

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

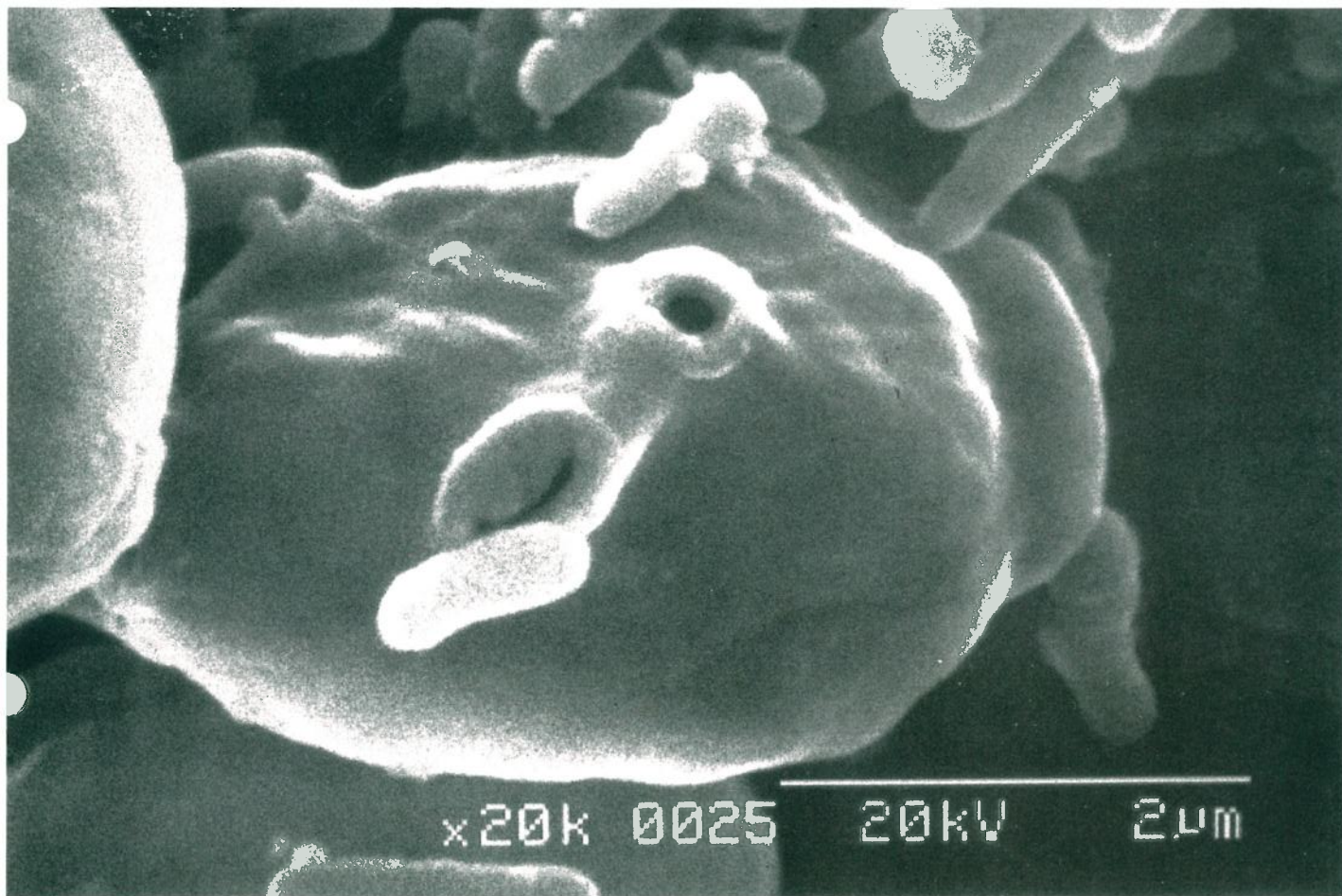
TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

第 15 号

SEPTEMBER 15, 1989



酵母(協会701号)に孔をあける

Rarobacter faecitabidus

(30°C, 4 時間反応)

(本文 4 ページ参照)

