

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

平成23年9月15日(隔月1回15日発行)
ISSN 1345-5958

TECHNO NEWS

No.147

15 SEPTEMBER, 2011

ブレインテクノニュース

特集 「昆虫の能力を生かした新素材や新技術の開発研究」



健全虫



病死虫

ハスモンヨトウの *Nomuraea rileyi* による感染

昆虫病原糸状菌 *Nomuraea rileyi* の発芽促進物質の開発

¹ 熊本県農業研究センター農産園芸研究所

² 東海大学農学部バイオサイエンス学科

野田孝博¹・小野政輝²・飯牟禮和彦¹・荒木朋洋²

目 次

特 集

「昆虫の能力を生かした新素材や新技術の開発研究」

- (総説) 昆虫の利用とその能力を生かした新素材や新技術の開発 1
木内 信 ((独) 農業生物資源研究所 昆虫科学研究領域)
- 昆虫由来の抗微生物活性物質の利用 6
石橋 純 ((独) 農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究センター 昆虫機能研究開発ユニット)
- シロアリの女王フェロモンの正体 12
松浦 健二 (岡山大学大学院環境学研究科)
- ヤママユ由来のペントペプチド誘導体による細胞増殖抑制機能と応用開発 18
鈴木 幸一 (岩手大学農学部)
- 昆虫嗅覚受容体を利用した匂いセンサの構築 23
櫻井健志・光野秀文・神崎亮平 (東京大学先端科学技術研究センター 生命知能システム分野)
- 昆虫病原糸状菌 *Nomuraea rileyi* の発芽促進物質の開発 30
野田孝博¹・小野政輝²・飯牟禮和彦¹・荒木朋洋² (1熊本県農業研究センター 農産園芸研究所, ²東海大学農学部バイオサイエンス学科)

国内情報

- 皮むきと太さ判別が同時に行える長ネギ調製機 35
藤岡 修・貝沼秀夫・紺屋朋子 ((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)

文献情報

- 乳牛及び肉用牛への性選別精液を用いた定時人工授精における人工授精のタイミングと受胎率について 39
J.N.S. Sales et al. (*Theriogenology*, 76, 427-435, 2011) 抄訳: 下司雅也
- 植物の免疫受容体の安定度はSKP1-CULLIN1-F-box (SCF)を介したタンパク質分解系により制御を受ける 40
Y.T. Cheng et al. (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 14694-14699, 2011)
抄訳: 高田美信
- ヒト腸管微生物叢のエントロタイプ 42
Manimozhiyan Arumugam et al. (*Nature*, 473, 174-180, 2011) 抄訳: 加藤慎二

生研センターからのご案内

- 「アグリビジネス創出フェア2011」開催のお知らせ 43

表紙の説明

昆虫病原糸状菌 *Nomuraea rileyi* は昆虫に対し殺虫活性を有する天敵微生物であり、防除資材として安全や環境面で期待される反面、実用場面では感染に長時間を要することが一因で殺虫効果が不安定になりやすいという欠点がある。このため、筆者らは、本菌の寄主昆虫の一種であるカイコから、分生子の発芽速度を大幅に高めることができる発芽促進物質の単離に成功し、この物質を応用して感染の安定化に寄与する技術開発をおこなった。表紙写真は農業害虫であるハスモンヨトウに対する本菌の感染を示す。

詳細については30頁をご覧ください。

◀ 特集 総説 ▶

昆虫の利用とその能力を生かした 新素材や新技術の開発

独立行政法人 農業生物資源研究所 昆虫科学研究領域

木内 信

昆虫は、海洋を除くあらゆる環境に生息し、動物の中では最も繁栄しているグループであるが、その積極的な利用は養蚕や養蜂などごく一部に限られてきた。しかし、近年、昆虫が持つ多様な特異能力を解明し、積極的に利用する試みが進んでいる。特に、遺伝子機能の解明と遺伝子組換え技術を利用した、新たな利用の試みが広がりつつある。本稿では、昆虫利用研究の現状と今後の可能性について紹介する。

1. はじめに

昆虫の種類は、名前がついているものだけでも約 100 万種といわれ、熱帯雨林での調査からは、3 千万種という推定もされている。昆虫はこのように地球上で繁栄している。我々の身近にも多くの昆虫がいるが、人との関わりで見ると、農作物を食害したり病気を媒介したりする害虫として扱われる場合が圧倒的に多い。その一方、積極的に利用される昆虫は、昆虫の種類全体から見ると極めて少ない。代表的な有用昆虫としては、絹を作るカイコと蜂蜜を採るミツバチがあり、産業規模としても比較的大きい。それ以外にも、ワックスや染料を採取したり食用にしたりと、世界各地で昆虫が利用されているが、規模は小さく地域も限られている。このように、従来の昆虫利用は、カイコとミツバチを除けば極めて限定的であったが、近年、昆虫が持つ多様な適応能力に着目し、その適応能力の元となっている様々な機能を解明して利用する試みが進められている（図1）。本稿では、昆虫利用の現状と新たな利用に向けた研究を概観する。

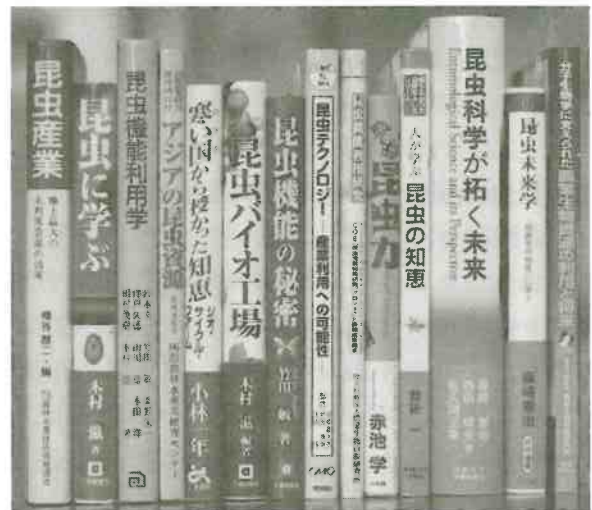


図 1

昆虫の機能利用に関する書籍が出版されている。

2. 昆虫利用の形態

代表的な昆虫利用の形態として、カイコを飼って繭を生産する、ミツバチを飼って蜂蜜を生産するという、繊維素材や食品の生産があるが、それ以外にも様々な利用形態がある。以下、利用形態別に整理して紹介する。

1) 昆虫の生産物を利用する（絹、蜂蜜、コチニール色素、セラック等）

絹糸をとるための繭や蜂蜜、蜜蝋が代表的な

KIUCHI Makoto

〒305-8634 茨城県つくば市大わし 1-2

もので、利用される昆虫の生産物の中では圧倒的に多い。繭生産に利用されるのは、ほとんどがカイコ（家蚕：*Bombyx mori*）であるが、この他にも、野蚕と呼ばれるガの仲間が繭生産に利用されている。代表的なものは、ヤマユガの仲間の柞蚕（中国）、タサールサン、ムガサン、エリサン（インド）、天蚕（日本）などであるが、マダガスカルでは、カレハガの仲間の繭が利用されている。蜂蜜・蜜蝋についても、一般に飼養されているセイヨウミツバチの他に、世界各地で土着のミツバチやマルハナバチ、ハリナシバチ等が利用されている。

絹糸や蜂蜜以外の生産物としては、中南米に生息するカイガラムシが生産する赤色のコチニール色素やタイ、インドなど東南アジア・南アジアに生息するラックカイガラムシが分泌するセラック樹脂がある。

2) 昆虫の個体そのものを利用する

i) 食用（カイコの蛹、蜂の子、イナゴ等）

昆虫食はあまり一般的ではないが、世界各地で様々な昆虫が食用とされている。その種類は、ガの幼虫、カミキリムシ・ゾウムシなど甲虫類の幼虫・成虫、アリ、シロアリ、ハエの仲間など多種多様である。食用とは少し違うが、孫太郎虫（ヘビトンボの幼虫）のように民間薬とされたものもある。昆虫を一般的な食品として利用することは、大量生産が難しいこと、生産コストの問題、そして何よりも、虫を食用とすることへの心理的な抵抗によって難しいと思われるが、民俗学・文化誌的には興味深い対象のようで、一般向けの書籍も出版されている（図2）。

ii) 花粉媒介（ミツバチ、マルハナバチ、マメコバチ、ハナアブ等）

自然界において、昆虫が植物の花粉媒介に果たす役割は極めて大きい。ハウス栽培のトマトやイチゴ等では、野生の昆虫による花粉媒介ができないため、ミツバチやマルハナバチが利用されている。マルハナバチはヨーロッパ原産のセイヨウオオマルハナバチが使われてきたが、

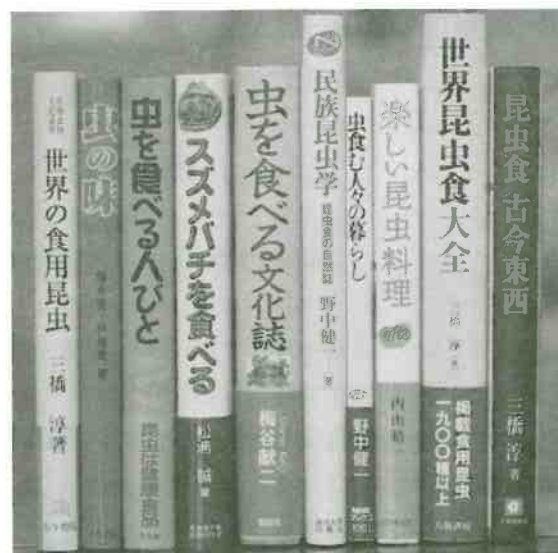


図2

昆虫食に関する書籍も出版されている。

土着種への影響から現在は特定外来生物に指定され、飼養には環境省の許可が必要となっている。飼育上の問題から今は市販されていないが、低温でも活動するシマハナアブがハウスでの花粉媒介用に販売されたことがある。ハウス以外でも、リンゴの花粉媒介用にマメコバチが利用されている。

iii) 害虫防除（天敵昆虫：寄生蜂、テントウムシ、捕食性カメムシ、カブリダニ等）

害虫を捕食したり寄生したりする天敵昆虫は、総合的害虫管理（IPM）の重要な要素として積極的に利用されている。天敵昆虫利用の初期には、外部から導入した天敵昆虫を放飼して自然に定着するのを待つという方法がとられたが、ハウスなどでの利用では、増殖した天敵昆虫をその都度放飼するという方法がとられている。また、バンカー植物の利用など、放飼した天敵の定着性を高めるための研究も行われている。天敵昆虫の性能を向上させるための育種も行われており、放飼後の定着性を高めるため、飛べないナミテントウが育種されている。昆虫を利用する場合、殺虫剤が使えないという大きな欠点があるが、最近、殺虫剤抵抗性を示す寄生蜂が見つかっており、将来的には殺虫剤と併用できるようになるかもしれない。

iv) 医療（ヒロズキンバエ）

壊死した組織をハエの幼虫（蛆）に食べさせる治療法（マゴットセラピー）は古くから行われており、第一次大戦後に研究が進んだ。抗生物質の発見や外科手術の発達により一時は忘れ去られたが、近年、抗生物質耐性菌の出現や糖尿病による難治性の潰瘍が増加したため、マゴットセラピーが見直されて実際の治療に利用されている。無菌的に繁殖させたヒロズキンバエの幼虫数匹を潰瘍組織に放し、プラスチックのカバーで閉じ込めると、ハエの幼虫が消化液を分泌して壊死した組織を消化・吸収することにより治癒を促進する。消化液に含まれる酵素や化学物質が細菌の増殖を阻止すると考えられているが、抗菌作用の詳細は不明で、さらなる研究が必要とされている。

v) 疾病モデル（カイコ）

医薬品開発の *in vivo* スクリーニングには、マウス等の哺乳動物が用いられているが、高価なことや動物愛護・生命倫理の問題から使用が制限される方向にある。哺乳動物と節足動物では、体組織や生理機能に大きな違いがあるが、最近、カイコにおいても抗生物質により感染症が治療できることや、ブドウ糖を注射して高血糖状態にすると発育阻害が起こるが、インシュリンの注射により治療できることが示され、抗生物質や糖尿病のスクリーニングに利用できることが明らかになった。糖尿病以外の疾患についても検討されており、疾病モデルとしての利用が期待される。

vi) 畜産廃棄物処理（イエバエ）

ロシア（旧ソ連）において、選抜育種したイエバエに家畜の糞を食べさせて処理し肥料として利用するとともに、育った蛹をニワトリのエサなどとして利用する技術が開発され、日本にも導入されている。

3) 昆虫の機能（能力）を利用する

昆虫の生産物や昆虫個体そのものの利用は古くから行われていたのに対し、昆虫機能の模倣や利用は、昆虫の身体を構成する物質の構造や

機能の解析技術が進歩した近年になってようやく可能となった。特に、遺伝子レベルでの機能解明と遺伝子組換え技術の発達により、昆虫の機能利用や新素材開発の可能性が大きく広がりつつある。

i) 物理的機能の模倣（形態、構造の模倣）

昆虫の構造の模倣で有名なのは、モルフォチョウの翅の構造色である。この構造を元にポリエステルとナイロンを交互に積層したモルフォテックスという構造色繊維が開発されており、自動車の塗装への利用研究も進んでいる。また、硬い鞘翅の下に折りたたまれている甲虫類の翅が瞬時に展開したり折りたたんだりできる仕組み、水の上に浮かぶアメンボや平滑なガラスの表面でもぶら下がって歩けるハムシの脚の表面構造などの利用研究も行われている。ハムシ等の脚の表面構造は、接着と分離を瞬時に繰り返せる未来の接着技術につながると期待される。

ii) 機能性物質の利用（抗菌物質、酵素、生理活性ペプチド等）

抗菌物質：昆虫は脊椎動物の抗体のような獲得性の免疫機構を持たない代わりに、病原菌などが侵入すると抗菌物質を生産して対抗するなどの自然免疫機構を持っている。これまでに、様々な抗菌タンパク・ペプチドが単離・同定されており、これらを改変して抗菌活性を高めた改変ペプチドの利用研究が進んでいる。

酵素：生物は体内の化学反応を触媒する様々な酵素を持っているが、昆虫が持つ酵素の中には、すでに実用化されているものや、実用化に向けた研究が進んでいるものがある。ホタルの発光はルシフェラーゼという酵素によって触媒されるが、この酵素と ATP の反応による発光を利用して微生物の存在を高感度でモニターするキットが市販されている。昆虫は様々なものを食物として利用しており、それらを消化するために多様な消化酵素を発達させている。シロアリをはじめとする食材性昆虫は、セルロースを分解するためのセルロースを持っているが、昆虫のセルロースは、後述のように微生物

物のセルロースとは異なる特性を持っており、利用研究が進んでいる。

生理活性ペプチド：昆虫は、抗菌物質の他にも様々な生理活性ペプチドを持っており、医療等への利用が期待されるものも発見されている。ヤマユガから単離されたヤママリンもその一つで、細胞増殖抑制剤や制がん剤としての利用が検討されている。また、モンシロチョウの幼虫や蛹からガン細胞を殺すタンパク質が単離されピエリシンと名付けられた。ピエリシンは、ガン細胞のDNAを特異的にリボシル化して殺すことがわかり、制がん剤としての利用が検討されている。

iii) 機能そのものの利用（物質生産、情報処理）

物質生産：カイコは短期間に急激に成長し、大量の絹タンパク質を合成する。この能力を活かし、カイコを有用物質生産のための昆虫工場として利用することができる。昆虫工場の利用として二つの方法がある。一つ目は、カイコの病原ウイルスであるバキュロウイルスを使う方法である。ウイルスのゲノムに目的とする有用物質（ペプチド・タンパク質）の遺伝子を組み込み、この改変ウイルスをカイコに感染させ、カイコの体内で増殖させて有用物質を生産する。すでに、核多角体病ウイルスを利用したイヌやネコのインターフェロン生産や各種タンパク質の受託生産が実用化されている。また、細胞質多角体病ウイルスを利用したタンパク生産も実用化されつつある。

カイコを利用した有用物質生産の二つ目は、遺伝子組換えカイコの利用で、カイコのゲノムに直接目的とする物質の遺伝子を組み込む。この方法では、組み込んだ遺伝子をシルクタンパク質を合成する絹糸腺で発現させ、目的とする物質を絹糸腺や繭の中に蓄積させることにより、その後の抽出・精製が容易に行える。この方法で生産された検査試薬用の酵素等の生産も実用段階にある。

情報受容・情報処理：昆虫は小さな脳しか持たないにもかかわらず、外界からの刺激に瞬

時に反応して複雑な行動をとることができることから、効率的な情報処理を行う「微小脳」と呼ばれて注目されている。このような昆虫の情報処理パターンを解析して模倣することにより、自動車の自動運転のような様々な外部情報に対する瞬時の反応が必要な情報処理を効率的に行えることが期待されている。また、昆虫はフェロモンなどの微量な化学物質を受容し鋭敏に反応する。オスのカイコガの触覚を切り取り、性フェロモンに対するオスの反応パターンをプログラムした機械装置に接続することにより、自動的にフェロモン源に到達できることが示された。さらに、遺伝子組換えによってカイコに別のガの性フェロモン受容体を発現させると、カイコが別のガの性フェロモンに反応することが示された。これらの成果を組み合わせることにより、様々な微量物質の探索装置としての利用が期待される。

3. 昆虫を利用した新素材・新技術の開発

最後に、筆者の所属する農業生物資源研究所での研究を中心にいくつか紹介したい。

1) シルク素材の改変利用

絹は繊維として衣料用に使われてきたが、別の形に加工・改変して新たな用途が開発されている。絹タンパク質の主成分であるフィブロインは、微粉末に加工して化粧品として利用されている。また、フィブロインを塩溶液に溶解してからスポンジやチューブに加工する技術が開発されており、スポンジは化粧材料や軟骨再生治療への、チューブは人工血管への利用研究が進んでいる（図3）。遺伝子組換えにより、細胞接着因子などを導入してフィブロインの性質を改変する試みも行われている。

遺伝子組換え技術は、衣料用としてもこれまでにない新しい素材を作り出すことを可能にしており、様々な蛍光を発する繭糸や極細繭糸の生産が可能となり、民間との共同による製品試

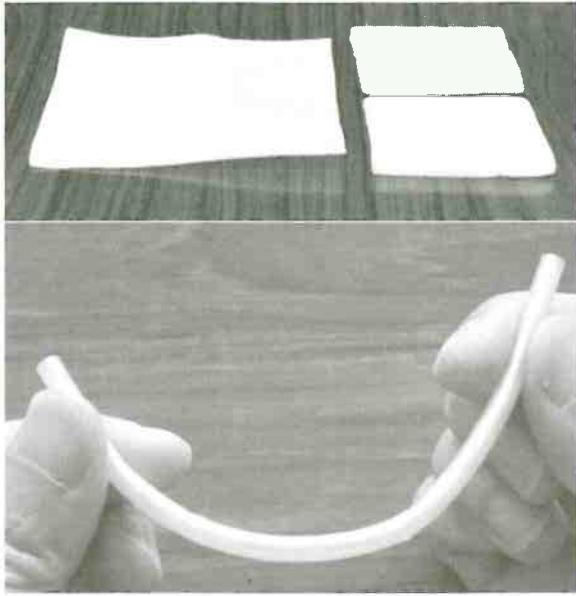


図3 フィブロイン・スポンジ（上）と絹糸による小口径人工血管（下）

作も行われている。

2) ネムリユスリカの乾燥休眠利用

アフリカの半乾燥地帯に生息するネムリユスリカという昆虫の幼虫（釣りの餌にする赤虫の仲間）は、完全に乾燥して干からびた状態で何年間も生存し、水に戻すと吸水して生き返り成長を再開するという驚異的な能力を持っている。これまでの研究により、1) LEA タンパク質という特殊なタンパク質とトレハロースという糖が乾燥から細胞組織を守ること、2) 乾燥時に発生する酸化ストレスから細胞を守る抗酸化物質があること、3) 酸化ストレスによりDNA が切断されるが、吸水後速やかにDNA 修復酵素が働いてDNA の損傷を修復することなどが明らかになって来た。今後、これらの仕組みをうまく利用することにより、ネムリユスリカ以外の生体組織やタンパク質でも乾燥状態で生きたまま（生理活性を保ったまま）保存できるようになることが期待される。

