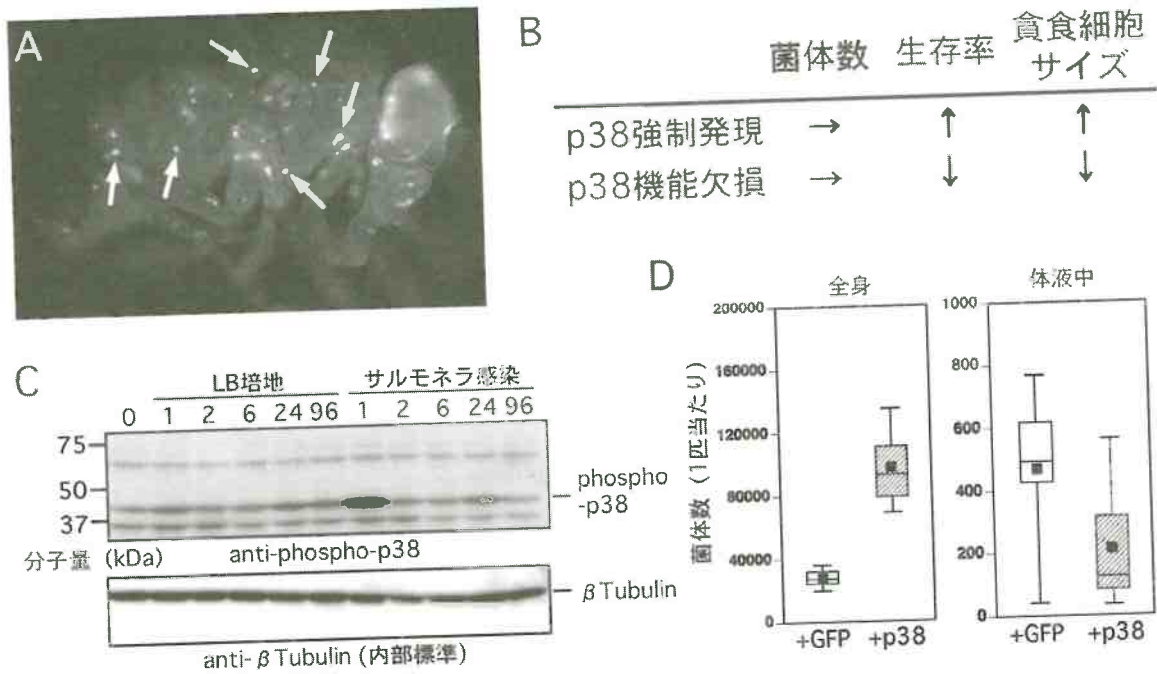


図1： p38 は昆虫にトレランスを付与する

- A：サルモネラ（緑色）はショウジョウバエ貪食細胞に侵入し増殖する。
- B：サルモネラに感染している p38 強制発現系統および機能欠損型変異が示す表現型の概略。
- C 細菌感染によるショウジョウバエ個体内で p38 がリン酸化される。
- D：p38 強制発現個体において、体液中菌体数が少なく観察される。

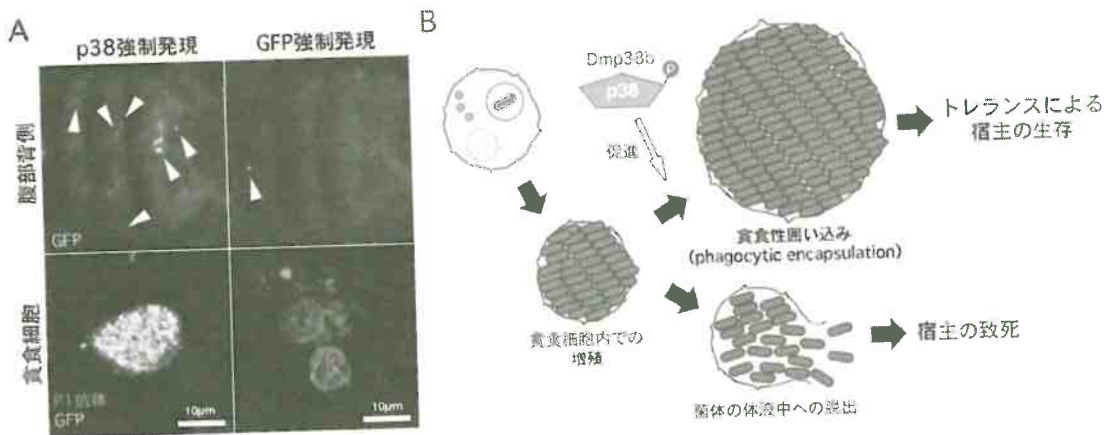


図2： p38 による貪食性囲い込みの制御

- A：肥大化した貪食細胞は増殖した菌体（緑色）を細胞内に囲い込む。p38 強制発現個体の貪食細胞は、肥大化することで、細胞内に増殖したサルモネラを大量に含む（下部左）。
- B：貪食性囲い込みによるトレランスを示したモデル図。

抗原提示のための消化やオートファジーなど様々な生命現象に関わっているが、元々の機能は単純に「他から隔離する」という現象であったと推測される。病原体を媒介する節足動物では、このトレランス機能が他の動物よりも優れていると予想されるため、逆にこのトレランス能力を人為的に減弱させることに成功すれば、病原体の伝播をコントロールすることが可能になると考えられる。すなわち、蚊、ハエ、ノミやシラミなど節足動物を媒体とした疾病に対し、ベクター自体が保有するトレランス機構を調節する方法を探索することにより、感染症の制圧を目指す基礎研究基盤につながることを期待される。

## 6. 謝辞

本研究にあたり、東京大学大学院薬学系研究科の三浦正幸教授、帯広畜産大学原虫病研究センターの新澤直明氏、青沼宏佳博士、岡戸清博士、Bryce Nelson 博士、福本晋也講師に感謝する。

## 7. 文献

- 1) Råbarg L, et al: *Science* (2007) 318: 812-814
- 2) Schneidar DS, et al: *Nat. Rev. Immunol.* (2008) 8: 889-895
- 3) Lemaitre B, et al: *Cell* (1996) 86: 973-983
- 4) Shinzawa N, et al: *Cell Host Microbe* (2009) 6: 244-252
- 5) Valdivia RH, et al: *Science* (1997) 277: 2007-2011

## ◀ 国内情報 ▶

## 濃厚飼料削減を可能にする乳牛精密飼養管理システム

独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構  
 生物系特定産業技術研究支援センター 畜産工学研究部

平田 晃・後藤 裕・小島智美

繋ぎ飼いででの省力的多頭飼養を前提とし、個体能力に応じた精密な飼養管理と効率的給餌をねらいに、搾乳ユニット自動搬送装置での測定乳量と自動給餌機が連動する乳牛飼養管理システムを開発した。導入3牧場では、導入前と比較して出荷乳量に対する濃厚飼料量が概ね20%削減された。また、ボディコンディション・スコアが3.0~3.5と適正範囲に収束し、疾病の減少（獣医師）と発情兆候の明確化（酪農家）について良好な評価が得られた。