本号の紙面

国内情報	1
コブ目植物の育種, 排水処理微生物, C ₄ ・C ₃ 型光合成植物, 冷凍耐性パン酵母 の開発, 1 本鎖 DNA MBYMV のゲノム	
文献情報	17
ミトコンドリア内在性プラスミド, リボ ゾーム RNA プローブ, 転写複合遺伝子の 作出, T-DNA 挿入によるシロイヌナズ ナの突然変異, ゼブラフィッシュの突然 変異等	
海外便り	26
メルボルン大・植物細胞生物学センター	
国際学会レポート	29
植物膜輸送学会	

口 絵

国内情報

嵯峨直恒

コンブ目植物の育種におけるバイオテクノロジー…………… 1

蓼沼 誠

排水処理に強力な微生物「ラロバクター・フェータビダス」の活躍…………… 4

上野 修

光合成型がC₄型とC₃型に変換する植物の発見：その特性と意義…………… 7

高野博幸

冷凍耐性パン酵母の開発…………… 10

池上正人

1本鎖DNAウィルスであるmung bean yellow mosaic virusの
ゲノム構造…………… 13

文献情報

アカパンカビにおけるミトコンドリア内在性プラスミドの宿主非依存的転移…………… 17

系統発生学的染色：単一細胞同定用のリボゾームRNAに基づいたプローブ…………… 18

Turnip crinkle virus の virulent satellite RNAの病原性、

およびその他の機能領域の同定…………… 19

発現に関する転写因子を支配する複合遺伝子の染色体rearrangementによる作出…………… 20

ミトコンドリアのアセンブリー因子をコードする酵母HSP60遺伝子の特徴…………… 22

T-DNAの挿入により誘発されたシロイヌナズナのわい性突然変異…………… 23

ゼブラフィッシュ胚で細胞の運動と運命を変える突然変異…………… 24

海外便り

増澤 力

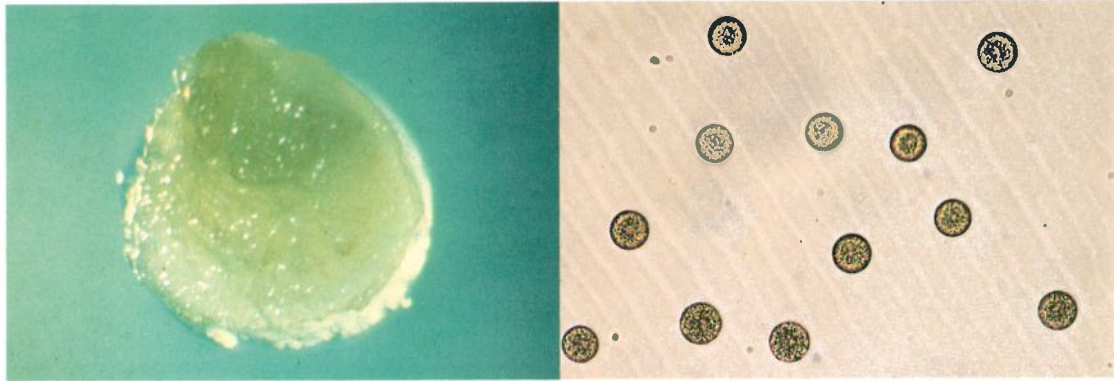
メルボルン大学・植物細胞生物学センター訪問記…………… 26

国際学会レポート

笠毛邦弘

第8回国際植物膜輸送学会に参加して…………… 29

コンブ目植物の育種におけるバイオテクノロジー (本文 1 ページ)



打ち抜き法によって得られたコンブ目植物 (*Macrocyctis*) の無菌組織より誘導されたカルス

アワビ消化酵素混液により単離されたコンブ目植物 (*Macrocyctis*) のプロトプラスト

光合成型がC₄型とC₃型に変換する植物の発見:

その特性と意義

(本文 7 ページ)



エレオカリス・ビビパラの陸生型(左)と水生型(右)

国内情報

コンブ目植物の育種における バイオテクノロジー

水産庁 北海道区水産研究所 藻類増殖研究室

嵯峨直恒

はじめに

我が国で食用となる海藻は少なく見積っても100種はあり、世界では200種を超しているといわれている¹⁾。食用海藻のメジャーなものとしては、アマノリ、コンブ、ワカメそしてアオノリなどがあげられるが、1986年の我が国での漁業統計によると、天然および養殖ものを合わせた全海藻生産高は約1,800億円である。そのうちコンブ類やワカメ類などを含むコンブ目植物の生産高は約500億円にも達しており、コンブ目植物はわが国の重要な海産作物である。