3) 昆虫セルラーゼの利用

シロアリなどの食材性昆虫はセルロースを分解して利用するが、以前は、昆虫はセルロース

を分解する酵素セルラーゼを持たず、共生微生物のセルラーゼが働いていると考えられていた。しかし、実際にはシロアリ自身もセルラーゼを持っていることが明らかになり、その後、多くの昆虫がセルラーゼを持つことや昆虫のセルラーゼは微生物のものとは大分異なることがわかってきた。微生物のセルラーゼは、セルロース結合部位とセルロース切断部位の2つの部分からなるが、昆虫のセルロースはセルロース切断部位だけの単純な構造が特徴である。また、微生物では、セルロゾームという複合体構造でセルロースを分解するのに対し、昆虫は、口器で木片を細かく粉砕してセルラーゼが働きやすくしてから、単体のセルラーゼがセルロースを切断するという違いがある（図4）。さらに、昆虫セルラーゼには、比活性が極めて高いという特徴がある。近年、再生可能資源であるバイオマスのエネルギー転換が注目されているが、木質のセルロースを如何に効率よく糖化するかが課題となっており、優れた特徴を持つ昆虫セルラーゼの利用が期待される。

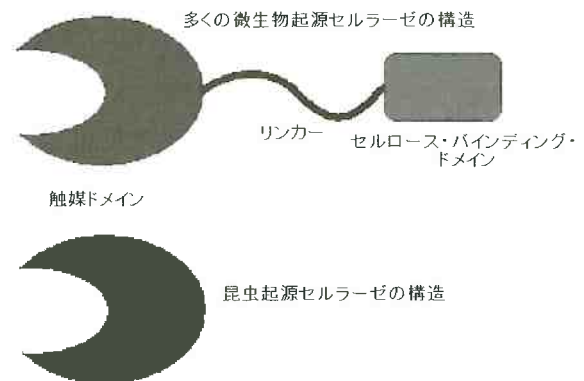


図4 微生物と昆虫のセルラーゼの比較

◀ 特 集 ▶

昆虫由来の抗微生物活性物質の利用

独立行政法人 農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究センター
昆虫機能研究開発ユニット

石橋 純

薬剤耐性菌の蔓延のため、既存の抗生物質とは異なる作用機構を持ち、耐性菌を生じない新規抗生物質が求められている。筆者らはカプトムシディフェンシンを改変した 9 残基の改変ペプチドを開発した。改変ペプチドは抗菌活性のみならず、TNF- α 発現抑制、がん細胞への細胞毒性など、新たな標的を持つことが明らかになった。また、改変ペプチドを利用した抗菌性素材を開発した。改変ペプチドの実用化にはまだまだ解決すべき問題点が多いが、今後幅広い応用が期待される。

はじめに

安心・安全で健康的な暮らしは人類の願いであるが、感染症は古くからの大きな脅威の一つである。20 世紀には抗生物質の発見により、人類は感染症を克服するかに見えた。しかし微生物は薬剤に対する耐性を獲得し、現在再び大きな脅威となっている。このため、新たな抗生物質、特に既存の抗生物質とは異なる作用機構を持ち、耐性菌を出現させないものが強く求められている。

昆虫は全生物種の 8 割を占めるとも言われるほど、多種多様に分化し、地球上の幅広い環境に適応している。昆虫は獲得性免疫を持たず、自然免疫のみで身を守っていることから、効率よい自然免疫システムがこの繁栄を支える鍵となっていると考えられている。昆虫が微生物と繰り返している戦いは極めて多様であり、このような昆虫の対微生物戦略がこれまでにほとんど人類に利用されてこなかったことから、昆虫は未知の有用な活性物質を持つ可能性を秘めていると考えられる。

自然免疫システムの中で、表皮などの物理的障壁を越えて体内に侵入してきた微生物を、血

ISHIBASHI Jun

〒305-8634 茨城県つくば市大わし 1-2

球細胞とともに、第一線で迎え撃つのが抗微生物タンパク質である。抗微生物タンパク質は、1981 年にスウェーデンの Boman らによりチョウ目昆虫であるセクロピア蚕から最初に報告され、その後動植物から広く見つかり、現在ではほとんどの生物において自然免疫の重要な因子であると考えられている。

抗微生物タンパク質の作用機構は、様々なものが知られているが、代表的なものはセクロピン、ディフェンシンなどのように細胞膜に作用し、その透過性を上昇させるものである。既存の多くの抗生物質が、主に代謝系の阻害剤であるのに対し、これらの抗微生物タンパク質の場合は細胞膜破壊という物理的な殺菌メカニズムを有するという点で異なっており、既存の抗生物質に対する薬剤耐性菌に対しても効果的であるだけでなく、新たな耐性菌が生じにくいと考えられている。このため、抗微生物タンパク質は、新たな抗生物質のシーズとして有効であると考えられる。

昆虫の抗微生物タンパク質の利用

カプトムシ (*Allomyrina dichotoma*) は、日本では誰もが知る代表的な昆虫である。幼虫時代は腐植質を餌として地中で生活しており、微生物感染の危険性は高いと考えられる。このカ

ブトムシの生活を支える免疫因子の一つが、抗微生物タンパク質のディフェンシンである。

筆者らはカブトムシディフェンシンをベースに、新たな抗菌剤としての利用を目指し、改変を試みた。ディフェンシン等の抗微生物タンパク質を抗菌剤として利用するにあたり、たとえ強い活性が得られたとしても、哺乳類の細胞に対する毒性、体内に投与されたときに抗原となる可能性を低減せねばならない。さらに、製造にかかる高いコスト、限られた抗菌スペクトル、血液中での安定性などが問題点として考えられる。そこで、まず抗原性と製造コストにかかる問題を解決するために、カブトムシディフェンシンの低分子量化を試みた。まずディフェンシンの活性中心を見つけるため、ディフェンシンのすべての部分をカバーする 12 残基の部分ペプチドを、C 末端フリーおよびアミド型として計 64 種類合成した。これらの中で、19-30 残基目のフラグメントの C 末端をアミド化したもの

が最も強い抗菌活性を示した。さらに N 末端から 1 残基ずつ削っていくと、22-30 アミドまで強い活性を示したが、C 末端を削ると活性が失われた。この結果から 22-30 残基目部分がカブトムシディフェンシンの活性部位と同定し、この 9 残基のペプチドをベースとして種々のアミノ酸置換を行い、改変ペプチド A・D の 4 種類を得た (図 1) ¹⁾。これらのペプチドは黄色ブドウ球菌に対して強い活性を示すのみならず、元のディフェンシンが弱い活性しか示さなかった、グラム陰性細菌に対しても強い活性を示し、薬剤耐性細菌対しても効果的であった (表 1)。さらに一部のカビやトリパノソーマ原虫に対しても活性を示し、抗菌スペクトルを広げることができた。一方で赤血球に対する溶血活性は見られず、哺乳類の培養細胞の増殖にもほとんど影響を与えなかった。

人工脂質二重膜であるリポソームを用いた実験から、改変ペプチドは酸性リン脂質を含む脂

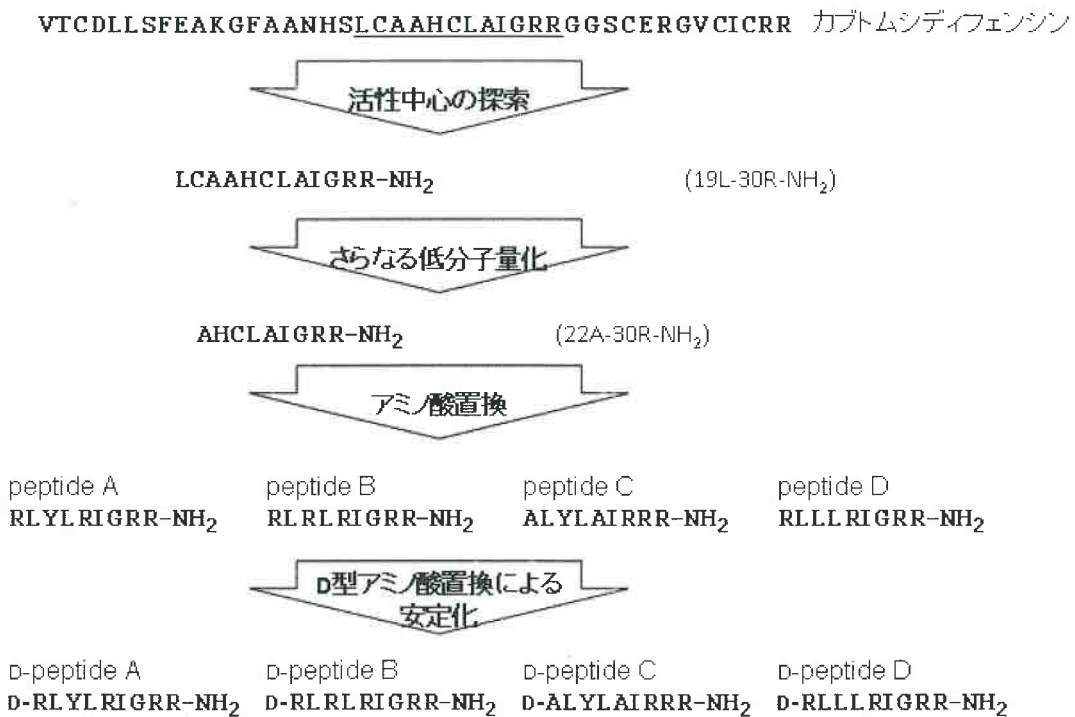


図 1 カブトムシディフェンシンの改変

表 1 改変ペプチドの抗菌活性

| | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | |
|------------|--------------------------|-----|
| | MRSA | 緑膿菌 |
| L-peptideA | 600 | 400 |
| L-peptideB | 600 | 800 |
| L-peptideC | 600 | 400 |
| L-peptideD | 600 | 400 |
| D-peptideA | 30 | 30 |
| D-peptideB | 30 | 100 |
| D-peptideC | 30 | 30 |
| D-peptideD | 20 | 60 |
| メチシリン | 1,000 | ND |
| ピペラシリン | 200 | 50 |

MIC: 最小増殖抑制濃度

ND: 未決定

質二重層膜を標的とすることが示された。改変ペプチドの標的は光学活性を持たない脂質二重層膜であることから、非天然の D 型アミノ酸を使用しても同等の活性を示す。人工脂質二重層膜であるリポソームに対しては D 型, L 型は同等の活性を示したが, D 型は細菌に対してプロテアーゼ等による分解を抑えることができ, より強い活性を示した。さらに抗生物質と併用することにより, 相乗効果が得られることが明らかになった²⁾。

In vivo での治療活性

得られた改変ペプチドは, in vitro では強い抗菌活性を示したが, in vivo における活性はどうであろうか。実際に改変ペプチドを MRSA 感染マウスに投与したところ, マウスの生存率を有意に上昇させることが明らかになった(表 2)。この治療効果は抗菌作用だけではなく, 改変ペプチドの投与により TNF- α 遺伝子の発現が抑制されていることが明らかになった³⁾。改変ペプチドとリポ多糖の結合

も確認され, 更に TNF- α 遺伝子ノックアウトマウスを用いた実験から, この改変ペプチドによる TNF- α の発現抑制が, リポ多糖によるショック反応を抑制していることが治療に結びつくことが明らかになった⁴⁾。TNF- α は細菌の感染を局所に留め, 全身感染に広がるのを防ぐ作用を持つ。しかし一度全身感染が起きると, 逆にその作用があだとなり, 敗血症を起こす。現在までのところ, 敗血症に対する治療薬はなく, 特に薬剤耐性細菌による敗血症の場合, 抗生物質が効かないため, 治療が困難であった。また, 当初からの課題であった抗原性の問題であるが, 改変ペプチドを KLH にコンジュゲートして, 抗原性を高めてさえも, ほとんど抗体は生じず, 極めて抗原性が低いことが明らかになった。さらに改変ペプチドを投与したマウスの肝臓, 腎臓に対する悪影響は見られなかった⁵⁾。これらの結果は, 特に薬剤耐性細菌による感染症の画期的な治療薬として大いに期待されるものである。

がん細胞等の新たな標的の探索

カプトムシディフェンシン改変ペプチドは, 負電荷を持つ細菌の細胞膜を破壊し, 表面電荷が中性の哺乳類の正常細胞の細胞膜は破壊しない。このことから負電荷を持つ細胞膜を持っている細胞には選択的に細胞毒性を示す可能性が

表 2 MRSA 感染マウスにおける L-peptideA および B の効果

| MRSA接種菌数 (CFU) | ペプチド | 死亡率 (死亡数/実験数) |
|-----------------|------------|----------------|
| 4×10^8 | - | 85 % (34/40) |
| 4×10^8 | L-peptideA | 22.5 % (9/40) |
| 4×10^8 | L-peptideB | 32.5 % (13/40) |
| - | - | 0 % (0/10) |
| - | L-peptideA | 0 % (0/10) |
| - | L-peptideB | 0 % (0/10) |

ある。近年、ある種のがん細胞は細胞表面に酸性リン脂質であるフォスファチジルセリンが多量に表出しており、負電荷を示すという報告がなされている。このことから、種々のがん細胞に対して細胞毒性を指標にスクリーニングを行ったところ、骨髄腫細胞、白血病細胞などの主として血液がん細胞に対して細胞毒性を示すことが明らかになった。これらの細胞に対する作用機構を調べたところ、細菌の場合と同様に細胞膜を標的としていることが明らかになった(図2)。また、がん細胞における細胞表面へのフォスファチジルセリン表出量と、改変ペプチドの細胞毒性の強さに相関関係があることが明らかになった⁶⁾。

ミトコンドリアは原核生物由来の細胞内小器官であり、その膜が酸性リン脂質を含むことが明らかになっている。このため、改変ペプチドを細胞内に導入することができれば、細胞内のミトコンドリアを標的として破壊し、細胞死に導くことができると考えられる。このためには、改変ペプチドに細胞膜を通過させ、細胞内に送り届けるドラッグデリバリーシステムの応用が必要となることから、細胞膜透過作用を持つオクタアルギニン配列を改変ペプチドに付加することを試みた。実際に改変ペプチドにオクタアルギニン配列を付加したところ、細胞内に導入され、細胞膜を標的とするよりも低い濃度で細胞死に至らしめることが明らかになった。これらの細胞のミトコンドリアについて調べたところ、

膜電位が消失し、破壊されていることが明らかになり、推定通りミトコンドリアを標的とした薬剤としての使用が可能であることが明らかになった⁷⁾。使用したオクタアルギニン配列は細胞の選択性がないため、これでは無差別に細胞死を引き起こしてしまうが、がん細胞に選択的なドラッグデリバリーシステムを用いてがん細胞内に導入することができれば、標的とする細胞のみを狙い撃ちすることができると考えられる。

改変ペプチドを利用した抗菌性素材の開発

抗菌剤は抗生物質として内服用に使われるのみならず、食品の安全、健康な生活の確保、感染症の予防のため外用でも広く用いられており、国民の清潔志向も非常に高いことから、抗菌性素材の使用は極めて一般化している。抗菌性素材の市場は年間8千億円と言われ、非常に多くの需要が見込まれる分野である。筆者らは、改変ペプチドの優れた特性を活かし、抗菌性素材に対する高い需要に応えるため、改変ペプチドを有効成分とした新規抗菌性素材の開発を試みた。

まず改変ペプチドをフィブロインフィルムに染み込ませて黄色ブドウ球菌を含む寒天培地の上に置いたところ、フィルムの下に黄色ブドウ球菌の増殖を完全に阻止した。また、手術用縫合糸に改変ペプチドを染み込ませた後、黄色ブドウ球菌培養液に浸し、マウスの背中に縫い付けたところ、バイオフィルムの形成を阻止できることが示された⁸⁾。一度バイオフィルムが形成されると、微生物は薬剤から保護され、殺菌すること

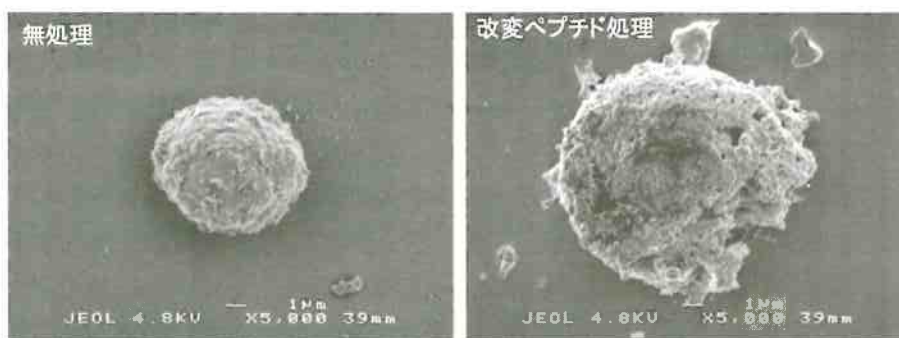


図2 マウス骨髄腫細胞 P3-X63-Ag8.653 に対する改変ペプチド (D-peptideB) の効果

が困難である。改変ペプチドの使用により、バイオフィーム感染症の予防に利用できる可能性が示された。

多くの抗菌性素材は、上記のように素材に種々の方法で取り込ませた抗菌剤を徐々に遊離させ、抗菌効果を得ている。しかし、改変ペプチドは微生物に取り込まれることにより代謝阻害を引き起こすのではなく、細胞の外側から作用して細胞膜を破壊するため、遊離させる必要がない。改変ペプチド分子が活性を示すために必要な自由度が確保できれば、改変ペプチドを固定化し、持続性のある抗菌活性を付与することが可能であると考えられる。また、固定化により溶液中への拡散を防ぎ局所的な濃度を高め、比較的高濃度が必要であるという改変ペプチド

の欠点を克服することが可能となる。このことから、綿布に改変ペプチドの自由度を確保するためのスペーサー分子を共有結合で結合させ、さらにスペーサー分子に結合させる形で改変ペプチドを綿布の上で合成を行った(図3)。得られた改変ペプチド固定化綿布は、極めて強い抗菌活性を示し、この活性は繰り返しの洗浄、オートクレーブによる滅菌を行っても維持された(表3)。さらに血液がん細胞に対する細胞毒性も同様に維持された。この結果は血液がん細胞を透析により除去するという治療法に応用が可能であると考えられる⁹⁾。

おわりに

新たな薬剤耐性細菌の出現は人類に脅威を与え続けており、新規抗生物質の開発が強く望まれている。そのため筆者らは既存の抗生物質とは異なる作用機構を持つ新たな抗菌剤の開発を目指し、昆虫由来抗微生物タンパク質をリードとして、研究を進めてきた。得られた改変ペプチドが、幅広い抗菌スペクトル、既存の抗生物質との併用による相乗効果、*in vivo*での治療効果、抗原性の低さなどの優れた特性を持つことを明らかにしてきた。また、当初は抗菌剤としての開発を進めてきたが、TNF- α 発現抑制、がん細胞への細胞毒性を見出すなど、新たな標的を対象にできる可能性を秘めていることが明らかになってきた。しかしながら、安全性の確保、ドラッグデリバリーシステムを用いた有効な投与方法の開発など実用化にはまだまだ解決すべき問題点が多い。また、改変ペプチドを利用した抗菌性素材は医療用

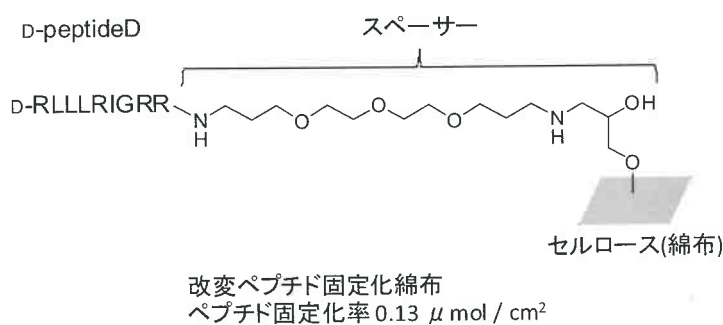


図3 改変ペプチド固定化綿布の開発

表3 改変ペプチド固定化綿布の抗菌活性

| | 生菌数(CFU) | | |
|-----|-------------------|-------------------|---------------------------|
| | 接種菌数 | 無処理綿布 (18時間) | 改変ペプチド 固定化綿布 (18時間) |
| 実験1 | 1.8×10^6 | 1.4×10^7 | 0 |
| 実験2 | 2.5×10^6 | 2.4×10^6 | 0 |
| 実験3 | 2.4×10^6 | 2.6×10^7 | 0 |
| 実験4 | 1.5×10^6 | 2.1×10^7 | 0 |
| 実験5 | 1.9×10^6 | 2.6×10^7 | 0 |
| 実験6 | 1.9×10^6 | 2.6×10^8 | 0 |