## 1. はじめに

乳牛の高泌乳化が進む中、飼養規模拡大が行われ、我が国の酪農経営の約80%を占める繋ぎ飼いにおいても、労働過重の解消と健康に飼養管理する技術開発が求められてきた。これまでに搾乳ユニット自動搬送装置（商品名キャリロボ：平成21年12月現在、260牧場に普及）や自動給餌機が市販化され、経産牛100頭規模の省力的な多頭飼養が可能となった。キャリロボは、人手に代わって搾乳ユニットを乳牛のところへ自動搬送し、2頭同時搾乳によって搾乳作業能率を大幅に改善する。自動給餌機は、手入力であるが設定どおり1日多回数、粗飼料と数種類の濃厚飼料やサプリメントを個体（牛床）毎に給与することができる。しかし、現状では毎月1回の乳検データの利用にとどまり、日々の乳量データを利用することができないため、初産牛と2産牛以上に群分けして一律的個別給餌メニューとするか、または1群TMRをベースとして省力的に飼料給与が行われることが多い。前者では、個体乳量として毎月1回の検定乳量を用いるが、1ヶ月間の乳量低下が大きい場合に、後者では、牛群内の乳量レベルに差が大きい場合に、適切な給餌レベルから逸脱す

HIRATA Akira, GOTOH Hiroshi, KOJIMA Tomomi  
 〒331-8537 さいたま市北区日進町 1-40-2

るという技術的な限界がある。いずれも泌乳後期牛への濃厚飼料の過剰給与による飼料の無駄が生じるだけでなく、過肥症候群といわれる生産病が懸念される。

そこで生研センターでは、繋ぎ飼いででの省力的多頭飼養を前提とし、個体能力に応じた精密な飼養管理と効率的給餌をねらいに、オリオン機械（株）、北原電牧（株）、富士平工業（株）と共同（緊プロ事業H15~20）して、キャリロボでの測定乳量と自動給餌機が連動する牛体情報モニタリングシステム（ITを活用した乳牛飼養管理システム）を開発し、モニター牧場において導入効果を調査したので概要を紹介する。

## 2. 本システムの構成と機能

本システムは、乳牛間を自律的に移動するキャリロボと自動給餌機の設置を前提としており、これらの機器にデータ収集機能と別途設置する牛舎PC（飼養管理データベース）との双方向通信機能を付加するとともに、乳牛に電子耳標を装着してIT化し、電子耳標番号（牛番）によって収集データを自動的に1元管理する乳牛飼養管理システムである（図1）。

キャリロボは、搾乳ユニットを2台搭載して牛舎内に配したレール間を移動し、乳牛の間に進入してミルクタップと接続した時に牛床識別



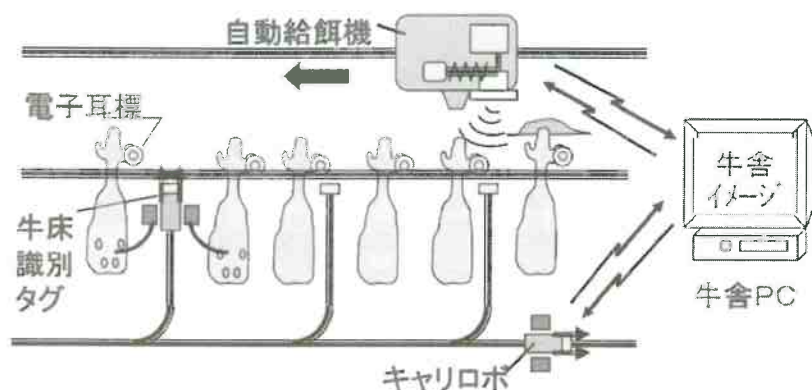


図1 牛体情報モニタリングシステムの概要

タグを読み取り、同時に牛番と搾乳の可否情報を作業者に表示する。搾乳を終了し、搾乳ユニット側で測定した乳量データをキャリロボ本体に送信すると、次の搾乳場所へと移動し、上記の作業を繰り返す。総ての搾乳とデータ収集を終えてホームポジションに帰還した時に、キャリロボのデータ収集装置から牛舎PCに牛床・牛番・乳量データ等を送信する。牛舎PCでは、各個体の平均日乳量<sup>\*</sup>)と予め設定した給餌モデルを用いて、各個体に給餌するデータ表を作成し、自動給餌機に送信する。

自動給餌機は、設定時刻に給餌を開始し、牛床を識別すると搭載アンテナによって牛体検出と乳牛電子耳標の読み取りを行い、個体別給餌データ表を参照して粗飼料と数種類の濃厚飼料を計量して給与する。同時に牛床・電子耳標番号(牛番)データを収集し、総ての給餌を終えてホームポジションに戻った時に収集データを牛舎PCに送信する。

牛舎PCでは、この牛床・牛番データに基づいて画面の牛舎イメージ上(図2上)に乳牛を自動的に並べる(画面の乳牛をドラッグして並べ替えることもできる)。この乳牛アイコン(図2右)では、牛番と最新乳量データの他、乳牛の乳期類別(赤:泌乳前期,青:泌乳中後期,黄:乾乳期)、注意分房(赤丸4つで搾乳禁止)、繁殖予定を視覚的に表示する。牛舎イメージの

ままプロパティシートをクリックし乳牛アイコンを選択すると個々に詳細な繁殖管理情報や飼料給与情報、乳量データの推移などへと展開できる(図2下)。牛舎イメージから繁殖リスト、産乳記録、給与シート等へ切り替えれば、全牛や牛群分類の飼養管理状況を把握することができる。給与シートでは、牛床・牛番・産次・分娩日・乳量・給与モデル(選択)・泌乳期等が示され、また、選択した給与モデルに従って計算された各種飼料の給与量リスト(個体別給餌表)が表示される。この時に採食状況や体調、また乳検データを参考に給与量を加減することも可能である。

<sup>\*</sup>) 収集した10日間の乳量データから最大値1個と最小値3個を除いた6日間の平均値

### 3. 給餌モデル

給餌モデルは、乳牛の産次や泌乳期や乳量レベルに応じ、各個体に自動給餌機から与える粗飼料と数種類の濃厚飼料等の個体別給餌表を作成するために、予め飼料設計を行った後、設定する。初産牛用、2産牛以上用、高泌乳牛用など、複数のモデルを設定できる。