コンブ目植物の生産の向上には、多方面での増養殖技術の革新が必要である。なかんづく藻類育種技術の開発による優良品種の確保は、これからの養殖産業の発展には必須であるといえる。わが国においては、アサクサノリの養殖が江戸時代から行われてきたが、海藻の養殖が本格時に開始されたのは戦後のことであり、数十年とその歴史は浅い。よって育種開発のレベルも、農畜産などの諸分野と比べると著しく立ち遅れており、実際、コンブ目植物の近代的育種研究となると皆無に近い状態である。比較的育種が進んでいるとされているアマノリ類でも、養殖場で天然の交雑・突然変異の結果生じてきた諸形質を選抜育種することによる優良産業品種の育成という程度の現状である²⁾。

しかし、年々、海藻の養殖産業が成長し、大型化してゆくなかで、病害や地域ごとの品質ニーズの多様化に対応した、きめ細やかな育種研究（具体的には、高収量性や耐病性、そして味、色、形状、テクスチャに関する形質の改良など）の飛躍的発展が急務である。

コンブ目植物の育種研究においても、バイオテクノロジー等の革新技術を用いた研究の効率化が要求される時代となってきている。今回は、コンブ目植物を実験系としたバイオテクノロジーの四大分野、すなわち、組織培養・細胞工学・染色体工学・遺伝子工学について、筆者らの行っている研究を主として、その現状を簡単に紹介する。

1. 組織培養

海藻類の組織培養は1978年にChenとTaylorによりツノマタ類の無菌藻体を用いて行なわれたのが最初である³⁾。また、同年筆者等によりミツイシコンブのカルス様組織から単離された細胞からクローンコンブが作出された⁴⁾。現在までに海藻類の組織培養に関して10属16種について報告されている⁵⁾。初期の研究では偶然に生じたカルス様組織を海藻用の一般培地で培養するという初歩的なものであったが、組織培養専用の培地の整備や簡便な無菌培養法の開発により洗練された水準の研究へと進展が著しい。現在では海藻特有な糖や諸抽出物、そして植物ホルモンを添加することにより、ある種の海藻では再現性良くカルスや単離細胞を得たり、かつそれらを再分化させ、元と同質の藻体を作ることができる。しかも、再生されたこれらの藻体は、生殖細胞を通していないので、遺伝情報の組換えがなく、理論的にはそれぞれがまったく同形質のコピーを多数作出できる。この技術（micropropagation）を海産植物の育種や増養殖に導入した場合、ある特定の優秀な1株からたくさんの種苗をほしい時に、ほしいだけ、*in vitro*で確保できるという画期的な結