のみならず一般の生活に幅広い応用が期待される。

このような問題点を克服し、昆虫の持つ未知の能力を最大限に活かし、人類の生活に貢献できる日が来ることを目標に努力していきたい。

参考文献

- 1) Saido-Sakanaka, H., *et al.* (1999), *Biochem J*, 338 (Pt 1), 29-33
- 2) Iwasaki, T., *et al.* (2007), *J. Insect Biotech. Sericol.*, 76, 25-29
- 3) Saido-Sakanaka, H., *et al.* (2005), *Dev Comp Immunol*, 29, 469-77
- 4) Koyama, Y., *et al.* (2006), *Int Immunopharmacol*, 6, 234-40
- 5) Yamada, M., *et al.* (2005), *J Vet Med Sci*, 67, 1005-11
- 6) Iwasaki, T., *et al.* (2009), *Peptides*, 30, 660-8
- 7) Iwasaki, T., *et al.* (2009), *Biosci Biotechnol Biochem*, 73, 683-7
- 8) Saido-Sakanaka, H., *et al.* (2005), *J. Insect Biotech. Sericol.*, 74, 15-20
- 9) Nakamura, M., *et al.* (2011), *Biomacromolecules*, 12, 1540-5

◀ 特集 ▶

シロアリの女王フェロモンの正体

岡山大学大学院環境学研究科

松浦 健二

アリやハチ、シロアリのような社会性昆虫では、女王は繁殖を行い、働き蟻は労働を行うといった分業が高度に発達しており、女王は自分が繁殖している間は、他の個体が女王になるのを強く抑制している。この女王フェロモンは、シロアリの社会生態を解明する上でも害虫管理という応用的側面でも最も重要な化学情報物質の一つである。筆者らは、多量の女王採集と化学分析、独自に開発した生物検定法により、その成分が2つの揮発性物質2-メチル1-ブタノールとn-ブチルn-ブチレートであることを特定し、人工フェロモンによる女王分化抑制に成功した。

1. はじめに

シロアリやアリ、ミツバチのように巣の中で繁殖を行う個体と行わない個体の分業が発達したものを、真社会性昆虫とよぶ。多くの真社会性昆虫では、繁殖個体が死亡した場合などには別の新たな繁殖個体が出現する。例えば、ミツバチの女王が死亡すると、ワーカーの卵巣が発達して産卵を開始する。シロアリの創設女王が死亡した場合、あるいはコロニーが成長してワーカーの労働力に対して産卵速度が見合わなくなった場合、新たな女王がコロニー内のメンバーから分化して繁殖を行う。これは逆の言い方をすれば、十分な繁殖能力をもつ女王は、他の個体が繁殖することを何らかの方法で抑制していることを意味する。それが、いわゆる「女王フェロモン」とよばれる化学物質によって成されていることは、古くから知られている¹⁾。しかし、ごく最近まで、女王フェロモンの成分が特定されたのはミツバチだけであった²⁾。ただし、ミツバチの女王フェロモンは個体に直接作用して繁殖カーストと非繁殖カーストへの分化を制御するようなカースト分化制御フェロモンではない。女王の顎腺から分泌されるフェロモンには(E)-9-oxodec-2-enoic acid (9-ODA)

MATSUURA Kenji

〒700-8530 岡山市北区津島中1-1-1

などの不飽和カルボン酸とMethyl-p-hydroxybenzoateなどの芳香族化合物が含まれており、9-ODAはワーカーによる王台(新たな女王を作る部屋)の形成を抑制し、あるいはワーカー産卵を抑制することが知られている。ごく最近、筆者らは長年の懸案であったシロアリの女王フェロモンの特定に成功し、その多面的機能を明らかにしてきた。

2. 揮発性成分による二次女王分化の抑制

シロアリは不完全変態の昆虫であり、ワーカーやニンフ(有翅虫の前段階)は発生学的には幼虫である。多くのシロアリではニンフとワーカーは繁殖虫に分化する能力をもっている。十分な産卵能力を有した女王は、他の雌が女王に分化するのを抑制しているが、女王が死亡した場合や、産卵能力が低下した場合には、補充女王(二次女王)が出現する(図1)。したがって、女王が二次女王の出現を抑制する何らかの物質を出しているであろうということは、50年以上前に示唆されていた³⁾。しかし、その量がきわめて微量であること、成熟した女王の採集が困難なことなどから、半世紀にわたって、誰もその同定には成功しておらず、言わば幻のフェロモンであった。ヤマトシロアリ *Reticulitermes*

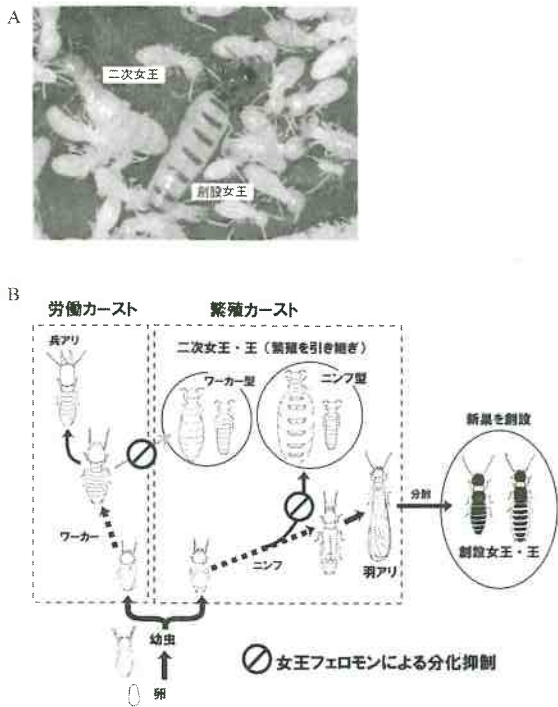


図1 ヤマトシロアリの女王と繁殖分化制御
 A, 生殖中枢にいる創設女王(右)と二次女王(左)。
 B, ヤマトシロアリのカースト分化経路。女王はフェロモンによってニンフとワーカーから二次女王が分化するのを抑制している。

speratus を用いて実験を行ったところ、十分な産卵能力を有する女王の存在化では、ワーカーやニンフからの二次女王の分化は抑制された⁴⁾(図2A)。そして、二重の金網越しに女王が存在していた場合(つまり、ワーカーやニンフは直接女王に触れることはない状況)でも、新たな女王の出現が抑制されることから、この抑制フェロモンが揮発性の物質であることが分かった⁴⁾(図2B)。

3. ヤマトシロアリの女王フェロモンの特定

ヤマトシロアリの野外コロニーからの成熟した女王を大量採集し、ヘッドスペース GC-MS を用いて揮発性物質の化学分析を行ったところ、女王には存在し、ワーカーやニンフには存在しない特異的な成分が検出された。その女王特異的成分はアルコールの 2-methyl-1-buranol (2M1B) とエステル of n-butyl-n-butyrate (nBnB) の2つの揮発性化学物質であった⁴⁾(図3A)。新たに開発した生物検定法により、この2成分をブレンドした人工フェロモンが、女王による抑制と同じように二次女王の分化を抑制することを明らかにした(図3C)。また、リ

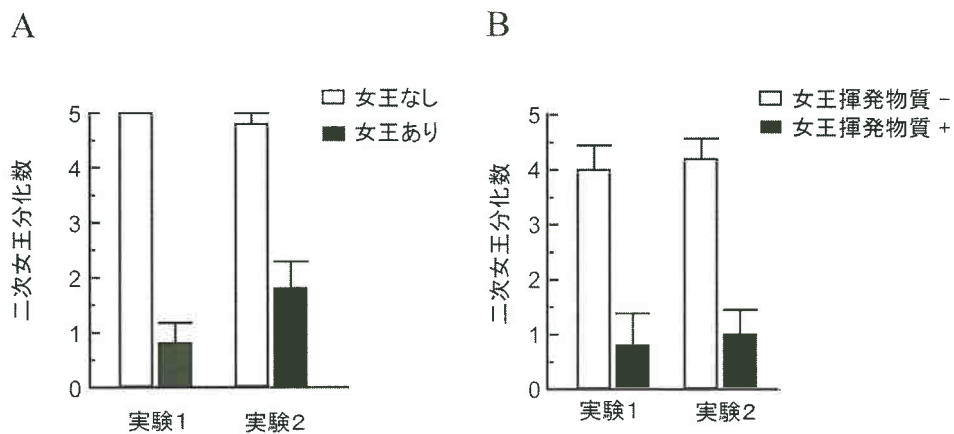


図2 ヤマトシロアリの女王フェロモンによる二次女王分化の抑制

- A, 女王の存在下では、ニンフから二次女王への分化が抑制された。
- B, 女王を二重の金網越しに提示しても、ワーカーから二次女王の分化が抑制された。

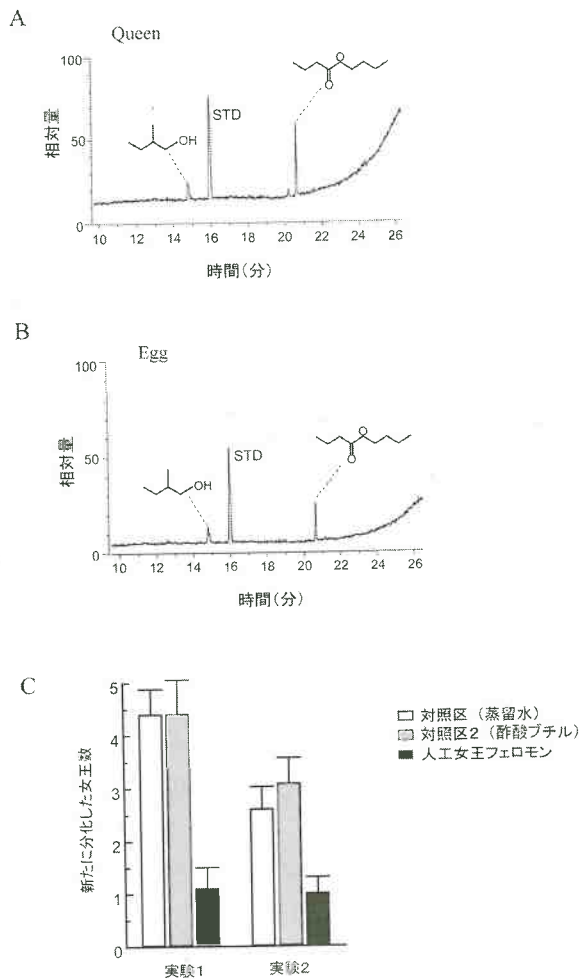


図3 ヤマトシロアリの女王フェロモンと卵揮発成分

A, 女王特異的な揮発成分はアルコールの 2-methyl-1-butanol (2M1B) とエステルの n-butyl-n-butyrate (nBnB)。B, 卵からも女王と全く同じ揮発成分が検出された。C, 人工女王フェロモン (nBnB と 2M1B を成分とする) によって二次女王分化を抑制できた。

アルタイム PCR によりヴィテロジェニン (卵黄蛋白の前駆体) の遺伝子発現を調べたところ, 人工女王フェロモンに暴露することによって, 雌ワーカーのヴィテロジェニン発現量が抑制されることも分かった。ただし, これは二次女王分化の抑制の結果を別の形で示したに過ぎず, 分化カスケードの上流で女王フェロモンがどのような作用をし, どのようなプロセスを経て二

次女王の分化を抑制しているのか更に追究していく必要がある。2M1B には光学異性体の R-体と S-体があるが, 両者を化学合成して女王フェロモンとしての活性を試験したところ, どちらも強い活性を示し, 有意な差は認められなかった⁵⁾。ただし, 実際に女王がどちらのタイプの 2M1B を放出しているのかは未だ判別されていない。

4. 卵からも放出される揮発性フェロモン

コロニーのメンバーにとって, 卵の存在は女王の産卵能力を示す直接の指標となり得る。実際に, 女王不在の場合でも, 人工的に卵を追加する処理を行うと, 二次女王の分化は抑制されることが分かった⁴⁾ (図 4A)。とても興味深いことに, 卵の揮発成分を分析したところ, 女王と全く同じ nBnB と 2M1B の 2 つの揮発成分が検出された (図 3B)。シロアリのワーカーは, 女王の産んだ卵を育室に運んで山積みにし, 世話をする習性がある。ワーカーは育室の卵を毎日丁寧にグルーミングし, 抗菌物質を含む唾液でコーティングし, 卵を病気の感染や乾燥から守っている。このワーカーの唾液中に含まれる主要な抗菌物質であるリゾチムと, 消化酵素のひとつである β -グルコシダーゼが卵認識フェロモンの成分であることが分かっている^{6), 7)}。卵認識フェロモンの成分であるリゾチムと β -グルコシダーゼは, どちらもタンパク質の接触フェロモンであり, これらの不揮発性物質のみでは, ワーカーは卵に直接触れなければ卵を認識することはできない。卵認識フェロモンに加えて, nBnB と 2M1B を添加した擬似卵では, 有意に運搬率が上昇した (図 4B)。これは, 揮発成分 nBnB と 2M1B が卵から放出されることで, ワーカーは卵の存在を離れた場所から知覚し, 定位しているためだと考えられる。つまり, 女王フェロモンであり, 卵の揮発成分でもある nBnB と 2M1B は, 二次女王の分化を制御するプライマーフェロモンであると同時に, ワーカー

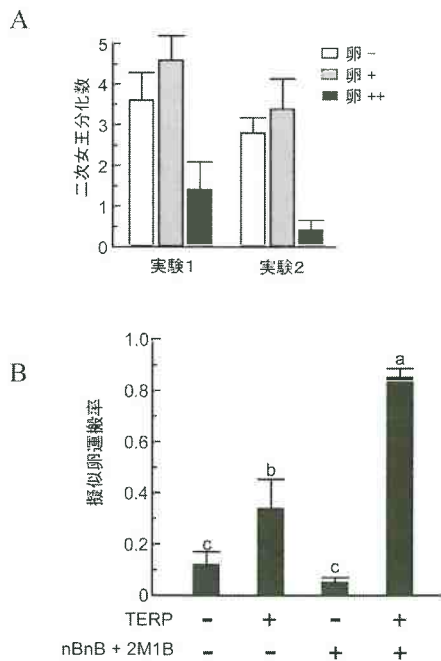


図4 卵揮発成分の多面的機能

- A, 女王が存在しない場合でも、人工的に卵を加え続けることで、二次女王の分化を抑制できる。
- B, 卵認識フェロモン (TERP) に加えて揮発成分の nBnB と 2M1B が存在することで、擬似卵の運搬率が有意に上昇した。

一の卵保護行動を誘発するリリーサーフェロモンの機能も有することが明らかになった。

5. 女王フェロモンの多面的機能

揮発性の二次女王分化抑制フェロモン 2M1B と nBnB は、女王の卵生産能力を反映した正直なシグナルであることが示唆されている。コロニーのニンフやワーカーは、卵生産が十分に行われている状況下では、自らの二次女王分化を抑制している。このフェロモンが卵生産を示すシグナルであるならば、二次女王分化の抑制効果だけでなく、卵量依存的に変化する他の形質にも影響を与えられられる。

まず、1つのコロニーに複数の女王が存在する多女王制の状況では、コロニー単位で生産する卵の量は、個々の女王が産む卵の総和であり、

その調節には女王間の相互作用が関係する。コロニーの労働力 (ワーカーの総数) に対して産卵数が少なければ、コロニーの生産性を低下させることになり、逆に産卵数が多すぎると卵保護や育児の労働力が不足し、これも生産性を低下させることになる。実験的に、200 個体のワーカーに対して 1 個体の女王が存在する処理区と、同数のワーカーに対して 3 個体の女王が存在する処理区を比較したところ、産まれた卵の総数は同程度であった。これは、3 個体の女王が個体あたりの産卵数を抑えたためである。人工女王フェロモンを与えることで、同じように女王の産卵抑制が見られる⁸⁾。したがって、多女王下では女王フェロモンが互いの存在を認識するためのシグナルの機能を果たし、コロニーレベルの産卵調節にも重要な機能を果たしていると考えられる。

次に、ワーカーの唾液腺における抗菌タンパク質リゾチームの生産と女王フェロモンの関係である。上述のように、ワーカーの唾液腺で作られるリゾチームは卵の抗菌物質としての機能と卵認識フェロモンの機能をもつ。卵の生産量が増すと、毎日の卵のグルーミングに必要なリゾチームの量も増すことになる。実際に、ワーカーの唾液腺リゾチームの量は季節的に変動し、その増減は気温よりも巣内の卵保有量に依存する傾向がある (Suehiro, W. and Matsuura, K. 投稿準備中)。そこで、卵の生産量を示すシグナルである女王フェロモン 2M1B と nBnB に暴露したワーカーと、対照区のワーカーの唾液腺リゾチーム量を比較したところ、女王フェロモンに暴露した個体では有意に唾液腺リゾチーム量が増加することが分かった。このように、2M1B と nBnB は二次女王の分化抑制だけでなく、女王の産卵能力を示すシグナルとして、それに付随する様々な副次的機能を有することが明らかになった。

6. タカサゴシロアリの女王特異的揮発性物質

上述のシロアリの女王フェロモンに関する一連の研究では、ミゾガシラシロアリ科の一種であるヤマトシロアリを材料として用いたが、ほかのシロアリでも同様の揮発性物質が女王フェロモンとして機能しているのか。ヤマトシロアリとは系統関係の離れた高等シロアリの一種タカサゴシロアリ *Nasutitermes takasagoensis* の女王、ワーカー、兵アリ、羽アリおよび卵から放出される揮発成分を、それぞれヘッドスペース GC-MS で分析した⁹⁾。揮発成分が 14 種類検出されたうち、7 つは兵アリ特異的であった。そして、女王、卵、羽アリに特異的な成分が、

それぞれ 1 つずつ見つかった (図 5)。女王特異的な成分はフェニルエタノール、卵特異的な成分はジメチルジスルフィドであり、両者は異なる物質であった。したがって、ヤマトシロアリとタカサゴシロアリでは、女王フェロモンの起源や副次的機能も異なっていると考えられる。タカサゴシロアリを含む高等シロアリの多くの種では、室内で二次女王の分化を実験的に調べるのが困難であり、フェニルエタノールについても、その二次女王分化に対する抑制効果について検証できていない。高等シロアリの女王フェロモンを特定するためには、新たな生物検定法の開発も必要である。

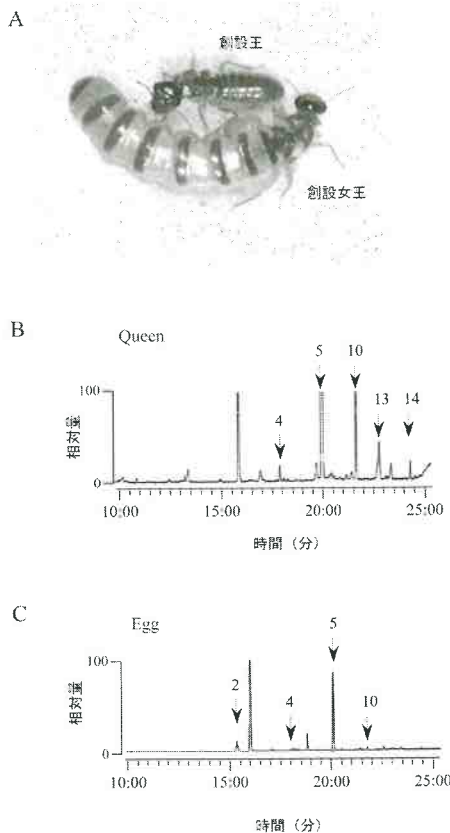


図5 タカサゴシロアリの女王と卵の揮発成分

- A, タカサゴシロアリの創設王と創設女王。
 B, 女王の揮発成分。ピーク 13 は女王特異的な揮発成分であるフェニルエタノール。
 C, 卵の揮発成分。ピーク 2 は卵特異的な揮発成分であるジメチルジスルフィド。

7. 応用への展望

生態学的な視点から、シロアリの害虫としての特性を考える場合、その駆除を困難にしている重要な要因として、第一に、木材の中という外部から遮断された場所に生活している点が挙げられる。農業害虫のように薬剤を散布すれば直接暴露した個体を殺虫できるというわけにはいかない。では、どのようにすれば簡単に効率的に生殖中枢まで殺虫活性物質を導入し、コロニー全体を破壊できるか。高度な社会性を営み人間に害を与えている真社会性害虫を最も効率的に駆除する方法は、その社会性を逆に利用する以外にない。