各モデルとも、泌乳初期は分娩後から泌乳ピークまでの日数と分娩日及びピーク日の給餌量を設定し、ピーク日までは乳量に係わらず設定

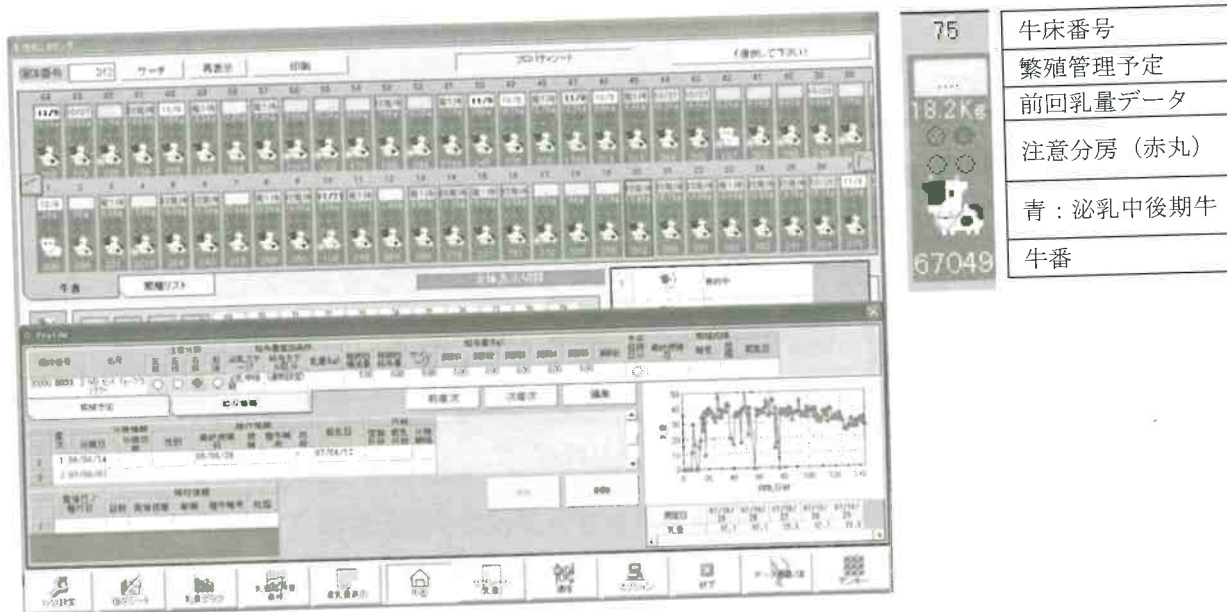


図2 牛舎イメージ表示の飼養管理データベース

量まで段階的に増給する。ピーク日以降の泌乳最盛期・泌乳中後期は、維持・増体分と乳量レベル毎に濃厚飼料等の給与量を設定する。ピーク日以降は、乳量レベル階層との乳量比例で各個体の濃厚飼料等の給与量が算定される。

#### 4. 導入効果

本システムにより乳牛の個体能力に応じて効率的給餌が行われているかを把握するために、キャリロボと自動給餌機 (MAX フィーダ) を有している繋ぎ飼い牧場3戸 (表1) の協力を得て、本システム導入前後の濃厚飼料使用量に対する出荷乳量と、経産牛全頭のBCS (ボディコンディション・スコア：太り、痩せ) の推移を調査した。なお、導入に当たっては、牛舎内の管理対象牛の基本情報として牛床、牛番 (個体番号) と電子耳標番号のヒモ付け、産次、分娩日、生年月日、繁殖データ等の登録を行う必要がある。

A牧場では、開発初期のシステムから試験導入し、運用しながら改良を進めてきた。導入前後の生乳生産の推移を乳検データより抜粋して示す (表2)。生乳100kg当たりの濃厚飼料費 (35円/kg換算) は、導入前の1,285円から次第に

低下し、H19年9月に1,102円へと約180円削減され、濃厚飼料削減効果が示され、H20年10月には1,040円となり、20%以上の削減となった。この推移を確認し、H20年7月から乳量及び給餌方法の異なる2牧場 (B, C) に追加導入したものである。導入後H20年 (8月~12月) の濃厚飼料使用量に対する出荷乳量は、導入前同時期H19年 (8月~12月) と比較し、両牧場とも概ね20%改善された。さらに、H21年ではB牧場はH19比で18%改善を維持し、C牧場ではH19比で30%改善された (表3)。

また、導入直後からのBCSの推移は、B, C牧場とも同様の傾向を示し、B牧場で見ると、導入4ヶ月後には、泌乳後期牛の過肥が抑制され、乳牛のBCSは、概ね3.0~3.5と適正範囲に収まった (図3)。この結果について、B牧場は「乳牛は毎日観察しているのでBCSの変化に気付き難い。気付いた時からエサを加減するのでは遅かったのだと思う。」 (H20年11月談) との見方を示した。獣医師は「乳房炎やその他の疾病牛も非常に少ない」、両酪農家とも「発情がはっきりしてきた。」 (H21年10月談) と評価している。

表1 本システム導入牧場の導入前の概況

牧場：地域・導入時期	経産牛・乳量	導入前の給餌方法
A：北海道・H17.11.28	60頭・7,800kg	初産・2産～群分け，分離給与，1日6回
B：北海道・H20.7.30	80頭・10,300kg	初産・2産・3産～群分け，分離給与，1日6回**)
C：長野県・H20.7.10	50頭・9,300kg	33kg用TMR給与，高泌乳牛へ配合増給，1日6回

\*\*\*) この牧場は，糞性状，体調，BCS，乳検データ等を見て給与量を加減している。

表2 本システム導入後の乳生産の推移（北海道A牧場）

調査日	経産牛(頭)	出荷乳量(t/年)	生乳100kgに要した濃厚飼料費(円)	飼料効果	乳成分(%)			
					乳脂	蛋白	SNF	
導入前	H17年2月	48	391	1,282	2.8	3.96	3.25	8.78
	6月	53	453	1,288	2.8	4.01	3.25	8.78
導入後	H18年5月	52	485	1,184	2.9	4.02	3.28	8.71
	12月	55	429	1,197	2.9	4.00	3.23	8.60
	H19年8月	58	401	1,109	3.1	3.87	3.24	8.68
	9月	58	409	1,102	3.1	3.87	3.25	8.69
H20年10月	68	512	1,040	3.3	3.80	3.45	8.88	

★濃厚飼料費(35円/kg換算)の削減効果：245円/100kg×512t/年=125万円/年

表3 本システム導入後の生乳生産における濃厚飼料の削減効果\*\*\*)(単位t)

調査牧場	北海道B牧場(H20年7月30日導入)						長野県C牧場(H20年7月10日導入)					
	H21年		H20年		H19年		H21年		H20年		H19年	
調査期間	出荷乳量	濃厚飼料量	出荷乳量	濃厚飼料量	出荷乳量	濃厚飼料量	出荷乳量	濃厚飼料量	出荷乳量	濃厚飼料量	出荷乳量	濃厚飼料量
8～12月計	358.1	103.0	317.7	90.2	309.7	105.3	203.0	91.0	191.5	91.7	176.9	103.5
乳量/濃厚			3.52		2.94				2.09		1.71	
H19比	約18%向上		約20%向上		—		約30%向上		約22%向上		—	