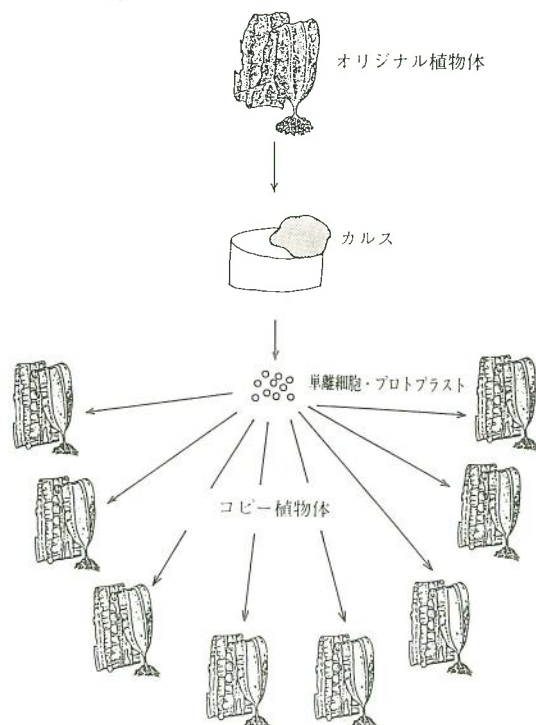


図1 組織培養を利用したクローン植物体の大量生産の模式図

果が期待できる(図1, 口絵)。

2. 細胞工学

近年の遺伝子工学や細胞工学の急速な進歩により、これまで的人為交配、選抜法では不可能な雑種や新品種の作出ができるようになった。体細胞雑種や遺伝子操作などの先端技術による育種には、プロトプラストが実験系として必須である。藻類におけるこの分野の研究は、高等植物と比較して非常に遅れている現状であるが、現在までに筆者が知る得る限りでは、前核生物である藍藻を除いた真核生物の藻類のプロトプラスト単離について42属63種のものについて報告されている。その内、海藻類では9属16種のものからプロトプラストが単離されている⁵⁾。これまで、コンブ目植物が属する褐藻類ではプロトプラスト単離が困難であった。これは緑藻類の細胞壁が主にセルロースやペクチン質のような高等植物の細胞壁を構成する多糖類と共通しているのに対し、褐藻類では細胞壁成分として主にアルギン酸やフコイジン等の海藻特有の多糖類を持つことに起因する。近年、コンブ目植物のプロトプラストは、それらをえさと

する海産動物(ウニやアワビ等)の消化管から得た酵素や、藻体を分解する能力のあるバクテリアが分泌する酵素を利用することにより、得られるようになった(口絵)。

また、プロトプラストを利用した細胞融合については、藻類では数種の淡水産藻類で報告されているのみで、海藻類ではこれまで皆無に等しい状況であった。近年、筆者らにより、PEG法や電氣的刺激法を用いて、同種・同属のものほか、異属・異科、アマノリとアオノリという、まったく異なる植物門の組み合わせでも融合体が得られるようになった⁶⁾。しかし、これらの融合体の再生となるとなかなか難しく、ハイブリッドの選抜や培養法などの技術開発は今後の最重要課題である。また、コンブ目植物における細胞融合に関する研究は未開発の現状である。

3. 染色体工学

海藻の染色体工学は、従来より、海藻の染色体の観察が非常に難しいことから、オゴノリ類の倍数性ミュータント⁷⁾など、数例しか知られていない未開拓な分野である。図2に示したようにコンブ目植物のいくつかの種で組織培養技術を応用して、染色体の倍数性に関する変異株の誘導が試みられ、筆者らにより2倍体カルスや半数体カルスが作出されており、またアポスポリーを利用した2倍体配偶体やアポガミーを利用した半数体造胞体の染色体変異株が作出されている⁸⁾。しかし、これらの技術は再現性においてまだまだ安定した技術となっていないので、今後、海藻類の生活史の中における形態形成の制御や、世代交代のメカニズムなどの基礎研究を推進する必要がある。

4. 遺伝子工学

近年の微生物を中心とした遺伝子組換え技術の発展に伴い、藻類でも遺伝子操作による育種が話題になるこのごろである。宿主・ベクター系の開発や形質転換系の確立等、まだまだ開発を進める必要のある問題も多いが、