上述の通り、シロアリのワーカーは女王の産んだ卵を育室に運搬して世話をする習性をもつ。卵の認識には卵の物理的特性 (形状とサイズ) と化学的特性 (卵認識フェロモン) が関与しており、この 2 つの条件を満たすものを卵として認識し、運搬・保護する。筆者らは、この最も基本的な社会行動の一つである卵保護行動に着目し、擬似卵を用いてシロアリ自ら殺虫活性物質を巣内の生殖中枢へ運搬させる技術を発明した。この技術の特性は、きわめて効果的にコロニーの中枢を破壊できる点にある。擬似卵に殺虫活性物質を含ませてシロアリ自らに生殖中枢へと運搬させることにより、駆除にかかる労力

を大幅に削減できる。擬似卵を認識したワーカーは、どこからでも巣の中核まで擬似卵を運搬するので、シロアリの存在が検知されている場合は、ほんの数時間で生殖中核まで殺虫剤を導入できる。さらに、駆除に必要な薬剤の量がきわめて微量で済む点も重要である。擬似卵は卵塊中に運搬されるだけでなく、そこで頻繁にグルーミングを受けるため、擬似卵に含有させた殺虫成分は虫体に取り込まれ、栄養交換を介して中核部から外に向かってコロニー内個体に拡散する。遅効性薬剤が全体としてある閾値を超えた時点で、取り残すことなく殺虫される。従来のいかなる駆除技術とも異なり、沢山の擬似卵という形で、大きな容量の殺虫成分を中核まで瞬時に導入でき、内側から周縁部に向かって薬剤が拡散するので、最悪の場合でも生殖中核の残存を回避できる。

卵保護行動はシロアリの種に関わらず普遍的であり、さらに、これまでの研究によりシロアリの卵認識物質は、広範囲の種に共通であることが明らかになっている。例えば、ヤマトシロアリ属であればすべて同じ人工フェロモンで擬似卵を運搬させることが出来る上、イエシロアリでも同じ擬似卵を運搬させることが出来る。ちなみに、イエシロアリにヤマトシロアリの卵を与えると、全く識別できず、孵化するまで同じように世話をする。卵認識フェロモンはリゾチームと β -グルコシダーゼの2つの不揮発性成分からなり、これに定位物質として卵の揮発成分であるnBnBと2M1Bが加わることで、よ

り高い擬似卵の運搬活性を実現できる。ただし、リゾチームと β -グルコシダーゼの由来によっても、運搬活性は異なるため、高い運搬活性を実現するためには、高い活性を示すフェロモンを、安価で大量に生産できる生物から得ることが必要である。本技術は日本だけでなく、世界中のシロアリに適用できる画期的な駆除技術として期待している。

本研究は、生物系特定産業技術研究支援センターによる「イノベーション創出基礎的研究推進事業（発展型）」等の助成を受けて行われたものである。ここに謹んで感謝申し上げます。

文献

- 1) Karlson, P. and Lüscher, M. (1959), *Nature*, 183, 55-56
- 2) Butler, C. G., Callow, R. K. and Johnston, N. C. (1959), *Nature*, 184, 1871-1871
- 3) Light, S. F. (1944), *Univ. Cal. Pub. Zool.* 43, 413-454
- 4) Matsuura, K. et al. (2010), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 12963-12968
- 5) Yamamoto, Y., Kobayashi, T. and Matsuura, K. (2011), *Physiol. Entomol.* doi:10.1111/j.1365-3032.2011.00806.x
- 6) Matsuura, K. et al. (2007), *PLoS ONE* 2, e813. doi:10.1371/journal.pone.0000813
- 7) Matsuura, K. (2009), *Current Biology*, 19, 30-36
- 8) Yamamoto Y. and Matsuura, K. (2011), *Biology Letters*, doi:10.1098/rsbl.2011.0353
- 9) Himuro, C., Yokoi, T. and Matsuura, K. (2011), *J. Insect Physiol.*, 57, 962-965

◀ 特集 ▶

ヤママユ由来のペントペプチド誘導体による
細胞増殖抑制機能と応用開発

岩手大学農学部

鈴木 幸一

大型絹糸昆虫のヤママユは卵内で幼虫体が形成されると、そのまま1年の内8カ月間休眠越冬する。イミダゾール化合物処理で人工ふ化に成功し休眠維持のメカニズムに挑んだ。休眠維持因子として新規のペントペプチド（ヤママリリンと命名）を同定し、ヤママリリン誘導体が昆虫から哺乳類までの細胞増殖を可逆的に抑制することから、分子機構の解明ならびに細胞増殖制御剤や臓器保存の開発に向けた研究を展開している。

1. カイコの先駆的な休眠研究から学ぶ

生物の発育生殖と環境要因の日長温度との関連性は、個体レベルから分子機構、そして生産技術開発まで包含するダイナミックな魅力に富んでいる。典型的なモデルとして、カイコの卵（胚子）休眠がある。1930年代に遡った古典的な知見によると、カイコ卵の親世代の保護条件である日長と温度の組み合わせが、次世代の卵内の胚子発育を進め10日あまりでふ化するか、それとも胚子発育を停止し何カ月間も休眠越冬するかに大きく影響する¹⁾。この世代を超えた卵の保護条件→幼虫→蛹→成虫→卵内の胚子の休眠化、または非休眠化の過程については、遺伝子、ホルモン、物質代謝から多くの研究情報が蓄積されている。その中の金字塔は、カイコの休眠ホルモンの発見と構造決定であり、雌蛹の食道下神経節から分泌され24個のアミノ酸残基からなるC末端がアミド化したペプチドである²⁾。

応用開発に関しては、カイコを年間4~5回飼育し良質の生糸生産を最大の目標とした場合、休眠卵を人工的にふ化して飼育することが重要なポイントになる。そこで、イタリアで1877

SUZUKI Koichi

〒020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

年に発見された塩酸ふ化法（産卵後20~24時間の卵を塩酸浸漬する）は、わが国で1925年に人工ふ化法として確立された。人工ふ化技術の確立から80年以上、日長温度による休眠コントロールから80年近く、そして休眠ホルモンの構造決定から20年経ても、1) 塩酸浸漬でなぜ休眠が阻止されふ化するか、2) 日長温度でなぜ休眠・非休眠がコントロールできるか、3) 休眠ホルモンの作用でなぜ胚子発育を停止するか、という根本的なメカニズムはまだ解決されていない。カイコのゲノム解読後に新しい科学技術的使命が生まれ、生糸生産から害虫制御のモデル化ならびに医療素材の開発にシフトした今日、分子昆虫学分野の休眠セクションで最先端を走っているカイコの休眠研究では難題が残っている。

2. 人工ふ化の成功からスタートしたヤママユの休眠研究

わが国が原産の大型絹糸昆虫ヤママユ（通称、天蚕）は、クヌギやコナラを食樹として9月上旬に産卵する。卵内では幼虫体が形成されるとそのまま休眠越冬に入る（図1a）。食樹が発芽する翌年の5月までこの状態を維持し、ふ化後は4カ月間で幼虫→蛹→成虫へと進み、1年の内8カ月間は卵内で幼虫体のまま生活環を営む。

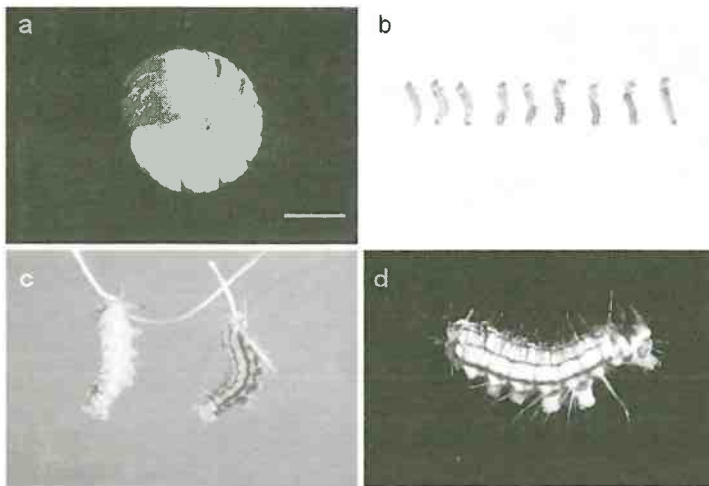


図1 ヤママユの休眠中の幼虫体と各体節間の結紮実験

a, 卵内で休眠中の幼虫体 (スケールバー=1mm); b, 1本のデンタルフロスからバラバラにした細い数本の糸をよることで、各体節間を縛った実験; c, 頭部と胸部の環節間膜 (頸部) を縛り、頭部を欠いた胸部-腹部の体部分にアセトン塗布したものは休眠中 (左)、アセトンで溶解した KK-42 を塗布したものは休眠から覚醒 (右); d, 頭部と胸部を欠いた腹部の体部分で、無処理でも休眠覚醒⁵⁾ (Suzuki et al., 1990 を改変)

カイコ同様生糸生産を目的とした場合、和服1着が300万円以上といわれ市場形成は望めない。1983~1989年にかけて岩手大学グループの当初の目的は、絹のダイヤモンドともはやされたヤママユの生糸生産のためであり、カイコと同じ道をたどりながら人工ふ化に挑戦した。先人は、ヤママユの人工ふ化に塩酸浸漬も含めてあらゆる方法にトライしたが、人工越冬 (低温に長期間露出処理することでふ化) 以外は成功しなかった。それから40年経て昆虫成長制御剤の1つの候補として開発されたイミダゾール化合物 (KK-42, 九州大学桑野栄一名誉教授による合成) を活用し、はじめてヤママユの人工ふ化に成功した³⁾。このKK-42による人工ふ化の技術は、カイコの塩酸ふ化法に比較しても遜色なく、常時95%以上のふ化率である。ただし、カイコの塩酸ふ化法と異なる点は、現在でもヤママユの生糸やシルクパウダーによる化粧品が市場を形成するまでには至らず、ヤママユ

の生産農家の育成に結び付くことはなく、人工ふ化法は学術のレベルに止まり広く普及するまでの技術に達していない。

一方、KK-42による処理でなぜ人工的にふ化するのか、KK-42を格好のツールとして休眠覚醒のメカニズムの糸口を見つけることができた。これまでの研究成果によると、休眠中の幼虫体でのみ強く発現している新規のチトクローム P450 遺伝子 (*CYP4G25*) が KK-42 処理で消失し休眠覚醒へと進み、この発現パターンは長期の低温処理でも確認された。また、遺伝子シグナルは表皮の剛毛窩に位置する真皮細胞のみで観察され、中枢神経系や消化管では発現していない⁴⁾。一般に、イミダゾール化合物は P450 の活性中心であるヘム鉄に配位すること

で P450 の機能を阻害している。そこで、休眠中に発現している *CYP4G25* 遺伝子の本来の機能は休眠越冬中の長期低温刺激を受容するシグナル伝達経路に関与し、この遺伝子のオンオフが休眠維持・覚醒の重要な鍵になると考えられる。さらに、KK-42 は休眠中の幼虫体における消化管内の特定タンパク質 (45 kDaKK-42BP) と結合し、このタンパク質のシグナルもほぼ *CYP4G25* 遺伝子と同様のパターンを示した。すなわち、KK-42 または長期低温処理が表皮上の *CYP4G25* 遺伝子の発現を阻止→消化管内の 45 kDaKK-42BP との結合→休眠覚醒に至る分子経路が多少見えてきた (図2)。

3. 休眠維持に関与するヤママリンの発見と機能

昆虫の内分泌系の研究には、頭部と胸部の間の環節間膜 (頸部)、胸部の各体節間、腹部の各

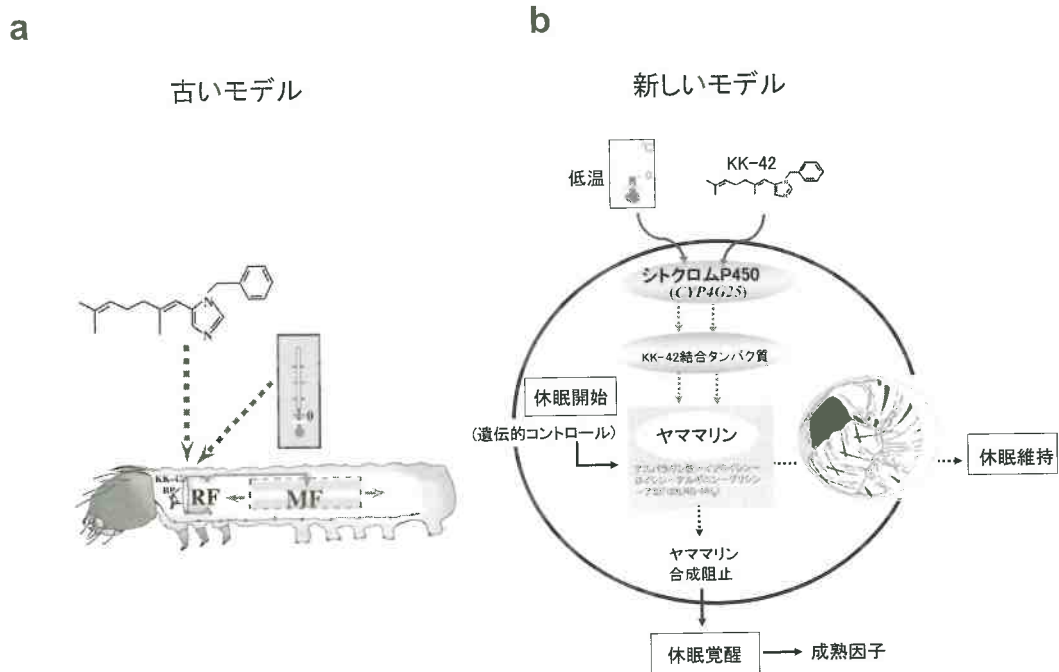


図2 ヤママユ幼虫体の休眠機構のモデル

a, 古いモデル⁷⁾ (Suzuki et al., 2001 を改変); b, 新しいモデル⁸⁾ (Suzuki et al., 2008 を改変)

体節間を結紮する古典的な手法がある。また体長約 6mm の幼虫体から神経節を摘出し、移植する技術もある。これらの古典的な手法と KK-42 処理を組み合わせることで、昆虫内分泌学上オリジナルな休眠に関する仮説を提案することができた。それまでは脳、アラタ体、前胸線、食道下神経節で合成分泌されるホルモンが、休眠の誘導・維持・覚醒の制御に重要な働きをされると考えられていた。しかし、ヤママユの卵内で幼虫体休眠を維持するには、胸部付近の未同定の組織器官から休眠維持因子が合成分泌され、この因子は KK-42 処理や長期低温処理により不活化することで休眠覚醒にシフトすると推定した。また、休眠覚醒で活性化し腹部に存在する成熟因子 (Maturation factor, MF) が幼虫体の表皮メラニン色素の沈着を誘導することも提案した (図 2)^{5, 6)}。

成熟因子の方は構造決定までに至らなかったが、ペプチド様物質として部分精製できた⁷⁾。しかし、休眠維持因子の同定には 14 年の歳月を要した。抽出溶媒の選定、分離精製の各種

カラム樹脂の採用、KK-42 処理を活用したバイオアッセイの確立、MALDI-TOF による質量スペクトル解析、そして合成品によるバイオアッセイにエネルギーを注いだ結果、休眠維持因子はアスパラギン酸-イソロイシン-ロイシン-アルギニン-グリシンの C 末端にアミド基が結合した新規のペントペプチドであることを明らかにし、ヤママリン (Yamamarin) と命名した (図 3)⁸⁾。

ヤママリンの休眠維持の機能以外に、細胞分裂の激しいラット肝がん細胞 (d RLh 84) への影響を解析したところ、添加することで細胞増殖抑制、培地から除去することで増殖再開を繰り返す可逆的な機能であることが明らかになった。すなわち、ネクロシスやアポトーシスを発生することのない増殖抑制→増殖再開→増殖抑制→増殖再開の可逆的な作用である。また、ペプチドは細胞膜を透過しがたいという難点を克服するためにパルミチン酸を結合した C16-ヤママリンを合成し (三重大学今井邦雄教授グループ)、細胞増殖抑制活性を約 20 倍上昇する

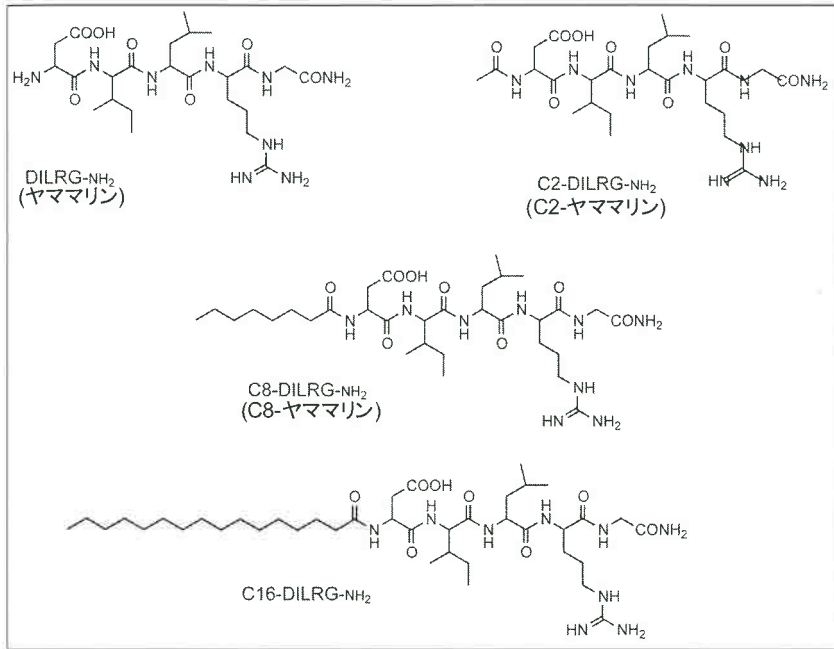


図3 休眠中の幼虫体から単離構造決定したヤママリンと誘導体の構造⁸⁾ (Yang et al., 2007 を改変)

ことに成功している (図4)⁸⁾。この可逆的な細胞増殖抑制活性はがん細胞特異的な作用ではなく、ショウジョウバエ胚子由来の S2 細胞, ヤママユの卵巣被膜細胞, そしてヒト慢性骨髄性白血病遺伝子 (BaF3-*Bcr/AbI*) を導入したマウス白血病細胞でも活性の差こそあれ, 細胞種を超えた普遍的な細胞増殖抑制が確認されている⁹⁾。

また, DNA マイクロアレイ解析やミトコンドリア呼吸解析の結果, ヤママリンおよび C16-ヤママリンは, 細胞小器官レベルの特定のタンパク質と結合することが明らかになり, 立体構造の解析¹⁰⁾, 分子間相互作用の解析が現在進んでいる。

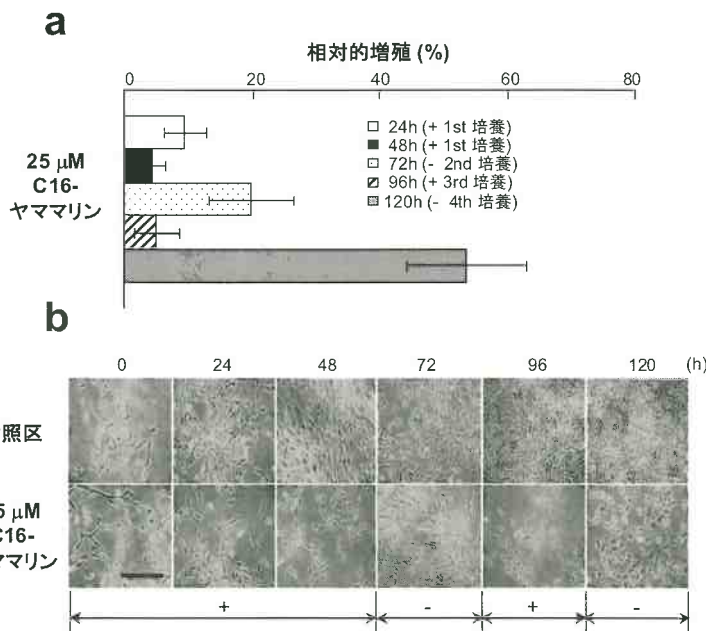


図4 ヤママリン誘導体 C16-ヤママリンによるラット肝がん細胞の可逆的な増殖抑制

a, ラット肝がん細胞に C16-ヤママリンを添加した場合 (+) と培地から除いた場合 (-) の繰り返し培養 (4 回) を各対照区に対する増殖率で示した実験: b, 位相差顕微鏡で観察した各培養における細胞形態⁸⁾ (Yang et al., 2007 を改変), スケールバー=200 μm