\*\*\*) 出荷伝票，納品伝票より作成。

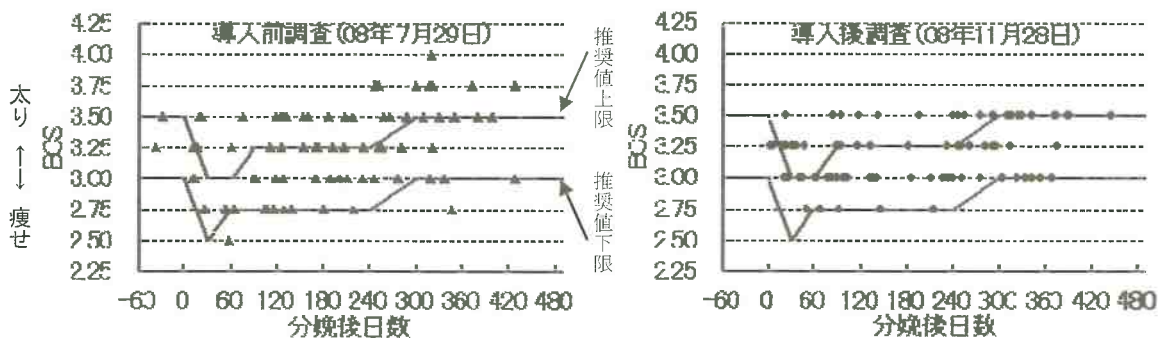


図3 本システム導入4ヶ月後の乳牛全頭のBCSの推移（北海道B牧場の事例）

## 5. おわりに

本システムによって、乳牛が必要とする飼料を個体毎に調製して与えると、飼料の無駄が省かれ、乳牛の健康にも良いということを実例として示すことができた。ただし、本システムは、良質な粗飼料の準備や酪農家による日々の観察、乳検データ等の活用によって一層の効果を示すものと考えている。なお、本システムは、新農機（株）の実用化促進事業を経て、21年7月より緊プロ参画メーカーによって市販化され、普及が始まっている。

## 参考文献

1. 平田晃ら (2008), I Tを活用した乳牛飼養管理システム, 平成 19 年度生研センター研究報告会資料,89-98
2. 平田晃・後藤裕・小島智美(2010), 先進的飼養管理技術の導入効果, 生研センター農業機械化研究所平成 21 年度事業報告

## ◀地域先端研究▶

## 超音波を利用した果樹のヤガ類被害防止技術の開発

<sup>1</sup>徳島県立農林水産総合技術支援センター果樹研究所<sup>2</sup>現在：徳島県農林水産部ブランド戦略総局とくしまブランド戦略課中西友章<sup>1</sup>・小池 明<sup>2</sup>

果実を吸汁加害するヤガ類（果実吸蛾類）は中山間地域における果樹の重要害虫であるが薬剤防除が困難であり、既存の防ガ灯や防虫網も欠点をかかえている。この研究では、ヤガ類がコウモリの発する超音波を感知し逃避行動をとるという習性を利用し、忌避に効果の高い超音波の周波数、パルスパターンを解明し、高出力超音波発振装置を開発することにより、圃場で利用可能なまったく新しいヤガ被害防止技術を開発した。

## 1. はじめに

ヤガ類（果実吸蛾類）とは、果樹園に飛来して果実を吸汁加害するヤガ科のアケビコノハ、アカエグリバ、ヒメエグリバ等の総称である。幼虫は果樹園周辺の雑木林内のアケビなどのつる性植物を食草として成長し、成虫になると収穫直前の果樹園に夜間飛来する。昼間果樹園に生息しないため直接農薬散布することができないだけでなく、収穫直前に飛来するため、残留基準の問題もあって適用農薬も無い難防除害虫のひとつである。現在、ヤガ類の被害防止には防虫ネットや防ガ灯が用いられている。しかし、防虫ネットは被覆労力に問題があり、防ガ灯は小規模園地では効果が安定せず、周辺環境や住民へ光の影響も指摘されるなど、いずれも欠点を抱えている。一方、害虫防除には天敵を利用する方法があり、いくつかの害虫で効果を上げている。コウモリはヤガ類を直接捕食する天敵であり、エコーロケーションサウンドと呼ばれる超音波のパルスを用いてガをはじめとした夜行性の昆虫を探索、捕食しており、その捕食圧は従来の予想を大きく上回ることが明らかになっている。これに対し、ヤガ類も超音波を感知する器官（鼓膜）を有し、コウモリの発する超音

NAKANISHI Tomoaki<sup>1</sup>, KOIKE Akira<sup>2</sup><sup>1</sup>〒771-4301 徳島県勝浦郡勝浦町沼江字中筋<sup>2</sup>〒770-8570 徳島市万代町1丁目1番地

波を感知すると、急旋回、急降下などの回避行動を示すことが知られている。本研究はこの習性を利用した全く新しい方法によるヤガ類被害の防止技術実用化の試みである。

なお、この研究は「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業委託事業」の委託を受けて平成18年度から20年度までの3年間、山口大学、（独）農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター（以下、生研センター）、ヤンマー農機株式会社と共同で実施した。

## 2. コウモリの発する超音波とヤガの反応

コウモリ類は世界に約950種、日本には30数種類が生息している。種類によって利用する周波数やパルスパターンが異なり、10kHzから100kHz以上の広い帯域にわたっている。ヤガ類の超音波感知能力はコウモリによる捕食圧によって進化してきたと考えられることから、天敵であるコウモリ種の超音波に特異的に反応すると推測される。そこで、主にヤガ類を含む中～大型のガを捕食していると思われるコウモリの超音波を収集して、周波数、パルスパターンなどを解析した。ヤガ類を捕食していると思われる代表的な大型種のコウモリであるオヒキコウモリのエコーロケーションサウンドのソノグラ

ム（声紋）をみると、10kHzに基音の太い帯があり、20kHz～100kHzにわたって10kHzごとに小さな帯状の倍音成分がみられる（松村、未発表）。この他に国内でヤガを捕食している可能性の高い中型・大型種にはキクガシラコウモリ、ヒナコウモリがあり、それぞれ異なる周波数、パルスパターンを用いている。

このような広い周波数帯域にわたる超音波を発生する装置を開発することは困難である。超音波発振装置開発の負担を軽減するため、これらの周波数の中からヤガ類忌避に効果の高い周波数をおよびパルスパターンを特定する必要がある。超音波の周波数に対するヤガの反応閾値を室内でガを固定して測定すると、アケビコノハ、アカエグリバでは約40kHzであった。小型のヤガであるヒメエグリバではより高い周波数の60kHz～80kHzに敏感に反応する部分があるが、40kHzにも敏感に反応することがわかった。ちなみに、閾値とはヤガが反応を示す刺激の最小値であり、この値の小さい部分が最も敏感に