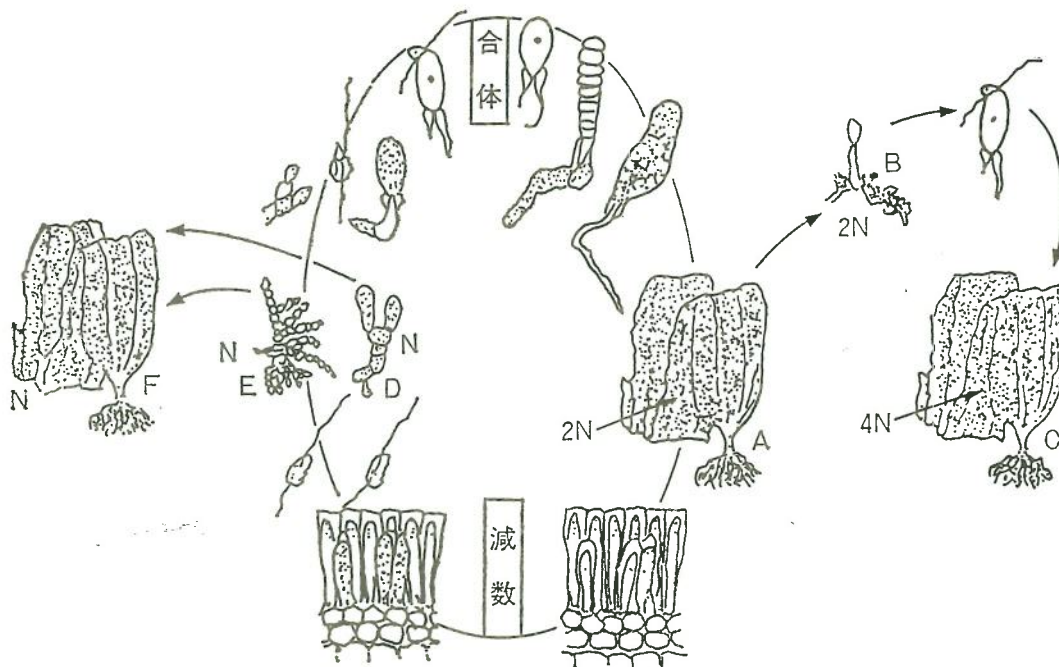


図2 コンブ目植物における組織培養技術を利用した染色体倍数性ミュータント作出の模式図
 A: 通常の2倍体造胞体, B: アポスポリーによって生じた2倍体配偶体, C: 2倍体の卵と精子の接合による4倍体造胞体, D: 通常の半数体雌性配偶体, E: 通常の半数体雄性配偶体, F: アポガミーやパーセノジェネシスによる半数体造胞体。

ここ数年のこの領域の進展状況からすると急速な発展が期待できる。

しかし、実際には藻類では今のところ単細胞性淡水藻のクラミドモナスで酵母由来のプラスミド pYe *arg* 4 や、pBR 322 にクラミドモナス・オリジンのゲノムを組み込んで改変したプラスミド pBRC 1 をベクターとして用いて形質転換に成功したという例が知られているのみで海藻ではまったく未開拓な領域である。一口に遺伝子操作といっても、DNAを扱う技術ばかりでは成立せず、それを支える周辺技術が必須である。よって基幹である海藻の DNA cloning 技術はもちろんのこと、周辺技術である宿主・ベクター系、ベクターの導入法、形質転換細胞のスクリーニング法、形質転換後の細胞のアフターケアの問題など早期開発の必要性を痛感する。

おわりに

コンブ目植物のバイオテクノロジーの効率的推進には、今後次のようないくつかの課題の克服が必要である。1) コンブ目植物の細胞・組織培養の基本的手法の更なる開発、と

くに分化や脱分化などの基本的な生長の素過程を調節する生理活性物質の探求。2) コンブ目植物のプロトプラスト単離法および培養法の改良、とくに細胞壁を溶かす特殊な酵素を効率的に生産する細菌や菌類の探索。3) 海藻の遺伝子組換え技術の開発。とくにこれらの技術を底辺で支える海藻遺伝学の確立と、海藻に有効なベクター系の探索。4) 細胞融合が起こったハイブリッド細胞や、外来遺伝子が組み込まれた形質転換細胞の特異的検出・選択法の開発。5) 育種素材となるコンブ目植物のジーンバンクの整備。とくに、低選択圧保存や凍結保存などによる長期保存法の開発。

最近の農業分野におけるバイオテクノロジーの進歩には目を瞠らせるものがある。数千年前、人類が狩猟採取から飼育栽培へと移行したときから、農業はこの進歩の速度に差があるとはいえ絶えず技術革新の波に晒されてきた。今、我々が手にする栽培植物はこの技術革新の結果といえる。“とる漁業から育てる漁業へ”という言葉が近頃よく聞かれるが、栽培漁業の歴史は数十年と、農業に比べて桁違いに浅い。しかし、漁業資源の枯渇や200カ

イリ問題への不安が台頭してきた今日ほど、栽培漁業の必要が叫ばれている時代はない。21世紀まであと10年余、90年代の海藻バイオテクノロジー研究の飛躍的發展を期待したい。

文 献

1) 嵯峨直恒 (1989) バイオインダストリー 6: 534-548
 2) 嵯峨直恒 (1987) 水産育種 12: 25-44
 3) Chen, L. C. M. and A. Taylor (1978) *Can.*

J. Bot. 56: 883-886
 4) Saga, N., T. Uchida and Y. Sakai (1978) *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 44: 87
 5) 嵯峨直恒・A. Gibor (1986) 植物バイオテクノロジー (山田康之・岡田吉美編), 東京化学同人, 東京, pp. 55-71
 6) Saga, N., M. Polne-Fuller and A. Gibor (1986) *Beih. Nova Hedwigia* 83: 37-43
 7) van der Meer, J. P. and M. U. Patwary (1983) *Aquaculture* 33: 311-316
 8) 嵯峨直恒 (投稿準備中)