4. ヤママリンおよびヤママリン誘導体の今後の課題と応用開発

ヤママリンについては, 休眠中の幼虫体のどの組織器官で合成分泌されるのか, そして休眠維持因子としてどのようなメカニズムで本来の機能を発揮しているかの解析を行っている。同時に, ヤママリンも含めたペプタド生物活性分子は細胞膜透過性に劣ることから,

C16-ヤママリリンよりも強力な細胞膜透過型で細胞増殖抑制活性の高いヤママリリン誘導体の合成が、細胞増殖制御剤または臓器保存剤の開発にとって重要な課題になっている。

ヤママリリンによる昆虫の個体レベルの休眠機構の解明は勿論のこと、哺乳類までの広範な細胞増殖抑制の分子機構を説明する重要なツールとなり、その誘導体 新しい昆虫成長制御剤や細胞増殖制御剤の開発のためのリード化合物になるには¹¹⁾、さらに研究実績の積み重ねが求められる。

謝 辞

本研究は、生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業の研究助成（平成19年～23年度）の下で行われた。

引用文献

- 1) 鈴木幸一ら (2003), 化学と生物, 41 (7), 471-477
- 2) Yamashita, O. (1996), *J. Insect Physiol.*, 42, 669-679
- 3) 鈴木幸一ら (1994), 化学と生物, 32 (4), 221-228
- 4) Yang, P. et al. (2008), *J. Insect Physiol.*, 54, 636-643
- 5) Suzuki, K. et al. (1990), *J. Insect Physiol.*, 36, 855-860
- 6) Suzuki, K. et al. (2008), in *Insect Physiology: New Research* (Rayan, P. M., eds.), 279-294, Nova, New York
- 7) Suzuki, K. et al. (2001), in *Insect Timing: Circadian Rhythmicity to Seasonality* (Denlinger, D. L., Giebultowicz, J. and Saunders, D. S., eds.), 185-198, Elsevier, Amsterdam
- 8) Yang, P. et al. (2007), *J. Insect Biotech. Sericol.*, 76, 63-69
- 9) Sato, Y. et al. (2010), *Peptides*, 31, 827-833
- 10) Kamiya, M. et al. (2010), *J. Pept. Sci.*, 16, 242-248
- 11) 鈴木幸一ら (2007) バイオサイエンスとイノベーション, 65 (10), 21-25

◀ 特集 ▶

昆虫嗅覚受容体を利用した匂いセンサの構築

東京大学先端科学技術研究センター 生命知能システム分野

櫻井健志・光野秀文・神崎亮平

近年、危機安全管理、環境保全、食品の品質管理など、われわれの生活の安全性、生活の質の向上のために空気中の微量な匂い物質を高感度・高選択的にリアルタイムで検出可能な匂いセンサに対するニーズが高まっている。筆者らは昆虫のもつ高度に発達した嗅覚能力に着目し、嗅覚受容の実体である嗅覚受容体を利用した匂いセンサの開発を進めてきた。ここでは、これらのセンサ開発の現状を解説し、今後の展望について述べる。

はじめに

大気中には、住宅内の塗装や喫煙習慣による人体に悪影響を与える化学物質や食品の品質の悪化に伴い生じる匂い物質など、様々な揮発性物質が含まれる。人体に悪影響を及ぼす化学物質については低濃度で効果を示すものや、瞬時に効果が表れるものなど様々であり、これら微量の化学物質を正確にそして迅速に検出することに対する社会的ニーズが高まっている。また、匂いを手掛かりにした被災地での救助活動、空港での麻薬などの検査、爆発物や地雷の検知などの必要性が検討され、化学センサの幅広い活用が期待されている。これまでに水晶振動子や半導体、抗原抗体反応などを利用したセンサの開発が行われ、一部は実用化されつつあるが、検出感度、識別能、検出速度、検出可能な匂いの種類、コストなど、匂いセンサの幅広いニーズを考慮すると検討すべき課題は多い(表1参照)。これらの課題を解決する革新的な手段として近年、生物の嗅覚受容機構のバイオセンサへの利用が匂いセンサ開発の1つの大きな流れとなってきた。筆者らは生物の中でも特に嗅

SAKURAI Takeshi, MITSUNO Hidefumi,
KANZAKI Ryohei
〒153-8904 東京都目黒区駒場 4-6-1 東京大学
先端科学技術研究センター3号館南棟 358号室

覚能力の発達した昆虫の匂い受容機構を利用したバイオセンサの構築を進めている。本稿では、筆者らが進めている昆虫嗅覚受容体を利用した匂いセンサ構築の現状を解説したい。

昆虫の嗅覚受容体を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞を用いた匂いセンサチップの開発

昆虫は多くの生命活動に匂い情報を利用して、環境中の多様な匂い分子を高感度かつリアルタイムに検出する機構を備えている。この検出は、匂い分子と高い親和性を示す昆虫に特異な嗅覚受容体によって成し遂げられている。昆虫の嗅覚受容体は、Gタンパク質共役型受容体である哺乳類の嗅覚受容体とは異なり、Or83bファミリータンパク質と呼ばれる補助タンパク質(Olfactory receptor co-receptor; Orco)と複合体を形成し、イオンチャネル型受容体として機能する⁽⁶⁾。そのため、昆虫の嗅覚受容体は匂いを受容後、数10ミリ秒もの速さで細胞内に陽イオンを流入する。現在までに、同じタイプの嗅覚受容体が、様々な目に属する昆虫種から100種類以上同定されており、各々の匂い応答特性が明らかにされている⁽⁷⁾。しかしながら、これら昆虫の嗅覚受容体を匂いセンサ開発に利用した例はこれまでに報告されていなかった。

表1 既存の匂いセンサと昆虫嗅覚受容体を利用した匂いセンサの性能比較¹⁻⁴⁾

| | センサ種類 | 計測素子 | 検出範囲、検出限界 | 計測素子の数 | その他の特徴(ロバスト性、携帯性、汎用性など) |
|----------------|---------------|------------|-------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| 工学技術 | 半導体センサ | 金属酸化物半導体 | ppb~ppm (匂い物質による) | 6~数10種類 | 応答が速い、繰り返し再現性が高い、実績がある、汎用性が高い |
| | 水晶振動子センサ | 水晶振動子(QCM) | ppb~ppm (匂い物質による) | 6~数10種類 | 被覆材料の種類が多い、外乱に弱い |
| 昆虫嗅覚受容体を利用した技術 | 卵母細胞を用いたセンサ | 昆虫の嗅覚受容体 | 数10ppb (匂い溶解液) | 昆虫の嗅覚受容体の種類による (現在、100種以上が同定済) | 応答が速い、携帯性がある (駆動体に搭載可能)、ロバスト性・安定性が低い |
| | 昆虫培養細胞を用いたセンサ | 昆虫の嗅覚受容体 | 数10ppb (匂い溶解液) | 昆虫の嗅覚受容体の種類による (現在、100種以上が同定済) | 応答が速い、携帯性がある、蛍光により応答検出が容易、長期間の計測が可能 |
| | 遺伝子組換えカイコガ | 昆虫の嗅覚受容体 | —* | 昆虫の嗅覚受容体の種類による (現在、100種以上が同定済) | リアルタイムの検出が可能、匂い源の探索が可能 |

*:カイコガは約170分子のフェロモンを触角で受容すると匂い源定位行動を発現することが報告されている。⁵⁾

そこで、著者らは昆虫の嗅覚受容体の機能を再現し匂い応答を検出できるシステムを構築すれば、高感度かつ様々な匂いをリアルタイムで検出できるセンサ素子を開発できると考えた。

現在、イオンチャネルや受容体といった生体分子は様々な細胞を用いて合成することが可能であり、構造決定や機能解析に利用されている。中でもアフリカツメガエル卵母細胞 (以下、卵母細胞と呼ぶ) は、これまでに数多くのイオンチャネルや受容体の発現系として広く利用されてきた (図1) (7)。昆虫の嗅覚受容体についても、多くのものが卵母細胞で発現され機能解析が進められている。卵母細胞は直径が1 mm程度と大きく、電極刺入が容易であるため、2電極膜電位固定法と呼ばれる電気生理学的手法で、細胞で生じる微弱なイオン電流を計測することができる。そのため、昆虫の嗅覚受容体を発現させた卵母細胞では、匂いに対する応答を感度良く検出でき、イオンチャネルの開閉をリアルタイムで計測できる。そこで、筆者らは昆虫の嗅覚受容体を発現させた卵母細胞と2電極膜電位固定法に注目し、卵母細胞を保持することができ、かつ細胞の電流応答を計測できる小型の匂いセンサチップの作出を試みた。

本匂いセンサチップは昆虫の嗅覚受容体を発現させた卵母細胞と、複数の卵母細胞をアレイ状に実装できる流路チップからなる。流路チップは4cm×3cm大で、微細加工技術により作製

した (図1)。流路チップ中には2本の電極が2セット埋め込まれており、半自動的に保持された卵母細胞から2電極膜電位固定法に基づく電流計測が可能となっている。卵母細胞は発現する嗅覚受容体に応じた匂い選択性を示すため、流路チップの上流からの匂いに対し異なる応答特性を示す。例えば、カイコガ (*Bombyx mori*) の2種類の性フェロモン受容体 (ボンビコール受容体; BmOR1, ボンビカル受容体; BmOR3) を別々に発現する卵母細胞をアレイ化したものでは、ボンビコール刺激では BmOR1 を発現する卵母細胞のみ、ボンビカル刺激では BmOR3 を発現する卵母細胞のみの応答が検出できた。また、BmOR3 を発現する卵母細胞を保持した匂いセンサチップでは、100 nM (23.8 ppb に相当) のボンビカルを検出することが可能であった (図1)。さらに、キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) の一般臭受容体 Or85b を発現する卵母細胞を用いることで、Or85b のリガンドである 2-heptanone を検出できる匂いセンサチップを構築できた (図1)。

以上のように、昆虫の嗅覚受容体を発現させた卵母細胞を利用した本匂いセンサチップは、ppb レベルの感度があり、リアルタイム性にも優れている⁽⁸⁾。そして、一般臭受容体にも応用できることから、今後、化学構造の異なる様々な匂い物質を高感度で検出できる匂いセンサチップとしての開発が期待できる。

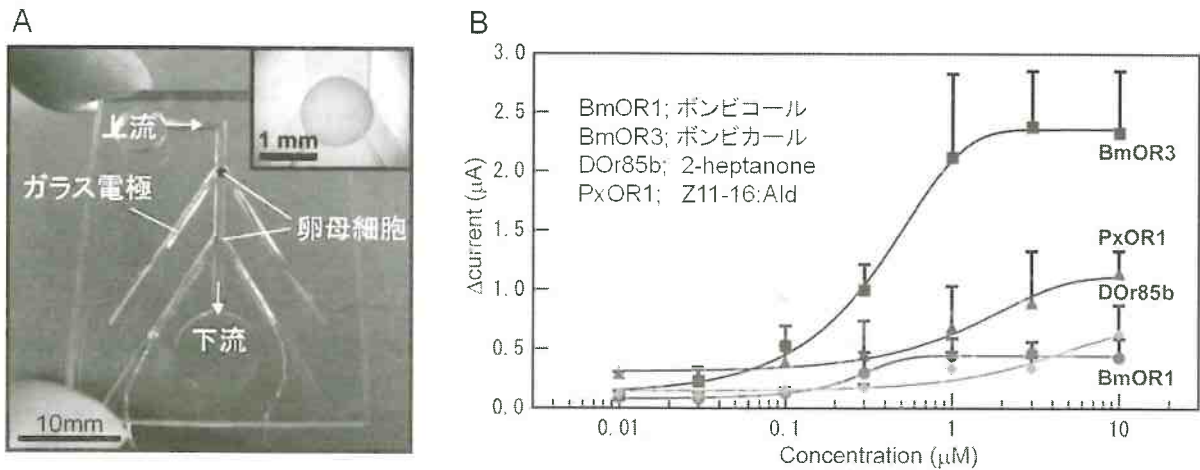


図1 昆虫嗅覚受容体を発現する卵母細胞を利用した匂いセンサの構造と濃度依存応答³⁾

(A) 匂いセンサチップの構造 異なる昆虫嗅覚受容体を発現する2個の卵母細胞をアレイ化した匂いセンサチップを示す。(B) 各匂いに対する濃度依存応答 各昆虫嗅覚受容体を発現する卵母細胞を保持した匂いセンサチップから計測した濃度依存応答を示す。PxOR1はコナガの性フェロモン成分 Z11-hexadecenal を受容する性フェロモン受容体を表す。(参考文献3から改変して引用)

昆虫培養細胞を利用した匂いセンサ素子の開発

上記の研究結果から卵母細胞をセンサ素子とした匂いセンサチップの有用性が示された一方で、卵母細胞の特性上、安定して計測可能な期間が約12時間に限定される、培養に厳密な温度制御を要するという課題が残された。これらの課題を解決する方法として、嗅覚受容体の発現細胞としてヨトウガ (*Spodoptera frugiperda*) 蛹の卵巣由来の培養細胞 (Sf21細胞) に着目した。この培養細胞は無限分裂するため、遺伝子工学的手法により一旦嗅覚受容体遺伝子をゲノムDNA中に導入すれば、恒常的に嗅覚受容体を発現する細胞 (安定発現系統) を半永久的に生産することができる。また、18~29℃と広範囲の温度条件下で培養が可能なることから、室温条件下で細胞の応答を検出することができる。これら Sf21細胞の特徴を活かして昆虫の嗅覚受容体を発現する安定発現系統を樹立すれば、卵母細胞よりも長期間安定して幅広い温度域で匂いを検出できる匂いセンサ素子として利用できると考えた。そこで、筆者らは昆虫の嗅覚受容体

を発現する Sf21細胞を作出し、匂いセンサ素子としての性能評価を試みた。

まず、カイコガの性フェロモン受容体を対象として、Sf21細胞での受容体の再構築および匂いに対する応答感度の評価を行った。Sf21細胞に、BmOR1、BmOR3を、BmOrco及びカルシウム感受性蛍光タンパク質 (GCaMP3) 遺伝子とともに導入することで、カルシウムイメージング法により匂いに対する応答を蛍光強度変化として可視化できる細胞を作出した。作出した Sf21細胞をボンビコールもしくはボンビカルで刺激したところ、BmOR1またはBmOR3を発現する Sf21細胞はそれぞれボンビコールとボンビカルに特異的に応答し蛍光強度を増加した (図2)。このことから、Sf21細胞においても昆虫の嗅覚受容体の再構築が可能であり、発現させた嗅覚受容体の応答特性に従った蛍光強度変化を示すことがわかった。

これらの Sf21細胞の応答は濃度依存的であり、BmOR1発現細胞では100 nM (23.8 ppbに相当)、BmOR3発現細胞では30 nM (7.14 ppbに相当) もの高感度で性フェロモンを検出することがわかった (図2)。また、それぞれの受

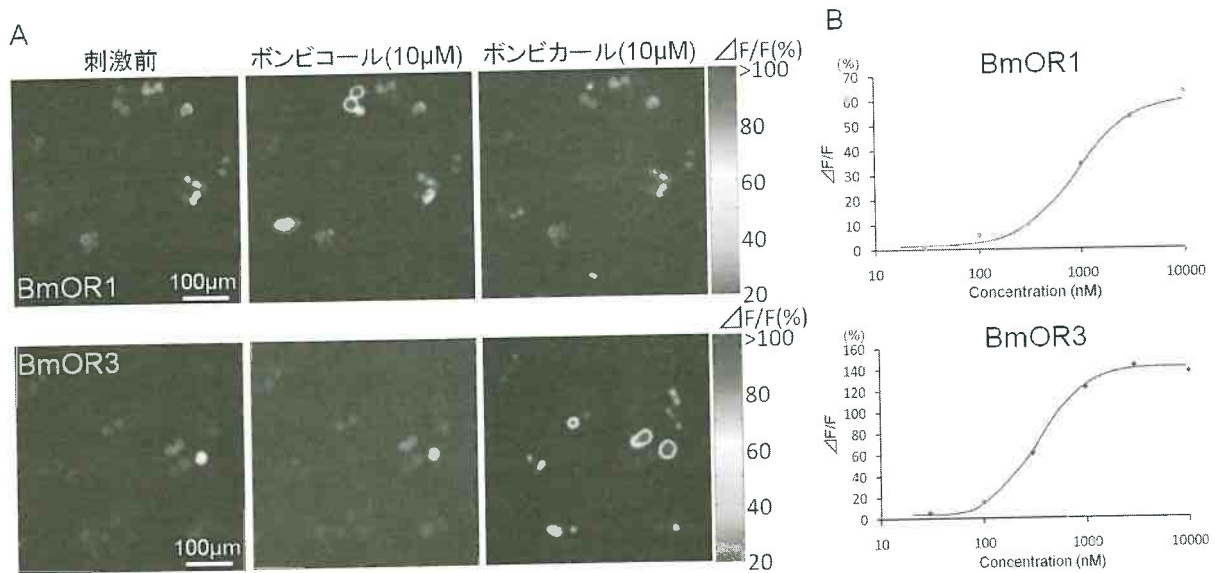


図2 昆虫嗅覚受容体を導入した Sf21 細胞による性フェロモンの検出

(A) BmOR1, BmOR3 を発現する Sf21 細胞の性フェロモン成分に対する応答特性 疑似カラーにより蛍光強度の変化量を表した。カラーバーは蛍光強度変化の割合を表し、 ΔF (蛍光強度変化量)/ F (刺激前の蛍光強度) $\times 100$ (%) の値を表す。(B) BmOR1, BmOR3 発現細胞のボンビコール, ボンビカール刺激に対する応答の濃度依存性

容体発現細胞の匂い応答の 50% 効果濃度 (EC_{50}) を算出したところ, BmOR1 発現細胞は $0.85 \mu\text{M}$ であり, BmOR3 発現細胞は $0.32 \mu\text{M}$ であった。これらの値は, アフリカツメガエル卵母細胞で報告されている閾値濃度, EC_{50} 値とほぼ同程度であり, Sf21 細胞においても, 高感度に匂い応答が検出できることが示された。また, 抗生物質によるスクリーニングにより樹立した安定発現系統では, 2 カ月間の継代及び, 6 カ月間の凍結保存後においても, 同等の匂い応答を検出できることがわかった。

これらの結果から, 受容体を発現した Sf21 細胞は, 卵母細胞と同等の高感度性を有し, かつ長期間の測定が可能な高感度匂いセンサ素子として利用できることが示された。今後, これら細胞を保持でき蛍光強度変化を検出できるシステムを確立することで, 卵母細胞を利用したセンサチップと比べ, より高性能な匂いセンサチップの開発が可能になると考えられる。

カイコガ個体を利用した匂い源探知センサの開発

昆虫嗅覚受容体の機能を遺伝子工学の手法により細胞で人工的に再現した匂いセンサの構築と並行して, 以下に述べるカイコガオスのフェロモン源への定位行動を利用した, カイコガの個体そのものをセンサとして利用する研究も進めている。

カイコガのオスは同種メスの放出する性フェロモンであるボンビコールを高感度に検知し, 匂い発信源に定位する。フェロモン源定位行動と呼ばれるこの行動は, ボンビコールを受容したときだけ起こり, それ以外の匂いに対しては起こらない。そのため, カイコガのボンビコールへの定位行動を, 他の匂いに対して起こすような機能改変ができれば, 様々な匂いを高感度に検出するのみならず, 匂いの発信源の探知が可能になる。このような機能改変を行うために, まずカイコガがボンビコールだけに行動を発現する機構を遺伝子レベルで解明した。

カイコガのオスは触角上の毛状感覚子に一对のフェロモン受容細胞をもつ。このうち一方は主成分であるボンビコールにもう一方はボンビコールに選択的に反応することが知られている⁽⁸⁾。それぞれの受容細胞にはボンビコールの特異的受容体である BmOR1 とボンビコールの特異的受容体である BmOR3 が相互排他的に発現している⁽⁹⁾。このように BmOR1 とフェロモン源定位行動の匂い選択性が 1 対 1 で対応することから、BmOR1 が触角における匂い選択性だけでなく、フェロモン源定位行動発現の匂い選択性まで決定しているとの仮説に基づき研究を進めた。この仮説を検証するために、GAL4-UAS システムを利用して、ボンビコール受容細胞だけで他種の蛾（コナガ、*Plutella xylostella*）の性フェロモン受容体遺伝子 PxOR1 を発現する遺伝子組換えカイコガを作成した。