反応する周波数である。このことから、ヤガ忌避のための周波数については40kHzを用いることが適当であると考えられる。

パルスパターンはパルスの持続時間（長さ）と頻度によって決まる。コウモリの用いるパルスパターンは獲物を探索しているときには持続時間の長いパルスを少ない頻度で使用し、獲物を発見して攻撃するときには、持続時間の短いパルスを高い頻度で用いて獲物の位置や速度を正確に計測している。パルス持続時間とヤガの反応をみると、20msecに敏感に反応するとともに、150msecあたりにも反応する領域があることが明かとなった（図1）。また、同じ刺激を連続して与えると反応閾値が大きくなったり反応を示さなくなることがある。いわゆる慣れの発生である（渡辺ら、2008）。超音波刺激についても連続音を繰り返し与えると慣れが発生するが、反応閾値の低いパルスの組み合わせを用いると慣れの発生がほとんど見られないことが確認された。

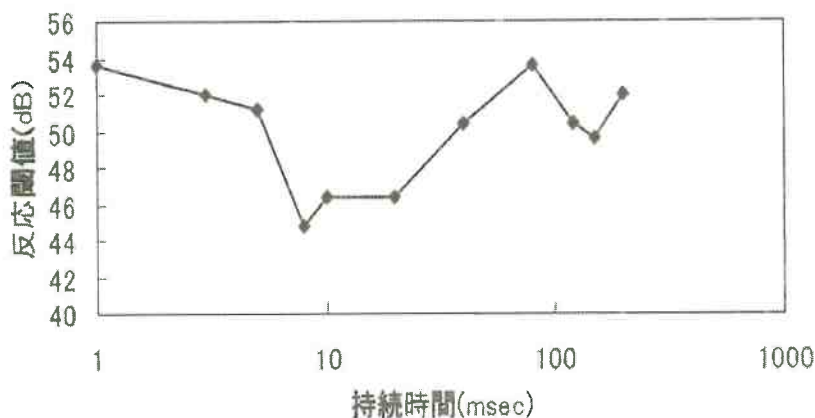


図1 パルスの持続時間とヒメエグリバの反応閾値（渡辺、未発表）  
（周波数40kHz、頻度2Hz、dB表示は相対値であり絶対値ではない）

### 3. 超音波発振装置の開発

超音波は色々な分野で利用されている。身近な例では超音波洗浄機や超音波加湿器があり、超音波診断装置や魚群探知機、超音波加工機などが医療や産業の現場で利用されている。しか

し、これらの装置は液体や固体を媒体として超音波を利用するものである。空気中における超音波の利用は超音波センサーやリモコンなどに限られる。この研究では、果樹園のような広いオープンスペースを超音波でカバーすることが可能な装置の開発が目標である。空気中で超音

波を発振可能な素子としては、オーディオ用スピーカー、セラミック振動子などがあり、ヤガ類に対して効果の高い40kHzの超音波を発振することが可能である。しかし、いずれも出力や耐久性の面で十分な性能が得られなかった。その他にも多くの素子を検討した結果、現在はランジュバン型発振素子および磁歪フェライト素子を用いている。これらは超音波洗浄機や魚群探知機などに用いられている素子であり、空気中での発振は保障されていないが、空気中においても他の素子に比べて大きな音量が得られることが確認された。また、耐久性も高く、耐水性や耐候性にも優れている。超音波信号の発生にはPICマイコンを用い、パワートランスパルス出力アンプで増幅し、発振素子を駆動する装置を開発している。

#### 4. 超音波によるヤガ類忌避効果

徳島県立農林水産総合技術支援センター果樹研究所(県北分場)は東西に伸びる比較的標高の低い山脈の山麓に位置している。周辺はカキ、モモの散在園地と落葉広葉樹の二次林が広がっており、ヤガ類の発生に好適な環境条件である。徳島県内ではアケビコノハ、アカエグリバ、ヒメエグリバは年3回発生し、第2化が発生する7月中旬から8月に成熟するスモモ、モモ、ナシなどが大きな被害を受ける。とくにモモは被害が大きく、8月上旬に成熟する品種では何らかの対策を講じないとほぼ全滅する。このような条件下で、モモ園における超音波のヤガ類忌避に対する効果を検討した。

圃場試験は所内のモモ園に約200㎡の超音波試験園区を設定し、相互に影響が無いように十分な距離をとって対照区を設けて比較した。供試する果実は別途購入したものを使用した。これは、1シーズンに何度も試験を行う必要のためである。超音波発振装置の設置は1台のアン

プに4基の発振素子を接続して順次切り替えて発振するように設定し、1グループとした。これを4グループ設置し、合計16基の発振素子を取り付けた。

ヤガ類の飛来数は8月10日前後にピークとなり、対照区ではアケビコノハ、アカエグリバ、ヒメエグリバの合計で約100頭の飛来がみられた。その後は減少傾向となり、9月17日には10頭となった。超音波試験園への飛来数は3種ヤガ類ともに対照区に比べて大幅に減少し、超音波の効果が確認された(図2)。発振素子からの出力音圧とモモ果実の被害痕数の関係では、音圧が大きいほど被害痕数は少なくなる。園の周囲から2mの位置における平均音圧が90dBのときの被害痕数は対照区の5分の1であるのに対し、平均音圧105dBでは対照区の25分の1まで減少した(図3)。このことから、3種ヤガ類の忌避には周波数やパルスパターンだけでなく、超音波の音圧も重要な要素であることが明らかとなった。防ガ灯の設置基準では、園全体を1lux以上の照度でカバーする必要があるとされている(内田ら, 1978)。超音波の場合も必要な最低音圧の基準が必要になるが、従来の

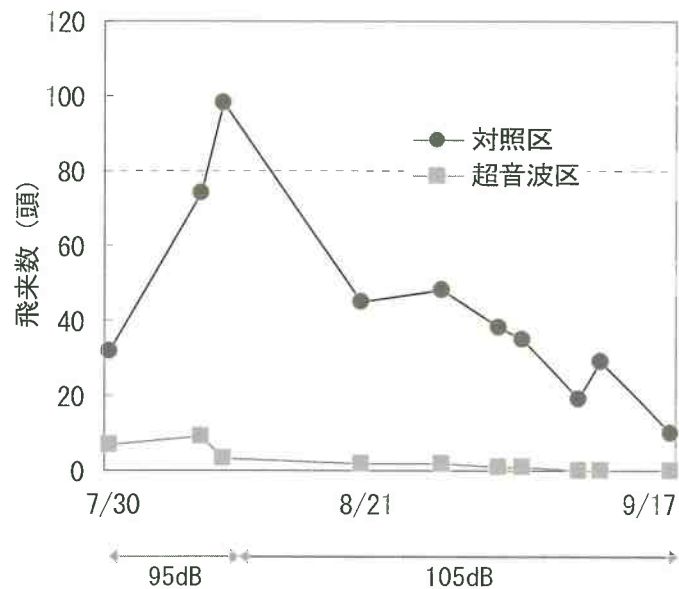


図2 ヤガ飛来数に及ぼす超音波の効果  
(飛来数はヤガの全種類合計、  
8/8までは音圧95dB、以後105dB)

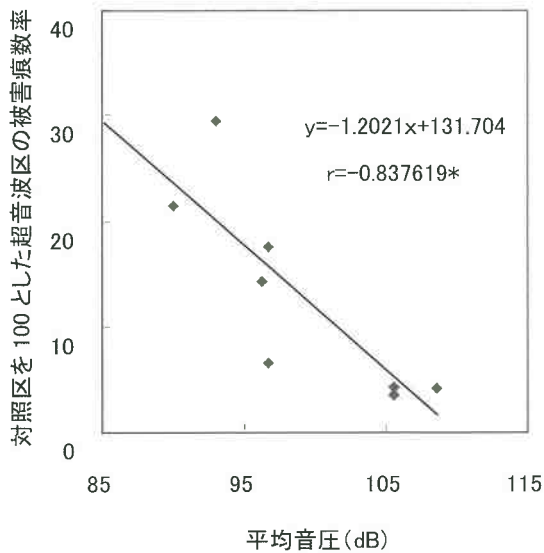


図3 超音波音圧と被害痕数  
(平均音圧は相対値であり絶対値ではない)

予想を超える大きな音圧が必要である。なお、ここで示した音圧は相対的な値であり、絶対音圧ではない。超音波発信機の音圧の基準は今後正確な音圧校正を行った後に決定する計画である。また、超音波は人間にはまったく聞こえない音域であることから、簡易な超音波測定器も必要と考えられる。

被害果率については、対照区の被害果率が100%のとき(全滅するほどの被害)には超音波試験園区でも20~25%程度の被害を受けたが、対照区の被害果率が90%以下のときには5%以下の被害果率にとどまった。1果当たりの被害痕数は、対照区では被害果率が100%のときに1果当たり平均約10カ所近い被害が見られたのに対し、超音波試験園区では無被害果が約80%、1果当たり2カ所以上の被害をうけた果実はほとんどみられず、実用的なレベルまで被害果率が減少した。さらに、より規模の大きい約800㎡のモモ園(24樹)を用いて超音波発振素子を園の周囲に等間隔で24基設置して効果を検討したところ、200㎡(6樹)における試験と同等の結果が得られた。

防ガ灯と効果を比較するため、同じ圃場(200㎡)に270wの防ガ灯を4角に設置し、外周にお

ける平均照度29ルクス、最低17ルクスの条件下で被害果率を調査したところ超音波の効果がやや優れるという結果が得られている(図4)。

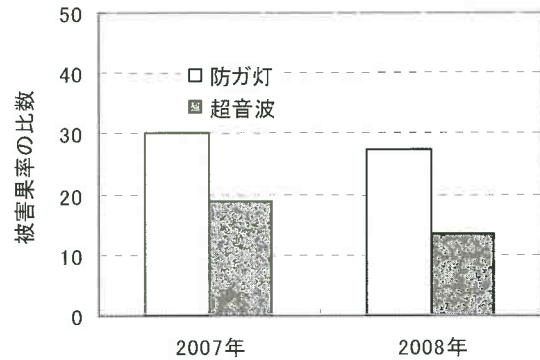


図4 防ガ灯と超音波の被害果率の比較  
(無処理区の被害果率を100とした比数)

### 5. 今後の課題

以上のように、超音波によるヤガ類被害防止効果は高く、超音波の周波数、パルスパターン、必要な音圧などはほぼ解明されている。しかし、装置の製品化にはいくつかの課題が残されている。とくに、コスト面では現在のところ防ガ灯に比べてかなり割高になると試算している。防ガ灯の光源は基本的に蛍光灯やランプであり、屋外用の照明器具に多少の改造を加えることで製造できるためコスト的には大変有利である。これに対して超音波発振装置は今までにない新しい製品のため、コスト高とならざるを得ない。しかし、広く普及して大量生産が可能となれば大幅なコストダウンが可能であると予想される。

### 6. おわりに

コスト面などいくつかの課題を解決する必要があるが、この技術が実用化されることにより中山間地域の果樹産地におけるヤガ被害軽減に貢献するものと考えられる。また、ヤガ類防除



以外にも他の害虫被害防止などへの応用も期待できる。現在、徳島県立農林水産総合技術支援センター果樹研究所では生研センターおよび民間企業と市販化を目標に共同研究を進めている。

## 7. 引用文献

- 1) 松村澄子(2007), 私信
- 2) 渡辺雅夫(2007), 私信
- 3) 渡辺雅夫ら(2008), 日本動物学会中国四国支部会報, 60, 6
- 4) 内田正人ら(1978), 鳥取果試研報, 8, 1-29

## ◀ 文献情報 ▶

## 異種異所移植した精巢由来精子によるはじめての生存子豚の生産

Production of viable piglets for the first time using sperm derived from ectopic testicular xenografts.

M. Nakai<sup>1</sup>, H. Kaneko<sup>1</sup>, T. Somfai<sup>1</sup>, N. Maedomari<sup>1,2</sup>, M. Ozawa<sup>1</sup>, J. Noguchi<sup>1</sup>, J. Ito<sup>2</sup>, N. Kashiwazaki<sup>2</sup> and K. Kikuchi<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Division of Animal Sciences, National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba, Ibaraki 305-8602, Japan. <sup>2</sup>Laboratory of Animal Reproduction, School of Veterinary Medicine, Azabu University, Sagami-hara, Kanagawa 229-8501, Japan.

*Reproduction*, 139, 331–335 (2010)

免疫不全マウスへの精巢組織の異種異所移植は、哺乳動物の生殖巣に存在する未熟な生殖細胞の発育を促進させる有効な手段として知られている。ブタを含む大動物においても、実験動物と同様、異種異所移植による精子形成や異種異所移植由来精子の顕微授精による胚盤胞期への発生については、すでに報告されている。また、いくつかの実験動物においては、精巢組織の異種あるいは同種移植により発育させた精子による生存産子の生産についての報告がなされているが、大動物においては、これまで生存産子を得たという報告はない。そこで、異種異所移植により得た精子を顕微授精した卵子の生体内での発生能力について検討が行われた。新生子ブタ由来の精祖細胞が存在する精細管を含む精巢組織が、去勢した免疫不全マウスの背部皮下に異種異所移植された。異種異所移植後 133 日あるいは 280 日目に精子が回収され、形態的に正常な精子がブタ体外成熟卵子に顕微授精された。顕微授精後に電気刺激により活性化処理

された受精卵が、受精卵のみあるいは単為発生卵とともに、発情同期化処置を行った 23 頭の受胎ブタ卵管内に移植された。移植から 113 日と 116 日目に、このうちの 2 頭から合計 6 頭の生存子ブタが得られた。得られたブタ産子はその後正常に発育し、うち 1 頭においては、228 日齢で運動性のある精子が射精により得られた。以上の結果から、著者らは、異種異所移植由来精子の顕微授精による受精卵は、大家畜においても生存産子へ発育する能力を持つことをはじめて明らかにしたと報告している。

絶滅危惧種においては、雄の死亡はダイレクトに遺伝的多様性の損失につながる。もし、精巢組織の異種異所移植による精子形成が可能となれば、例えば、未成熟個体が死んだ場合においても精子を得ること可能となることから、雄側の遺伝資源保存の観点からも重要なツールとして利用できる可能性がある。現時点では、運動性の高い精子を異種異所移植により得ることはできないため、顕微授精により受精卵を作出する必要があり、多くの動物種に応用するためには異種異所移植による精子形成技術のみではなく、その動物種にあった顕微授精技術・体外培養技術等の周辺技術も確立しておく必要がある。しかしながら、大動物においても生存産子への発育が確認できたことから、遺伝資源保存の有効なツールとして、今後広く利用されることが期待される。今回は、ブタでの成果であったが、今後、ウシや他の大動物においても同様な成果が得られ、多くの動物種に応用可能な技術が開発されることを期待したい。

(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 ▶

## シロイヌナズナにおいてヒストンH2A.Zを含むヌクレオソームが温度感受に関係する

H2A.Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis*.