PxOR1 はコナガの性フェロモンの主成分である Z11-hexadecenal (Z11-16:Ald) の特異的受容体である⁽¹⁰⁾。性フェロモン受容体遺伝子がフェロモン源定位行動の匂い選択性の決定因子であれば、PxOR1 発現カイコガは通常のカイコガが反応を示さない Z11-16:Ald に対してフェロモン源定位行動を起こさずである。まず、

PxOR1 発現カイコガのボンビコール受容細胞の活動を調べた結果、Z11-16:Ald 刺激に対して特異的に神経興奮を起こすことが明らかになった。つづいて、PxOR1 発現カイコガの行動を観察したところ、Z11-16:Ald に対して選択的に濃度依存的な匂い源定位行動を発現し（図 3A, B）、実際に風洞内で Z11-16:Ald 源に定位することが示された（図 3C）。さらに、ボンビコール受容細胞の応答性を改変した組換えカイコガの脳の構造を調べた結果、性フェロモンの情報を処理する触角葉大糸球体と呼ばれる領域に変化はみられず、行動の変化が脳内の情報処理の変化によるものではなく、PxOR1 の発現によるボンビコール受容細胞の匂い選択性の改変によることが示された⁽⁴⁾。

これらの結果から、カイコガオスのフェロモン源定位行動の匂い選択性はボンビコール受容細胞で発現する嗅覚受容体の匂い選択性によって決定することが明らかになり、遺伝子組換えによりボンビコール受容細胞に嗅覚受容体を導入することでカイコガの匂い選択性を人為的に操作できることがわかった。すなわち、標的とする匂い分子に反応する嗅覚受容体をボンビコール受容細胞で発現させることにより、標的の

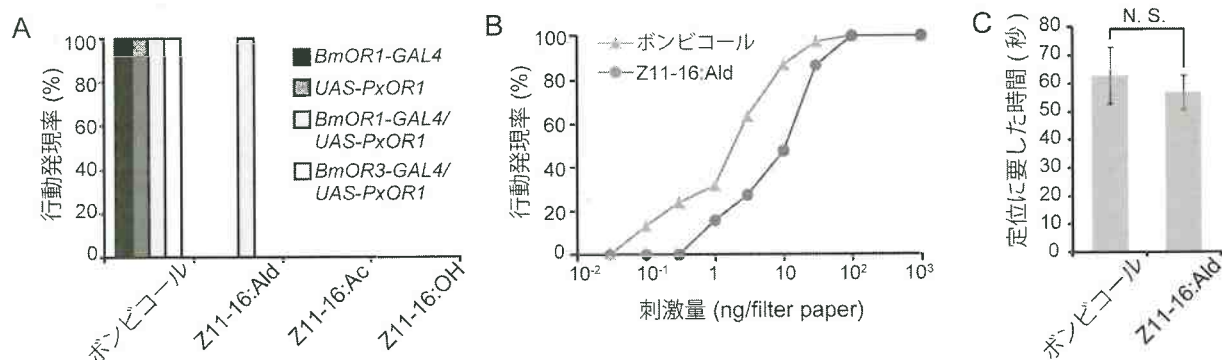


図3 PxOR1 発現カイコガオスの Z11-16:Ald に対するフェロモン源定位行動の発現⁴⁾

(A) ボンビコールとコナガフェロモン成分に対して行動を発現した個体の割合 PxOR1 をボンビコール受容細胞で発現する系統 (BmOR1-GAL4/UAS-PxOR1) では全個体が Z11-16:Ald (100 ng/filter paper) に反応を示した。BmOR3-GAL4/UAS-PxOR1 : PxOR1 をボンビコール受容細胞で発現する系統、BmOR1-GAL4, UAS-PxOR1 は PxOR1 を発現しないバックグランド系統。(B) PxOR1 発現オスの Z11-16:Ald への濃度依存的応答 (C) PxOR1 発現オスのボンビコールまたは Z11-16:Ald 匂い源への定位時間の比較 100 ng の各物質をしみこませたろ紙をそれぞれ匂い源とした。定位時間に有意差は認められなかった。(参考文献 4 から改変して引用)

匂いを検出し、発信源に定位する匂いセンサとしてカイコガ個体を利用可能になることが期待される（図4）。

なお、今回は特性が明確なコナガの性フェロモン受容体を用いたが、センサとしてのニーズが考えられる匂い物質の多くは一般臭の嗅覚受容体により検出される。そのため、今後、一般臭の嗅覚受容体においても同様の手法でフェロモン源定位行動の匂い選択性を改変できることを検証する必要があるが、フェロモン受容体と一般臭の嗅覚受容体は同じ遺伝子ファミリーに属することから、その可能性は高いと考えられる。

おわりに

本稿で解説したように、昆虫の嗅覚受容体の特性を生かした匂いバイオセンサ構築のための基盤技術が確立してきた。細胞型、カイコガ生

体を用いたいずれのセンサにおいても重要となるのは、どのような嗅覚受容体をセンサ素子として利用するかという点である。これまで、昆虫嗅覚受容体は約100種類において匂い応答特性が明らかにされており、多数の匂い物質に幅広く応答するものから非常に選択性の高いものまで、様々な応答スペクトルをもつ受容体が報告されている。今後、多くの昆虫種から嗅覚受容体を同定し、センサ素子のレパートリーを増加させることが重要である。

匂いの検出に加えて、匂いの発信源の探知が可能となれば、例えば被災地でがれきに埋もれた人の救助や危険物の場所の特定など、センサの用途が大きく増大することは間違いない。この点では、現状では匂い源の探知が可能なカイコガ生体を用いたセンサに大きな優位点がある。一方で、これまでに筆者らはカイコガオスの匂い源探索アルゴリズムをロボットに実装した匂い源探索ロボットの開発に成功している⁽¹¹⁾。昆

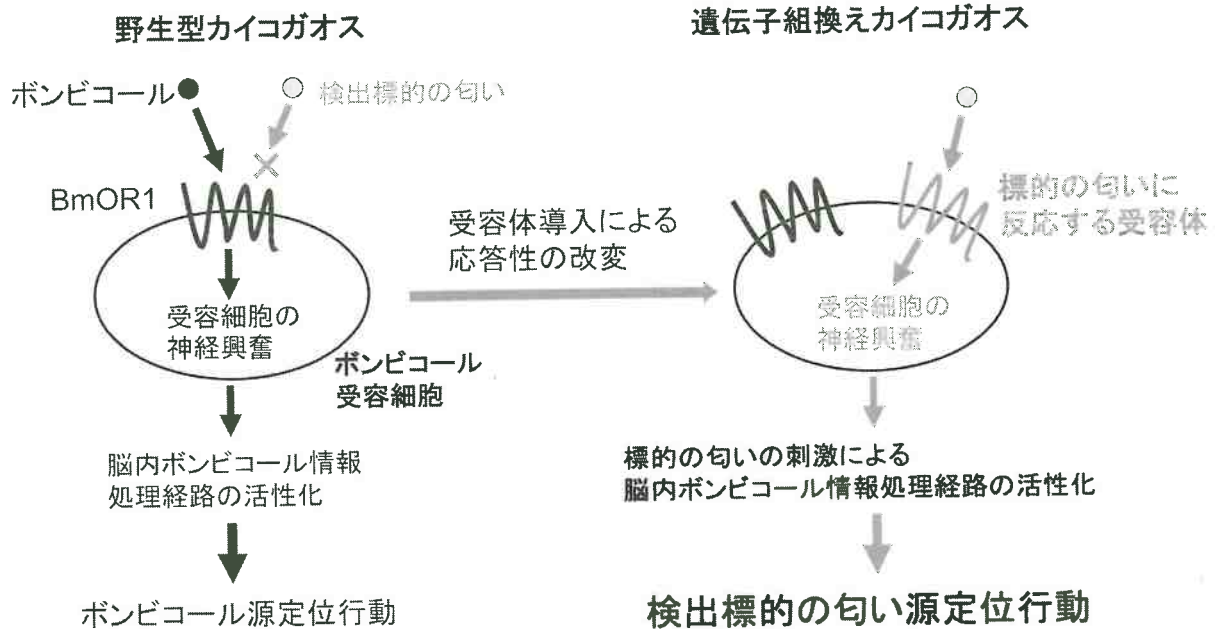


図4 匂い源探知カイコガのコンセプト図

野生型のカイコガオスでは、ボンビコールが BmOR1 に結合し受容細胞の神経興奮を引き起こす。この情報が脳で処理されボンビコール源への定位行動が発現する（左）。遺伝子組換えにより、ボンビコール受容細胞に標的とする匂いに対する受容体を導入することで、受容細胞が標的の匂いに対して神経興奮を起こすように改変され、標的の匂い源への定位行動が発現する（右）。簡略化のため、この図では Orco は省略した。

虫嗅覚受容体を利用し、昆虫の触角と肉薄する高感性、高選択性、リアルタイム性を有する細胞型センサの構築が進めば、このロボットと融合することで、昆虫と同等のセンサ機能をもつ匂い源探知ロボットの開発も可能となるだろう。

謝 辞

アフリカツメガエル卵母細胞を利用した研究は、東京大学生産技術研究所の竹内昌治准教授、三澤宣雄博士（現、豊橋技術科学大学）との共同研究で行ったものである。フェロモン受容体遺伝子組換えカイコガの研究は東京大学先端科学技術研究センターのHaupt Stephan Shuichi博士、農業生物資源研究所の田村俊樹博士、瀬筒秀樹博士、内野恵郎博士、小林功博士、福岡大学の横張文男教授、慶應義塾大学の西岡孝明教授（現、奈良先端科学技術大学院大学）との共同研究で行ったものである。この場を借りて深く御礼申し上げる。

参考文献

- 1) K. Arshak *et al.* (2004), *Sensor Review*, 24, 181-198
- 2) 藤田博之 (2005), センサ・マイクロマシン工学, オーム社
- 3) N. Misawa *et al.* (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 107, 15340-15344
- 4) T. Sakurai *et al.* (2011) *PLoS Genetics*, 7, e1002115
- 5) K-E. Kaissling (1987) R. H. Wright Lectures on Insect Olfaction. (Colbow K, ed.), Simon Fraser Univ., Burnaby.
- 6) K. Sato *et al.* (2008), *Nature*, 452, 1002-1006
- 7) R. Glatz, K. Bailey-Hill (2011) *Prog. Neurobiol.*, 93, 270-296
- 8) K-E. Kaissling *et al.* (1978) *Naturwissenschaften*, 65, 382-384
- 9) T. Nakagawa *et al.* (2005) *Science*, 307, 1638-1642
- 10) H. Mitsuno *et al.* (2008) *Eur. J. Neurosci.*, 28, 893-902
- 11) R. Kanzaki *et al.* (2005) *Chem. Senses*, 30 (suppl 1), i285-i286

◀ 特集 ▶

昆虫病原糸状菌 *Nomuraea rileyi* の発芽促進物質の開発¹熊本県農業研究センター農産園芸研究所²東海大学農学部バイオサイエンス学科野田孝博¹・小野政輝²・飯牟禮和彦¹・荒木朋洋²

昆虫病原糸状菌 *N.rileyi* の寄主昆虫の一種であるカイコから、メタノール抽出、酸分解処理、2種の溶媒分配、3種のカラムクロマトグラフィーにより発芽促進物質の単離に成功した。精製された発芽促進物質は種々の機器分析により、その化学構造を 2*S*-amino-tetradeca-4-ene-1,3*R*-diol (D-erythro-C₁₄-スフィンゴシン) と決定した。さらに、スフィンゴシンの炭素鎖長の違いによる活性を比較した結果、炭素鎖が 14 よりも短くても、長くても活性は劣り、炭素鎖 14 のスフィンゴシンにおいて特異的に高い発芽促進活性を示した。

1. はじめに

昆虫病原糸状菌 *Nomuraea rileyi* は昆虫に対し殺虫活性を有する天敵微生物であり、本菌に感染し死亡すると昆虫表面に緑色の分生子を叢生するため‘緑きょう病’と呼ばれている(図 1)。本菌はチョウ目昆虫に対し多くの感染例が報告されており、特にヤガ科昆虫への感染力が強い¹⁾。西南暖地において多くの農作物を加害するヤガ科の重要害虫であるハスモンヨトウ、オオタバコガ、ヨトウガ等に対して殺虫活性を有することから、害虫防除への応用が期待される。また、社会的にも食の安心安全や環境問題に対する関心が高く、これら視点からも天敵微生物の活用が期待される。

このように昆虫病原糸状菌は防除資材として安全や環境面で期待される反面、実用場面では殺虫効果が不安定になりやすいという欠点がある。というのも、経皮的に感染する天敵糸状菌において感染が成立するためには、糸状菌の

NODA Takahiro¹, ONO Masateru², IIMURE Kazuhiko¹, ARAKI Tomohiro²

¹〒861-1113 熊本県合志市栄 3801

²〒869-1404 熊本県南阿蘇村

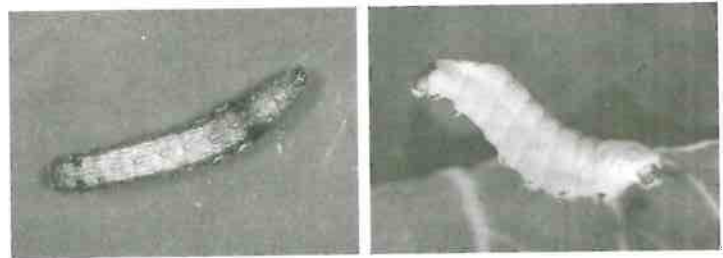


図 1 ハスモンヨトウの *Nomuraea rileyi* による感染
【左図】健全虫, 【右図】病死虫

分生子が寄主昆虫表面に付着し高湿度・適温条件下で発芽し表皮を貫通し虫体内に侵入しなければならず、しかも、分生子付着後から侵入までに持続的に長時間の感染好適環境が要求される²⁾。その間乾燥、太陽光あるいは脱皮等の環境的・生物的諸要因で不活性化されると感染成立が妨げられ感染効率が低下する³⁾。このように、感染成立が環境条件に大きく影響されやすいことが野外環境下で殺虫効果が不安定になりやすい一因となっている。

このような中、寄主表面に付着した分生子の発芽あるいは寄主表皮由来成分を含む培地での発芽が通常的人工培地での発芽と比較し発芽が促進される等特異な挙動をしめすという興味深い報告がある^{4,5)}。このような分生子の発芽を促進する生理活性物質(発芽促進物質)は、昆虫病

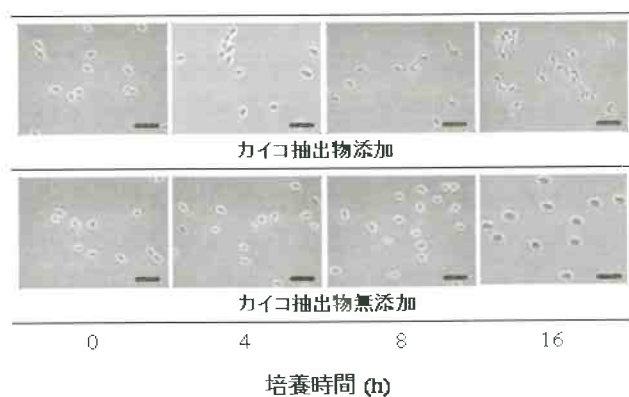
原糸状菌の感染の安定化に寄与するとともに、寄主昆虫表面での分生子発芽メカニズムの解明につながると考えられる。しかし、現在においてもこのような特異な発芽挙動を導く因子は明らかにされていない。そこで本研究では、発芽促進物質の解明と応用技術を検討した。

2. カイコの生体成分における発芽促進効果

N. rileyi の寄主昆虫の一種であるカイコの抽出成分が本菌分生子の発芽におよぼす影響を調査した(図2)。その結果、カイコ抽出物を培地に加えると、培養4時間後から分生子の発芽が観察されるのに対し、抽出物を加えなかった場合には、培養8時間後においても分生子の発芽は観察されなかった。また、経時的に分生子の発芽を観察すると、カイコ抽出物の有無により最終的な発芽率には大きな影響はないものの、抽出物を添加した場合には発芽までの誘導期が約1/3と大幅に短縮された。つまり、カイコの抽出成分が発芽促進物質を含んでいることが明らかとなった。

3. 発芽促進物質の分離・精製

まず取り組んだのは、目的物質を単離する際



に不可欠となる生物活性を評価する生物検定法の開発である。そのために観察時間帯、培地の組成などを検討した。その結果、培地にペプトン水溶液を使用し、培養10時間後(23°C)に50%の発芽率を得るのに必要な成分の濃度(EC_{50} , the effective concentration for a 50% germination rate)を発芽促進活性の指標とする生物検定法を開発し、この値を指標として目的成分の濃縮を進めた。

次に構造解析に必要とされる量の発芽促進物質を単離するために、カイコ1.0 kgを材料にして分離・精製を試みた。その結果、メタノール抽出、酸分解処理、2種類の溶媒分配により分画し、得られた活性画分を順相、逆相さらにはSephadex LH-20の3種類のカラムを用いて目的成分の分離を行った(図3)。その結果、活性画分にメタノール抽出液と比較すると46,000倍以上の活性を有する12.4 mgの無色ろう状物質の単離に成功した⁶⁾。

4. 発芽促進物質の化学構造

単離した高純度の発芽促進物質について種々のNMRスペクトル及びMSスペクトル等で解析すると、発芽促進物質として単離された成分は2*S*-amino-tetradeca-4-ene-1,3*R*-diol、つまり既知物質であるD-erythro-C₁₄-Sphingosine

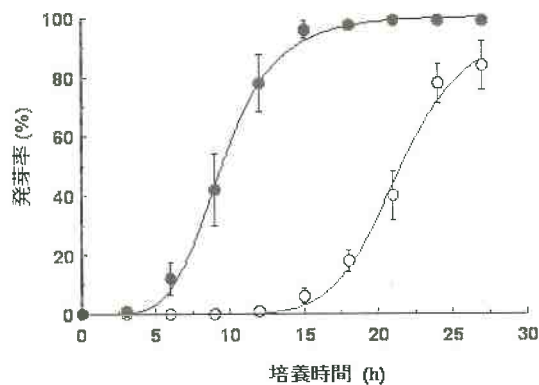


図2 カイコ抽出物が *N. rileyi* 分生子発芽に及ぼす影響
【右図】 ● : カイコ抽出物添加, ○ : カイコ抽出物無添加

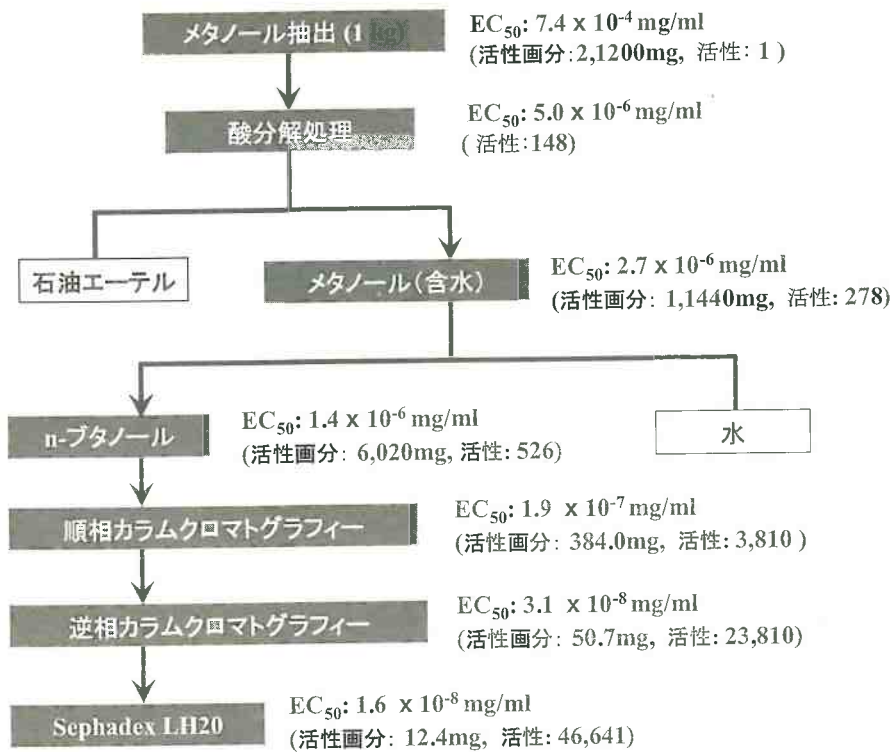


図3 発芽促進物質の精製行程

(C₁₄-Sph(スフィンゴシン))であることが明らかとなった(図4)。なお、本活性成分の精製過程において酸分解処理が最も効果的な工程であった。分解反応により化学構造の変化が考えられるが、種々のクロマトグラフィーにおいて酸分解処理前後の活性成分の挙動が一致することから、酸分解前後で発芽促進物質の化学構造の変化はなかったと考えられた。そのため活性が向上した理由は、活性を示さない前駆体から酸分解による分解産物として活性物質が生成した結果、活性成分の濃度が向上したためと考えられた。そして構造解析によって、発芽促進物質