S. Vinod and Philip A. Wigge.

Jonhn Innes Centre, Norwich, UK

*Cell*, 140, 136-147 (2010)

植物は外界温度の1°Cの変化をも感受するほど、温度に対して高い感受性を持っている。しかし、植物がどのようにして温度を感受し、その変化に応じた発達を成し遂げるかについては、明らかとなっていない。本論文において著者らは、マイクロアレイ解析によって、幼植物体において周囲の温度変化(12°C→27°C)に応じて発現変動のある遺伝子 5,334 個(上昇;2,454, 下降;2,880)を同定した。さらに、これらのうち、ヒートショックタンパク質をコードする *HSP70* 遺伝子が、外気温の変動に対して特に敏感な発現変動を示すことを見いだした。次に、この *HSP70* プロモーター制御下にルシフェラーゼ (*LUC*) 遺伝子をつないで植物体に形質転換し、作出した形質転換体に突然変異処理を行った。*LUC* の発光を指標にして、*HSP70* プロモーターが活性化する突然変異体を 2 つ(*entr1*, *entr2*)を単離し、遺伝学的な解析から 2 つの突然変異体は、同一遺伝子の変異を原因とすることを明らかにした。この原因遺伝子は以前、花成時期を制御する遺伝子として報告のあった *ARP6* 遺伝子であったことから、*entr1* を *arp6-10*, *entr2* を *arp6-11* と名付けた。次に、*arp6-10* 突然変異体が外気温の変化に対してどのような反応を示すかを明らかにするため、マイクロアレイ解析をおこなった。12°C で育成した *arp6-10* 変異体の幼植物では、前述した 5,334 の温度変化応答遺伝子のうち、大部分の遺伝子が野生型植物の外気温を 12°C から 27°C にしたときと同じような変動を示した。このことから、*ARP6* は温度応答に関して重要な役割を担っていることを明らかにした。

*ARP6* はクロマチン再構築に関与する *SWR1* のサブユニットの一つをコードしていた。*SWR1* はヌクレオソーム中のヒストンH2Aをヒストンバリエント H2A.Z と入れ替える機能を担っているとされている。一般的に H2A.Z を含むヌクレオソームは、転写開始点近傍にとりつき、遺伝子発現を負に制御する。シロイヌナズナでは、いくつかの H2A.Z が存在するがそれらのうち、*hta9*, *hta11* 二重変異体は *arp6* 変異体と同じ表現型を示したことから、*arp6* 変異体における温度応答の異常は、ヒストンH2A.Zを含むヌクレオソームが温度応答で、重要な役割を持つことが考えられた。

次に、クロマチン免疫沈降解析を行い、H2A.Z, H2A が *HSP70* プロモーター上のどの位置に、どの程度存在しているかを調べたところ、*arp6-10* 変異体では *HSP70* プロモーターの転写開始点近傍領域において H2A.Z の占有率が減少していることを見いだした。また、野生型植物では外部温度の上昇に応じて H2A.Z の占有率が減少した。興味深いことに、この結果は温度変化による遺伝子発現の増減にかかわらず、調査した全ての遺伝子のプロモーター領域に見られた。つまり、温度上昇で負の転写制御を受ける遺伝子においても、H2A.Z の占有率が減少していることになる。この問題に対して著者らは、温度応答反応における転写抑制因子の存在を示唆している。

以上の結果から、低温時には H2A.Z を含むヌクレオソームの占有率が上昇し、RNA ポリメラーゼ II の結合を阻害するか、プロモーター領域のシスエレメントに転写因子が結合できないようにしているとのモデルを提唱している。逆に低温でも発現している遺伝子では、H2A.Z ヌクレオソームの占有率の上昇が転写抑制因子の結合抑制、もしくは DNA メチル化抑制などを引き起こし転写が起きているのではないかと推察している。

(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 ▶

転写因子間の遺伝的相互作用  
により生み出される酵母の多  
様性

Genetic Interactions Between Transcription  
Factors Cause Natural Variation in Yeast  
Justin Gerke, Kim Lorenz, Barak Cohen  
Department of Genetics, Washington University  
School of Medicine, USA  
*Science*, 323, 498-501 (2009)

自然界において観察される表現型の多様性についての分子基盤を理解することは、現代遺伝学における大きな課題である。特に、自然突然変異同士の相互作用や、その結果生じる表現型の多様性の遺伝的メカニズムについては、ほとんど明らかにされていない。著者らは出芽酵母の「孢子形成」という表現型に着目し、その株間の差異を決定づける量的形質遺伝子座 (quantitative trait locus; QTL) を同定し、QTL間の遺伝的相互作用を解析した。

まず、孢子形成率が高いペンシルバニア州のオーク樹由来株と、孢子形成率が低いカリフォルニア州のワイン酵母株を親株として用いた解析により、孢子形成率の差異を説明するのに十分な3つのQTLが同定された。それぞれのQTL領域に含まれる遺伝子の中で、これまでの知見から孢子形成の制御に関連していることが予想される遺伝子に着目して、相互半接合体解析とアレル交換実験を行った結果、3つの転写因子をコードする遺伝子における4つの多型 (開始コドン上流の変異である *RME1(del-308A)* 及び *IME1(A-548G)*, コード領域内の非同義塩基置換である *IME1(L325M)* 及び *RSF1(D181G)*) が孢子形成の表現型に特に重要であることが見出された。具体的には、孢子形成率が3.5%のワイン株にオーク株の4つのアレルをすべて導入すると78%にまで増加するのに対し、孢子形成率が99%のオーク株にワイン株の4つのアレルをすべて導入すると14.9%にまで減少した。

次に、これらの多型間の相互作用を調べるために、オーク株とワイン株間の4つの多型のあらゆる組み合わせを生じるようにオーク株バックグラウンドで株を作成し、ワイン株アレルの組み合わせによる孢子形成率の減少を比較した。その結果、組み合わせ可能な2種、3種、4種のアレルのすべての相互作用が、統計的に有意な孢子形成率の減少効果を及ぼすことが明らかになった。例えば、*RSF1* のワイン株アレルは単独では3%未満しか孢子形成率を減少させないが、別のワイン株アレルとの2種の組み合わせによって、相互作用がない場合の理論値より11~16%孢子形成率が減少することが統計的解析により示された。このように、個々のワイン株アレルは相加的ではなくむしろ相乗的な効果により孢子形成率を減少させることが明らかになり、一般的に、複数の自然突然変異の組み合わせにより、それぞれの変異から予想される効果より大きな表現型の変化を生み出す可能性が示唆された。

また、QTL解析に用いた以外の複数のオーク株、ワイン株における孢子形成率減少アレル(ワイン株アレル)の分布を調べたところ、オーク株についてはいずれのアレルも認められず、森林環境では、孢子形成率の高い株が選択されてきたと推測される。*RSF1* 遺伝子のコード領域全長にも着目してみると、ほとんどのオーク株では全く多型が検出されなかったのに対し、ほぼすべてのワイン株において複数の塩基置換が観察された。ただし、これらの置換については、同義置換よりも非同義置換の頻度が高く、単にワイン株の生育環境はオーク樹と比べて選択圧が低いからという理由だけでは説明できないと著者らは主張している。つまり、ワイン株アレルにとって好ましい何らかの選択圧が生育環境中に存在したため、ワイン株はそのようなアレルを有するように進化したのではないかと推測される。以上のように、特定の環境の中で独自に好ましい遺伝的変化を遂げることが進化の原動力であると考えられ、自然突然変異同士の相互作用は、そのような遺伝的変化に基づく表現

型の多様性形成を加速する上で大きく貢献していると考えられる。 (抄訳：渡辺大輔, WATANABE Daisuke, 独立行政法人 酒類総合研究所)

## ◀ 文献情報 ▶

チーズ中のコク味作用を有する  
グルタミルペプチド及び  
*Penicillium roquefortii* による生  
成について

Kokumi-Active Glutamyl Peptides in Cheeses and  
Their Biogenesis by *Penicillium roquefortii*  
Simone Toelstede† and Thomas Hofmann†<sup>§, #</sup>

† Institut für Lebensmittelchemie, Universität  
Münster, Corrensstrasse 45, D-48149 Münster,  
Germany, § Chair of Food Chemistry and  
Molecular Sensory Science, # Z I E L Research  
Center for Nutrition and Food Sciences,  
Bioanalytics Unit, Technische Universität  
München, Alte Akademie 10, D-85350  
Freising-Weihenstephan, Germany  
*J. Agric. Food Chem.*, 57 (9), pp 3738–3748,  
(2009)

熟成したチーズは、後味の豊かさ、味の複雑さや持続性があることから、消費者に好まれている。このような味覚特性はコク味と呼ばれ、著者らのこれまでの研究で 44 週間熟成したゴータチーズはコク味を有することが確認されている。また、同研究で  $\gamma$ -Glu-Glu,  $\gamma$ -Glu-Gly,  $\gamma$ -Glu-Gln のような  $\gamma$ -L-グルタミルジペプチドがコク味を増強していることが明らかにした。

本論文ではグルタミルジペプチド生成に関与する要因を調べるため、熟成していない (4 週) チーズと熟成した (44 週) チーズ内部における  $\gamma$ -グルタミルジペプチドの分布や、*P. roquefortii* のグルタミルジペプチド生成能を支配する要因を調べている。

まず、熟成期間 (4 週, 44 週) の異なる丸チーズから 6 か所サンプリングし、 $\gamma$ -グルタミルジペプチドの量を調べた。4 週熟成チーズは約 0.2  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  であったが、44 週熟成チーズでは約 14  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  と増加しており、 $\gamma$ -Glu-Met が最も多く生成されていた。また、4 週熟成チーズでは部位によらず均等に分布していたが、44 週熟成チーズでは表面に近い部分で特に濃度が

高かった。チーズの外側は、内部に比べ熟成中に水分が減少することが知られている。この条件は  $\gamma$ -グルタミルジペプチドを生成する  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) のペプチド転移反応に好条件であったと考えられる。

次に、様々なチーズに含まれるグルタミルジペプチド濃度を調べた。ゴータチーズでは生の (殺菌していない) 牛乳で作製したサンプルのみ GGT 活性が認められた。しかし、ブルーチーズは殺菌した牛乳で作製したにもかかわらず、GGT 活性が認められた。このことから、生の牛乳から作られるチーズは原料由来、殺菌した牛乳から作られるチーズはスターターや熟成中の菌に由来するものと推察された。

そこで、ブルーチーズから得られた *P. roquefortii* を用いて  $\gamma$ -グルタミルジペプチドの生成能を調べた。L-グルタミン, L-グルタミン酸, L-ヒスチジンなどのアミノ酸を添加し培養したところ、アミノ酸添加のみ  $\gamma$ -グルタミルジペプチドの生成が認められた。また、アミノ酸濃度が 5.0 mmol/l, 菌株は *P. roquefortii* 1812 を用いたとき、 $\gamma$ -Glu-Met が最も多く生成されることが明らかになった。最後に *P. roquefortii* を [<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]-L-メチオニンと L-グルタミン存在下で培養したところ [<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]- $\gamma$ -Glu-Met が生成され、外因のアミノ酸を利用して  $\gamma$ -Glu-Met を生成していることを確認した。

食品の味に関連する成分の中で、コク、複雑さ、まろやかさなど五味以外の味質に寄与する成分はまだあまり調べられていない。著者らの一連の研究で、チーズのコク味発現に寄与する成分が  $\gamma$ -Glu-Met のようなジペプチドであることや、*P. roquefortii* によって生成されることを明らかにした。これらの研究から、 $\gamma$ -グルタミルジペプチドの工業的製造、チーズの味を向上させる技術的な製造に応用できる可能性がある。また、このような研究が進むことで、チーズだけでなく他の食品の風味向上へのアプローチや、新たな風味を生み出す食品添加剤の開発などが期待される。

(抄訳：中路綾希子, NAKAJI Akiko, 日本水産株式会社 中央研究所)

## 編集後記

138号をお届けします。本号の総説では西村いくこ氏（京都大学）らに植物の決死の技：膜融合を介した新しい植物免疫機構についてご紹介戴きました。

その他の研究情報としては、飯牟礼隆氏（サッポロビール（株））らにビールの泡持ちに関連するオオムギ育種用DNAマーカーの開発、内田基晴氏（水産総合研究センター）らに海水へのブドウ糖添加とアサリの成長促進効果、新澤直明氏（帯広畜産大学）らに昆虫における病原体トランス機構の発見、平田晃氏（生研センター）らに濃厚飼料削減を可能にする乳牛精密飼養管理システム、中西友章氏（徳島県立農林水産総合技術支援センター）らに超音波を利用した果樹のヤガ類被害防止技術の開発について、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）、渡辺大輔氏（酒類総合研究所）、中路綾希子氏（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）

## 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138号

平成22年3月15日発行

発行人 曾根 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

◎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 虎ノ門マリビル10階

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

e-mail brainki1@ml.affrc.go.jp URL <http://brain.naro.affrc.go.jp/tokyo/>