がC₁₄-Sphであることが明らかとなり、前駆体と想定されるのはセラミドなどの複合スフィンゴ脂質であると考えられた。つまり複合スフィンゴ脂質が酸分解によりアミド結合が切断されて活性成分であるC₁₄-Sphが生じたものと考えられた。そのため、発芽促進物質を効果的に調製するためには、前駆体と考えられるセラミド等を効率的に抽出し、分解処理によって発芽促進物質を得ることが有効と考えられた。

次に構造活性相関について検討した。スフィンゴシンは生物種により12~22と多様な炭素鎖を持つことが知られている⁹⁾。そこでスフィンゴシンの炭素鎖長の違いが発芽促進活性に及ぼす影響について調査した。その結果、今回精製したのと同じC₁₄-Sphが最も高い活性を示した。次いでC₁₂-Sph、C₁₆-Sphの順に活性が低下した。C₁₈-Sphはほとんど活性を示さなかった。この結果から炭素鎖14よりも長くても短くても活性が低下することが明らかになった(図5)。

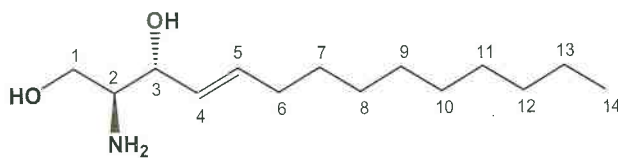


図4 発芽促進物質の化学構造
(D-erythro-C₁₄-Sphingosine)

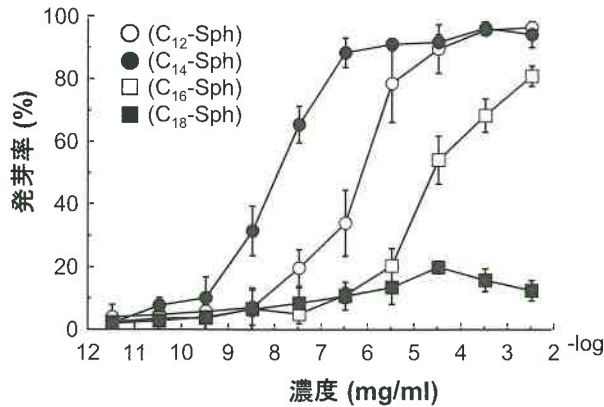


図5 スフィンゴシンの炭素鎖長が発芽促進活性に及ぼす影響

5. C₁₄-Sph 誘導型発芽における補助因子

発芽促進物質を精製するに当たり、ペプトン溶液を用いた生物検定法によって発芽促進活性を評価した。しかし、検定溶液からペプトンを省くと C₁₄-Sph の発芽促進活性は大幅に低下した。そのため、C₁₄-Sph による発芽促進活性を得るための補助因子の存在が示唆された。ペプトンの培地への添加の主な目的は、栄養素としての窒素源、特にアミノ酸に関する成分の供給であることから、補助因子としての窒素成分の影響が考えられた。

そこで種々のアミノ酸及び無機体窒素が発芽促進活性に及ぼす影響について調査した。その結果、アミノ酸であるアラニン およびヒスチジンにおいて高い補助因子活性が認められた¹⁰⁾。

そこで、アミノ酸の中で補助因子活性の最も高かったアラニンを用いて補助因子の濃度と C₁₄-Sph の発芽促進活性の関連について調査した。その結果、アラニン濃度が 5.0 mg/ml の時の C₁₄-Sph の活性(EC₅₀値)は 4.65×10^{-8} mg/ml であり、アラニンの濃度が 1/10 になると EC₅₀値は約 1/5 になり、さらにアラニンの濃度が 1/10 になると EC₅₀値は約 1/300 倍に低下した。このように、C₁₄-Sph の発芽促進活性は補助因子成分の濃度に依存していることが明らかとなった。

6. 寄主昆虫表面のアミノ酸

寄主昆虫表面に付着した分生子の電子顕微鏡観察により、付着後 6~8 時間で発芽し始める分生子が存在することが報告されている⁴⁾。このことは寄主表面における分生子発芽が C₁₄-Sph 誘導型であり、寄主表面において C₁₄-Sph 及びその補助因子活性をもつアミノ酸が存在することが示唆される。そこで、寄主昆虫としてハスモンヨトウを用いて昆虫表面における C₁₄-Sph 及びアミノ酸について調査した。その結果、発芽促進物質である C₁₄-Sph は 1.18×10^{-6} mg/cm² が検出された。一方、アミノ酸に関しては 17 種類が検出されたが、C₁₄-Sph の発芽促進活性効果への補助因子活性が高かったアラニン (6.0×10^{-4} mg/cm²) とヒスチジン (1.4×10^{-4} mg/cm²) はそれぞれ全アミノ酸の 8.9% 及び 2.1% とマイナーな存在であった。そこで、上記に得られた昆虫表面の C₁₄-Sph 及びアミノ酸の分析結果をもとに、各組成比が、検出量と同様になるように調製した種々の濃度の溶液 (1~10 cm² 検出量/1 ml) を供試して発芽促進効果を調査した。その結果、供試溶液における 10 時間後の発芽率が 11.4~30.2% と一定の発芽促進効果が得られ、*N. rileyi* の分生子が寄主昆虫表皮の表面において利用し得るアミノ酸及び C₁₄-Sph が存在することが認められた。しかしながら、その効果は十分ではなかった¹⁰⁾。

N. rileyi を防除資材として効果を得るには、寄主昆虫表面で十分な分生子発芽を得ることが重要と考えられる。したがって、*N. rileyi* を防除資材として使用する際に、散布発芽促進物質及び補助因子成分を供給することによって寄主表面での発芽促進効果を高め、ひいては感染効率の安定化につながると考えられた。

7. 発芽促進物質の防除技術への応用

本研究で、*N. rileyi* の発芽促進物質が C₁₄-Sph であることを明らかにした。このような発芽促進物質を感染成立の時間を短縮するた

めに活用できれば、長時間の高湿度等の環境要求性を低下させることができ、ひいては昆虫病原性糸状菌製剤の効果の安定に寄与すると考えられた。そこで、 C_{14} -Sph を用いて前処理時間（寄主昆虫へ菌接種前に分生子を予め C_{14} -Sph と共に前培養する時間）が感染時間におよぼす影響について *in vitro* で検討した。その結果、 C_{14} -Sph 存在下で 3~6 時間程度前処理することによって感染所要時間は無処理と比較し約 1/2 と有意に短縮された¹¹⁾。これらの結果から、 C_{14} -Sph が *N. rileyi* の補助剤としての利用可能性が示唆された。

8. おわりに

本研究において得られた発芽促進物質及びその補助因子は、*N. rileyi* の実用化に際し、補助剤としての利用可能性が示唆され、昆虫病原性糸状菌製剤の新しい利用技術へ展開できるものと期待された。また、本研究で得られた成果は *N. rileyi* 分生子の寄主表面における発芽の現象や寄主認識メカニズムを分子レベルで理解する足がかりとなるようになることが期待された。

なお本研究の一部は財団法人住友財団成 18 年環境研究助成、独立行政法人科学技術振興機構平成 19 年度シーズ発掘試験、財団法人くまもとテクノ産業財団平成 20 年度バイオ産・学・行政共同研究等助成事業及びバイオテクノロジー研究推進会平成 21 年度研究助成により実施した。また、本研究の推進に関し、ご協力を頂いた研究者及び関係者各位に深謝する。

参考文献

- 1) Ignoffo C.M.(1981), Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980 (Burgess H.D.ed.),pp.531-538, Academic Press, New York
- 2) 河上 清ら(1965), 蚕糸研究, 56, 35-41
- 3) Ferron P.(1978), *Ann. Rev. Entomol.*, 23, 409-442
- 4) Boucias D.G. *et al.*(1982), *J. Invertebr. Pathol.*, 39, 338-345
- 5) Boucias D.G. *et al.*(1988), *J. Invertebr. Pathol.*, 51, 168-171
- 6) Noda T. *et al.* (2010), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74, 563-568
- 7) Noda T. *et al.* (2010), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74, 1226-1230
- 8) Gaver R.C. *et al.* (1965), *Am. Oil Chem. Soc.*, 42, 294-298
- 9) Hirabayashi Y. *et al.* (2006), Sphingolipid Biology (Igarashi Y. and Merrill A.H.,eds.), p.6, Springer-Verlag, Tokyo
- 10) Noda T. *et al.* (2011), *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 75, 771-773
- 11) Noda T. *et al.* (2011), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75, 373-375

◀ 国内情報 ▶

皮むきと太さ判別が同時に行える長ネギ調製機

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

藤岡 修・貝沼秀夫・紺屋朋子

空気使用量を減らして小型のエアコンプレッサでも高能率に皮むきができ、また、太さ判別機能を利用して誰でも容易に太さ選別ができる、新しいネギ調製機を開発した。性能試験の結果、開発機を用いることで皮むき作業率は最大 30%程度向上し、空気使用量を最大半減させることができた。また、太さ判別精度は熟練者と同程度であった。開発機は 2011 年 4 月より市販化されている。

はじめに

長ネギ(白ネギ)は比較的機械化が進んでいる作目の一つである。野菜作で常に問題となる収穫・調製作業についても、農業機械等緊急開発事業(緊プロ事業)で開発した自走式収穫機や全自動調製機などの活用が図られ、移植・管理作業を含め機械化一貫体系がほぼ確立されつつある。

機械化により、これまで作業時間の多くを占めていた調製作業が高能率に行えるようになった。しかし、皮むき作業時に大量の圧縮空気が必要となり、大型のエアコンプレッサを導入することで、電気設備を変更せざるを得なくなる場合がある。

一方、長ネギの出荷は個選共販体制をとる産地が多く、それぞれの農家が皮むき作業後に太さなどの出荷基準に応じて選別している。太さによる選別は作業者が目視で行うことが多いため、共販体制をとる産地では選別結果のばらつきを小さくするために、目揃い会や抜き取り検査などを行っている。太さや形状によって分別する自動選別機もあるが、共同で調製や選別作業を行う施設での利用が中心である。

FUJIOKA Osamu, KAINUMA Hideo, KONYA Tomoko

〒331-8537 さいたま市北区日進町 1-40-2

以上のことから、空気使用量を減らして小型のエアコンプレッサでも高能率に皮むきができ、また、太さ判別機能を利用して誰でも容易に太さ選別ができる、新しいネギ調製機を開発した。

なお、本課題は農林水産省の「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」で採択された「寒冷地での夏取りネギ栽培を基幹とした高効率機械化体系の確立」の課題(秋田県, 中央農研, 生研センター)で取り組んだものであり、(株)マツモトと共同研究契約を結んで実施した。

1. 新しい皮むき技術の検討

慣行の皮むき機は、左右一対の固定した直管(固定ノズル)から圧縮空気をネギ表面に噴射して皮をむく。狭い範囲にしか圧縮空気が当たらず、全体に当てるためにはネギをひねる動作が必要となり、皮むきに時間を要する。皮むき作業の能率を向上させるには、広い範囲に圧縮空気を当てる必要があるが、ノズルの本数を増やすと空気使用量の増大を招いてしまう。

一方、工業分野では、水分除去やバリ取りのために回転ノズルを使用する例がある。回転ノズルは、ラップ状に開口したノズルカバーと圧縮空気を通す樹脂素材等でできた柔軟なチューブで構成される。ノズルカバーの内壁に沿って

チューブが回転しながら圧縮空気を噴射し、広い範囲に圧縮空気を当てられることが特徴である。この回転ノズルを長ネギの皮むきに適用すれば、ネギ表面の広い範囲に圧縮空気を当てることができ、皮むき時間（圧縮空気の噴射時間）が短縮され、作業能率の向上と空気使用量の節減につながると考えた。

回転ノズルの噴射特性を把握するため、慣行の皮むき機で使われている固定ノズル（(株)マツモト、噴射口径 2.5mm×2 頭口）と、工業用回転ノズル（(有)ガリユー「SGR-90」、チューブ内径 2.5mm）を用いて、圧縮空気の噴射圧力分布を調査、比較した。噴射圧力分布の測定には、シート状の感圧センサを持つ面圧力分布測定システム「I-SCAN」（ニッタ(株)、センサ部：84mm×84mm）を用いた。その結果、固定ノズルは高い圧力の分布が狭い範囲に限られるのに対して、回転ノズルはその範囲が円周状に広がる様子が明らかになった（図 1）。また、回転ノズルでは高い圧力の部分が円周上を刻々と移動していることから、ネギ表面へ小刻みに打撃を与える作用があり、より効果的に皮むきができると考えられた。

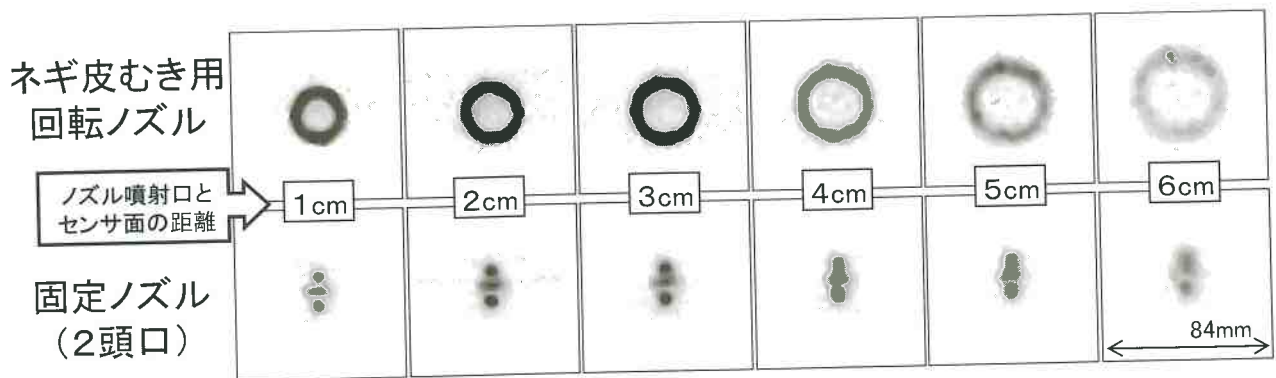
ネギの皮むき用に特化させた回転ノズルを新たに開発した（図 2）。主な改良点は、ネギに付着した土砂が飛散してノズル部材が摩耗することを抑えるために、磨耗に強いステンレス管をノズルカバーに、ウレタンゴムをチューブとし

て用いた。また、高能率に皮むきを行うためには、むいた皮を吹き飛ばす風量も必要となるため、回転ノズルのチューブ内径を拡大した。チューブ内径を大きくすると空気流量は増加するが、皮むき時間が短くなるため、既存の工業用回転ノズルと比べ、空気使用量を増やさずに能率が向上できると考えた。

2. 太さ判別技術の検討

長ネギは軟白部の太さが出荷規格の一つになっている。階級毎に数値が細かく決められており、目視で行う太さ判別は、熟練者であっても精度を一定に保つことが難しい。さらに、パートタイマーを雇用する場合には、判別精度の維持はさらに難しくなる。

一方、工業分野では丸い管などの太さを測るセンサとして、投光部から带状に照射したレーザー光が受光部へ届く前に、物体がどの程度光を遮ったかを調べて太さを計算する外径計測器の利用例がある。また、比較的安価なファイバセンサを利用し、带状の光を遮ることで物のあるなしの検出に利用されるエリア式ファイバセンサがある。前者は測定精度が高い分、価格が高く農業用途での利用は難しい。後者は物が光を遮ることで受光量（電圧値）が減少した割合から太さを求めることができるものの、外径計測器と比べると測定精度は低い。



- ※1 0.001MPa(白)から0.05MPa以上(黒)までを13階調に分けて表示。
- ※2 データ取得周期100fpsで3秒間計測した時のピーク圧力分布を表示。
- ※3 圧縮空気の圧力は0.5MPaに設定。

図 1 ノズルによる噴射圧力分布の違い

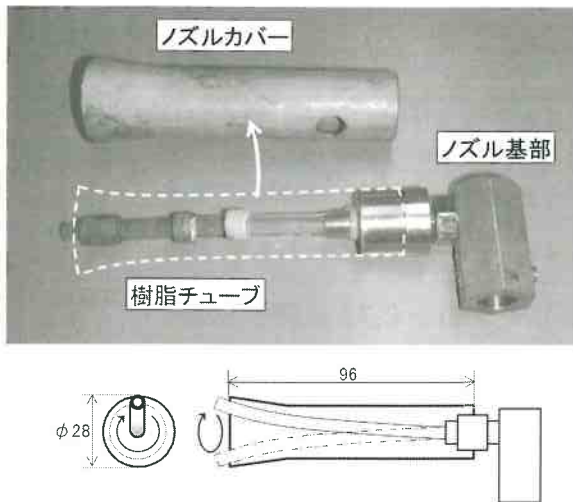


図2 ネギ皮むき用回転ノズル

ネギの太さ判別は mm 単位で行われることから、後者の測定精度で十分な判別が行えると考えられ、コストも考慮して後者を太さ判別センサとして用いることにした。これを皮むきノズルの後ろに設置することで、皮むきと同時に太さ判別ができる。なお、太さ判別の基準値は産地毎に異なる場合があるため、制御部のタッチパネルで容易に変更できるようにした。

3. 試作機と性能試験

皮むき部にネギ皮むき用回転ノズル、太さ測定部にエリア式ファイバセンサを備えた試作機を製作した(図3)。試作機には、空気使用量を計測する気体流量計、処理本数を計測するカウンタ機能なども組み込んだ。

秋田県内のネギ産地において試作機の性能試験を実施して、皮むき作業能率、空気使用量、電力消費量(三相)、太さ判別精度や取扱性を調査した。なお、対照機として各調査農家で普段使用している慣行の皮むき機を供試して比較を行った。

[試験期間]2010年7月26日～11月18日

[試験地]秋田県内のネギ生産農家 3軒

[供試品種]夏扇パワー、夏扇3号、夏扇4号 他

[供試機]

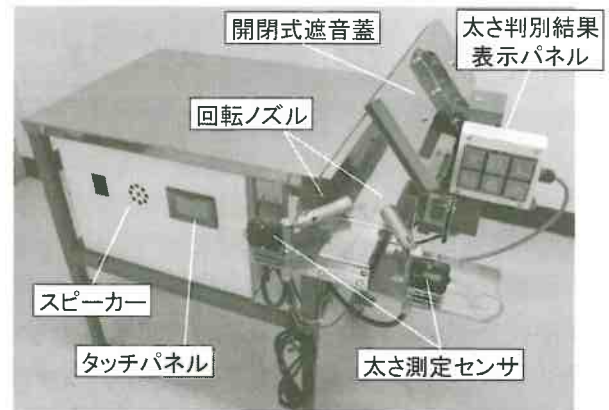
①試作機：ネギ皮むき用回転ノズル(チューブ

内径 3.0mm)

②慣行機：

農家A・C M社 MED-NL：1頭口の固定ノズル(噴射口径 3.5mm)

農家B M社 MED：2頭口の固定ノズル(噴射口径 2.3mm)



[寸法]幅100cm 奥行65cm 高さ80cm、[質量]48kg
[適応コンプレッサ]2.2kW(3.0PS)以上

図3 試作機

(1) 皮むき作業能率と空気使用量、電力消費量

性能試験の結果、皮むき作業能率は慣行機と比べ2～31%向上した(表1)。また、単位本数あたりの空気使用量は慣行機の46～83%に節減でき、単位空気量あたりの処理本数を求めると慣行機の1.2～2.2倍に増加した。空気使用量の減少に伴い、単位本数あたりの電力消費量(三相；エアコンプレッサ稼働分)も減少し、慣行機と比べ33～72%に節減できた。

(2) 太さ判別精度

機械による太さ判別と目視による太さ判別の精度を比較した結果、試作機の判別精度は平均63%(56～74%)であり、熟練者の判別精度の平均68%(62～72%)とほぼ同程度であった。判別精度は、ネギの軟白径を外径計測器で測って求めた判別結果(階級値)を正解とし、試作機、熟練者による判別結果の正解率とした。

表1 皮むき作業能率と処理本数、電力消費量、太さ判別精度の比較

| 項目 | 皮むき作業能率 (本/h) | | | 単位空気量当たりの 処理本数 (本/100L) | | | 単位本数当たりの 電力消費量 (kWh/100本) | | | 太さ判別精度 | | 供試品種 |
|----|------------------|-----|------|----------------------------|-----|------|------------------------------|------|------|--------|-----|-----------------|
| | 試作機 | 慣行機 | 慣行比 | 試作機 | 慣行機 | 慣行比 | 試作機 | 慣行機 | 慣行比 | 試作機 | 目視 | |
| A | 730 | 604 | 1.21 | 4.7 | 2.1 | 2.20 | 0.47 | 1.43 | 0.33 | 74% | 72% | ホリトスター 夏扇パワー |
| B | 506 | 498 | 1.02 | 7.0 | 5.9 | 1.20 | 0.44 | 0.61 | 0.72 | 56% | 70% | 夏扇パワー 夏扇4号 |
| C | 388 | 296 | 1.31 | 6.1 | 4.3 | 1.42 | - | - | - | 60% | 62% | 夏扇パワー 夏扇3号 |

※単位本数当たりの電力消費量は、調査期間中の電力消費量の総和を処理本数の総和で除して算出した。
※機械選別は株元から15cm付近で計測、目視選別は軟白部中央付近で判断。

(3) 取扱性

被験者にアンケート調査を行った結果、回転ノズルを用いた皮むき作業は、一気に皮がむけることでストレスを感じずに作業が続けられる作業性の良さが評価された。また、とくに細いネギはノズルから噴射される圧縮空気によって左右にふられてノズルに接触、損傷することがあったが、回転ノズルでは広範囲に空気が噴出することからネギが左右にふられず、軟白部を傷つけずに皮むきできるなど仕上がりが具合の良さで高い評価を受けた。

一方、太さ判別機能については、誰が作業をしても熟練者並みの判別結果が得られることが評価されたが、センサの掃除が頻繁に必要なこと、判別精度をさらに向上させて欲しいなどの改善要望も出された。

おわりに

開発したネギ調製機は、2011年4月から共同開発企業の(株)マツモトより市販化されている(太さ判別機能は未搭載)。なお、ネギ皮むき用回転ノズルは、ニンニク調製機に用いられ2009年秋に市販化されている。

開発機を用いることで皮むき作業能率は最大30%程度向上し、空気使用量を最大半減させることが可能である。そのため、より低馬力のコンプレッサでも皮むき作業が可能となり、新規

導入時の初期投資を軽減できる。また、エアコンプレッサの稼働に要する電力消費量を最大1/3程度に節減できることから、生産費の軽減にも寄与できると考える。

これまで生産労働時間の約半分を占めてきた調製作業を省力化し、また、熟練を要することなく誰でも調製作業に従事できるようになることから、生産規模の拡大や雇用労力の活用といった場面で開発機が活躍することを期待したい。

なお、本研究の実施に当たっては、秋田県農林水産技術センター、実証試験対象農家、(株)マツモトなど関係各位に多大なるご協力を賜った。ここに記して改めて感謝申し上げたい。

参考文献

- 1) 藤岡修ら (2011), 平成22年度生研センター研究報告会資料, 77-85
- 2) 大森定夫ら (2009), ねぎ調製機, 特開2011-4669
- 3) 松本弘ら (2009), 長葱の皮剥ぎ処理機, 特開2011-41551

◀ 文献情報 ▶

乳牛及び肉用牛への性選別精液を用いた定時人工授精における人工授精のタイミングと受胎率について

Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm.

J.N.S. Sales^a, K.A.L. Neves^a, A.H. Souza^a, G.A. Crepaldi^a, R.V. Sala^a, M. Fosado^b, E.P. Campos Filho^b, M. de Faria^c, M.F. Sá Filho^a, P.S. Baruselli^a

^aDepartment of Animal Reproduction, FMVZ-USP, Prof. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-270, Sao Paulo, SP, Brazil. ^bSexing Technologies, 22575 Highway 6 South, Navasota, Texas, USA. ^cApta - Alta Mogiana Regional Center, Colina, SP, Brazil.

Theriogenology, 76, 427-435 (2011)

定時人工授精における使用精液の種類と人工授精のタイミングが受胎率に及ぼす影響が検討された。発情・排卵同期化処理のため、腔内留置型黄体ホルモン製剤 (CIDR) と安息香酸エストラジオール (EB) 投与し、8日後にプロスタグランジン F2 α 投与とともに CIDR を除去、その 24 時間後に EB が投与された。実験 1 では、CIDR 除去 54 あるいは 60 時間後に、3 頭の種雄牛由来の性選別精液 (2.4×10^6 精子/ストロー) あるいは非選別精液 (20×10^6 精子/ストロー) を用いて、420 頭のジャージー種未経産牛に人工授精が実施された。人工授精時間と種雄牛間で人工授精受胎率に相関が認められた ($P=0.06$)。すなわち、性選別精液使用時には、CIDR 除去 54 時間後 (16.2%) に比べて 60 時間後 (31.4%) に人工授精したときの受胎率が有意に高かった ($P<0.01$)。一方、非選別精液の場合には、人工授精時間による受胎率の差は認められなかった (54h=50.5% vs 60h=51.8%; $P=0.95$)。種雄牛間で受胎率に有

意な差は認められた ($P<0.01$) が、種雄牛と人工授精時間との間には相関は認められなかった ($P=0.88$)。実験 2 では、実験 1 と同様な処置が 289 頭の哺乳中 *Bos indicus* 牛に対して実施された。性選別精液による受胎率 (41.8%) は、非選別精液による受胎率 (42.8%) よりも低かった ($P=0.05$)。また、60 時間後人工授精区における受胎率 (50.8%) は、54 時間区 (42.8%) に比べて高い傾向が認められた ($P=0.11$)。実験 3 では、CIDR 除去 36, 48 あるいは 60 時間後に、339 頭の哺乳中の *Bos indicus* 牛に対して人工授精が実施された。排卵確認のため、1 日 2 回超音波画像診断が実施された。CIDR 除去後、平均 71.8 ± 7.8 時間で排卵がおこり、排卵近くに人工授精した場合の受胎率が高かった。すなわち、排卵前 0~12 時間での人工授精による受胎率 (37.9%) が最も高く、排卵前 12.1~24 時間 (19.4%) あるいは 24 時間以上前 (5.8%) の受胎率は有意に低かった。以上の結果から、定時人工授精において、性選別精液の利用は非選別精液に比べて受胎率の低下を招くことが明らかとなった。しかしながら、定時人工授精の実施を通常 CIDR 除去 54 時間後から 60 時間後に遅らせることにより、受胎率を高められることが明らかとなった。

牛繁殖農家の経営改善につながることから性選別精液の利用が広まってきているが、受胎率の低さが問題となっている。その原因として、精子濃度の低さや運動能保持時間の短さなどが指摘されており、また、乳牛の経産牛における受胎率の低さが問題となっている。今回、未経産の乳牛及び哺乳中の肉用牛に対しては人工授精時期を通常実施されているよりも遅らせることにより、受胎率が改善させうることが示された。乳牛・肉用牛の産次・泌乳ステージに見合った授精時期の検討がさらに行われ、性選別精液の有効活用がいつそう図られることを期待したい。

(抄訳：下司雅也, GESHU 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 ▶

植物の免疫受容体の安定度はSKP1-CULLIN1-F-box (SCF) を介したタンパク質分解系により制御を受ける。

Stability of plant immune-receptor resistance proteins is controlled by SKP1-CULLIN1-F-box (SCF)-mediated protein degradation.

Y.T. Cheng¹, Y. Li², S. Huang^{1, 3}, Y. Huang^{1, 3}, X. Dong⁴ and X. Li^{1, 3}

¹Michel Smith Laboratories, and ³Department of Botany, University of British Columbia, Vancouver, Canada, ²National Institute of Biological Science, Beijing, China, ⁴Department of Biology, Duke University, Durham, USA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 14694-14699 (2011)

核酸結合領域とロイシンリッチリピート領域を持つタンパク質(NLRs)は、植物ならびに動物においても免疫受容体としての機能を持つことが知られている。NLRs の過剰蓄積させた個体においては、しばしば自律的免疫反応を誘導することが報告されていることから、これら免疫受容体の発現・蓄積レベルは、生物体内において高度に制御されることが重要である。植物においては、*suc1* (suppressor of *npr1-1*, constitutive 1), *ssi4* (suppressor of salicylic acid insensitivity of *npr1-5*, 4)といったNLRs の gain-of-function 変異体において、SNC1, SSI4 タンパク質の安定性・活性が上昇することにより、病原菌の感染なしでも自律的な免疫反応が起こり、結果として植物体が矮小化することが知られている。これまでの研究で、NLRs のタンパク質安定化・活性化には RAR1-SGT1-HSP90 という分子シャペロンの一環が働くことが明らかとされ、正しい3次構造をとることが重要であると示されていた。興味深いことにこの分子シャペロン群の一つが、

タンパク質の分解に関わるユビクチンリガーゼ E3 複合体 SCF の一つ CULLIN1 と結合することが報告されていた。これらの先行研究から、著者らは NLRs タンパク質の制御において SCF 複合体の機能によるタンパク質のユビクチン化、プロテアソーム系による分解が重要な役割を果たしているのではないかと考え、実験を行った。

まず、シロイヌナズナ *SNC1* の gain-of-function 変異体 *snc1* ならびに、CULLIN1 の弱い loss-of-function 変異体 *cull-7* では、いずれもいくつかの病害抵抗性遺伝子 R 遺伝子の発現が上昇し、植物体が矮小化するが、その原因として *SNC1* タンパク質が野生型に比べて植物体内に多く蓄積することを見いだした。さらに、SCF 複合体で標的タンパク質の認識に関わるとされる F-box タンパク質群の中から、*SNC1* をターゲットとするために必要なものとして、CPR1 (At4g12560; Constitutive *PR* gene expression, 30) を選び出しその解析を行った。*cpr1* 変異体では上記と同様に植物体の矮小化と *PR* 遺伝子の発現量増加がみられた。さらに *snc1* 変異体において CPR1 を過剰発現させたところ、*SNC1* タンパク質の蓄積量は野生型と同程度まで減少し、*snc1* でみられた恒常的な免疫反応が抑えられ、矮小化からも回復した。また、植物体タンパク質を用いた免疫沈降実験の結果から、*SNC1* と CPR1 が結合し、*SNC1* がポリユビクチン化を受けることを明らかにした。

次に、*SNC1* 以外の NLRs として RPS2, RPS4 について *SNC1* と同様の実験を行ったところ、RPS4 ではポジティブな結果は得られなかったが、RPS2 では *SNC1* と同じように CPR1 と結合し SCF 複合体を介したタンパク質分解系の制御を受けることを見いだした。今回の場合、*SNC1* により配列相同性の高い RPS4 ではなく、RPS2 と CPR1 が特異的に結合するという結果は、SCF 複合体の認識特異性を研究する上でも興味深い結果であった。

以上のことから、*SNC1*, RPS2 という NLRs の機能においては、RAR1-SGT1-HSP90 複合体

によるタンパクレベルでの制御機構に加えて、SCF 複合体を介した分解が重要な役割を持つことを明らかにした。生物の免疫機構においては、病原体に対する迅速な反応を求められる一方で、過剰の免疫反応は個体にとって有害とな

るが、このようにして植物では免疫受容体のタンパク質レベル・活性を厳しく制御することによってこれを成し遂げていると考えられた。
(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 ▶

ヒト腸管微生物叢のエンテロタイプ

Enterotypes of the human gut microbiome.

Manimozhiyan Arumugam¹, Jeroen Raes^{1,2},
Eric Pelletier^{3, 4, 5} et al.

¹European Molecular Biology Laboratory, Meyerhofstrasse 1, 69117 Heidelberg, Germany. ²VIB-Vrije Universiteit Brussel, 1050 Brussels, Belgium. ³Commissariat à l'Énergie Atomique, Genoscope, 91000 Evry, France. ⁴Centre National de la Recherche Scientifique, UMR8030, 91000 Evry, France. ⁵Université d'Evry Val d'Essonne 91000 Evry, France.

Nature, 473, 174-180 (2011)

腸管微生物叢のヒト間の違いは、“門”レベルを基準とした分類では明らかになってきている。しかしながら、より詳細な分類基準となる“種”レベルでの構成や遺伝子プールについての知見は、ほとんど得られていない。また、世界の各地域におけるヒト腸管微生物叢の差についてもほとんど明らかになっていない。そこで、腸管微生物叢のヒト間の共通点と相違点に関して新規の知見を得ること、さらにその利用可能性を検討することを目的とし実験を行なった。具体的には欧州4か国（デンマーク、フランス、イタリア、スペイン）の22人の糞便からDNAを採取し、過去に知見のある日本人とアメリカ人のデータと合わせ計39人からメタゲノムマップを作成した。

その結果、世界の地域差に関係なく明確な3群（以降エンテロタイプ）に分類することが出来た。エンテロタイプ1は *Bacteroides* 属、エンテロタイプ2は *Prevotella* 属、エンテロタイプ3は *Ruminococcus* 属が優勢となり微生物叢が形成されていた。また、本実験で対象とした集団より数が多い154名のアメリカ人または85名のデンマーク人のデータで解析しても3

つのエンテロタイプのいずれかに属していたため、ヒト腸管微生物叢は、階層化されていることが示された。このことは、ヒトと腸管微生物叢のバランスのとれた共生状態がいくつかのパターンに限られていることを示し、それらが食物や薬剤摂取に対して異なる応答をしている可能性を示唆している。

このようにエンテロタイプは腸管微生物叢を構成する菌種によって主に決定される。しかしながらエンテロタイプの性質は、それを構成する主な菌種から決定出来るとは限らない。例えば、細菌の繊毛形成に関与するタンパク質である FimA と PapC の 90%以上は *Escherichia* 由来とのデータがあるが、*Escherichia* はエンテロタイプの中で優勢とはなっていない。このことからエンテロタイプの性質を把握するためには、腸管微生物叢の構成比ではなくゲノム情報等からその性質を分析することが重要であることを示している。

一方、腸管微生物叢のメタゲノム解析をすることでヒトの特性の指標となる遺伝子を同定することが出来た。例えば今回の検討から、グリコシダーゼやグルカンフォスホリラーゼのようなデンプン分解酵素は年齢の指標に、また ATPase 複合体をコードする遺伝子群は BMI の指標になることが推測された。さらに直腸結腸ガンやメタボリックシンドローム、糖尿病などの病気の診断に加え、事前に病気を予測することが出来る可能性も考えられる。

今回の検討ではヒト腸管微生物叢を3つのエンテロタイプに新規に分類することが出来た。エンテロタイプに分類することはヒトだけではなく他の生物にも応用できると考えられ、さらなる調査を行うことで宿主の特性とそれに関連する腸管微生物叢の性質を明らかにすることが期待される。

(抄訳：加藤慎二, KATO Shinji, カルピス株式会社, 発酵応用研究所)

生研センターからのご案内

「アグリビジネス創出フェア 2011」開催のお知らせ

アグリビジネス創出フェアは、農林水産省主催による技術交流展示会です。

平成23年度においては、11月30日（水）から12月2日（金）までの3日間、幕張メッセにおいて、盛大に開催されることとなっております。生産者、産業界、研究者、行政部局等の関係者が一堂に会する機会は、技術シーズとニーズに関わる幅広い人・情報の交流を通じて、食と農林水産の未来を拓く新たな連携の芽が育つこととなるでしょう。

- 会 期 2011年11月30日（水）～12月2日（金）
9：30～16：30
- 会 場 幕張メッセ6ホール
- 主 催 農林水産省
- 展示予定規模 180団体
- 予定来場者数 30,000人

詳細につきましては、下記のホームページをご覧ください。

<http://agribiz-fair.jp/>

<お問い合わせ先>

アグリビジネス創出フェア2011事務局（株式会社フジヤ）

電話：03（5560）7731 FAX：03（5548）2838

E-mail：agribiz-ex@fujiya-net.co.jp



バックナンバーのご案内
第 146 号
2011 年 7 月 15 日発行

特集 「きのこの最先端研究」

(総説)きのこに関する研究動向…健康素材としての栽培から効能解析を中心に… 江口文陽
食品中のきのこの DNA 鑑定 會見忠則
冬虫夏草など希少キノコの生理活性と新規栽培法の開発
…大賀祥治・楊 柏松・成 漢功・高野克太・孫 竹・チャン
ドラ ボクレル・孟 天暁・フェルザナ イスラム・楊 仲
凱・アーメッド イムティアジ
シイタケゲノム解読とその利用 宮崎安将・
金子真也・高野麻理子・中村雅哉・村田仁・馬場崎勝彦
マイタケ抽出成分の血糖値抑制機能 田中昭弘

国内情報

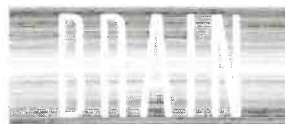
堆肥原料の簡易な通気抵抗測定装置
…………… 原田泰弘・皆川啓子

地域の先端研究

デュアル抵抗性遺伝子システムの発見と病害抵抗性作物の
創製に向けた技術開発 …………… 鳴坂義弘

文献情報

プロスタグランジンは羊における胚の伸長とインターフェ
ロントウの子宮内膜への作用を調整する
…………… (抄訳：下司雅也)
CLV3 ペプチド-FLS2 シグナル伝達系による幹細胞の免疫
機構 …………… (抄訳：高田美信)
トランスクリプトーム解析によるエタノールストレスに対
する一倍体、二倍体酵母の応答の違い
…………… (抄訳：金井宗良)



バックナンバーのご案内
第 145 号
2011 年 5 月 15 日発行

特集 「マグロ養殖の最先端研究」

(総説)クロマグロの増養殖に関する研究の現状と今後の展
望 …………… 升間主計
(総説)クロマグロ完全養殖の技術開発の動向と展望
…… 宮下 盛・村田 修・岡田貴彦・澤田好史・熊井英水
クロマグロの資源量を知るための資源評価
…………… 竹内幸夫

魚類の生殖細胞移植による新たな種苗生産技術の開発
—クロマグロを生むサバの作出をめざして— ……………
吉崎悟朗・矢澤良輔・岩田 岳・樋口健太郎・竹内 裕
地下海水を用いたクロマグロの陸上養殖

…………… 秋山信彦
クロマグロ種苗生産に対する民間企業の取組み～現状と課
題～ …………… 伊藤 暁

国内情報

高精度高速施肥機の開発 ……………
…… 紺屋秀之・林 和信・堀尾光弘・重松健太・吉野知佳

編集後記

147号をお届けします。本号では特集として「昆虫の能力を生かした新素材や新技術の開発研究」を取り上げました。

総説で木内信氏（農業生物資源研究所）に昆虫の利用とその能力を生かした新素材や新技術の開発についてご執筆戴くとともに、石橋純氏（農業生物資源研究所）に昆虫由来の抗微生物活性物質の利用、松浦健二氏（岡山大学）にシロアリの女王フェロモンの正体、鈴木幸一氏（岩手大学）にヤママユ由来のペントペプチド誘導体による細胞増殖抑制機能と応用開発、櫻井健志氏（東京大学）らに昆虫嗅覚受容体を利用した匂いセンサの構築、野田孝博氏（熊本県農業研究センター）らに昆虫病原糸状菌 *Nomuraea rileyi* の発芽促進物質の開発について、それぞれご執筆戴きました。

その他の研究情報としては、藤岡修氏（生研センター）らに皮むきと太さ判別が同時に行える長ネギ調製機についてご執筆戴きました。

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）、加藤慎二氏（カルピス株式会社）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147号

平成23年9月15日発行

発行人 前川 泰一郎

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）

〒331-8537 埼玉県さいたま市北区日進町1-40-2

TEL 048-669-9170 FAX 048-666-9266

e-mail brainki1@ml.affrc.go.jp

URL <http://brain.naro.affrc.go.jp/tokyo/>