国内情報

排水処理に強力な微生物「ラロバクター・フェータビダス」の活躍

国税庁 醸造試験所 第2研究室

蓼沼 誠

はじめに

筆者らは、吉沢¹⁾の開発した酵母と活性汚泥を組合せた排水処理法(酵母処理法)に関する研究を昭和56年から引継いだ。酵母処理法は濃厚な排水を酵母槽で一次処理した後にその処理水を酵母菌体ごと活性汚泥槽で処理する方法である。本処理は活性汚泥単独処理に比べ、①高濃度の排水に適する、②排水の濃度変化に対し安定である、③余剰汚泥が少ないなど、優れた点が多い。最近、余剰汚泥の処分に悩んでいる工場が多いので、前記③の特徴は特に注目され、その結果、本処理法は、清酒やウイスキー工場などの食品工場をはじめ、化学工場にも採用されつつある。

酵母処理法に用いる酵母は排水の組成および排水処理中の発熱の程度によりそれぞれ適した酵母が選択されるが、そのほかに、雑菌汚染防止のための薬剤対性、菌体密度の維持や回収のための凝集性、処理水の固液分離のための濾過性等の性質も考慮される。もちろん病原性を示さないことが最も重要である。

1. 酵母溶解菌の分離

酵母処理法は前に述べたとおり、余剰汚泥が少ない特徴があり、清酒工場の例では汚泥転換率が0.2程度で、冬期の仕込期間中でも汚泥の引抜きをしなくてもよい。また、酵母槽で増殖した酵母菌体は、活性汚泥槽中で1日後には1/100以下に減少した。そこで、酵母処理法における食物連鎖を調べることにした。

まず、活性汚泥中の原生動物や後生動物を単離し、それらが直接酵母を捕食するかどうかを調べたが、活性汚泥槽の滞留時間(2日間)程度では酵母の捕食は認められなかった。また、活性汚泥全体をブラウンのホモジェナイザーで破碎し、その上澄液を無菌濾過したものについて酵母に対する溶菌活性を調べたが、溶菌活性は認められなかった。一方、酵母処理法の汚泥転換率から食物連鎖の段数を計算すると、平均して3段の食物連鎖が関与していると推定された。もちろん第1段は酵母であり、第3段は原生動物または後生動物と考えると、中間に未知の微生物が存在すると思えざるを得ない。

筆者らは、未知の微生物として、酵母を溶菌して増殖する微生物を想定し、排水処理用酵母の生菌体と活性汚泥抽出液とからなる寒天平板培地に活性汚泥の稀釈液を塗抹し、30°Cで培養したところ、3～4日間で酵母に対する溶菌斑を形成する酵母溶解菌が多数検出された²⁾。これら酵母溶解菌は、通常の栄養培地では増殖できず、その増殖に酵母生菌体が必要なもの(YLM-1型菌)と通常の栄養培地でも増殖可能な *Bacillus* 属、*Streptomyces* 属および *Oerskovia* 属の細菌であった。それらのうち、YLM-1型菌が酵母処理法を採用している活性汚泥中で最も多く分布していること³⁾、YLM-1型菌は活性汚泥または単離した後生動物に6～24時間程度で容易に捕食されること、洗米排水中の有機物を基質とした場合の酵母の増殖収率、酵母を基質とした場合のYLM-1型菌の増殖収率、および一般細菌に対する活性汚泥中の微小動物の増殖収率から計算した酵母処理における汚泥転換率が実際の値とよく一致することから、食物連鎖に参与している未知の微生物はYLM-1型菌であると考えた⁴⁾。(図1)

このように、排水処理においては、食物連鎖に参与する微生物の種類が多くなればなるほど余剰汚泥は少なくなることが期待できる。

2. 酵母溶解菌YLM-1の増殖

それではなぜYLM-1型菌の培養に酵母生菌体が必要なのか？ その理由が明らかになり、酵母生菌体なしでも培養できるようになれば、その分類学上の位置付けもできるようになる。そこで、酵母の無細胞抽出液(YCFE)を栄養培地に添加したところ、YLM-1型菌が増殖した。YCFEをDiaflo PM 10の膜で分画すると分子量1万以上の区分にYLM-1型菌の増殖因子が存在すること、加熱処理したYCFEではその効果が認められないことからYCFE中のYLM-1型菌増殖因子は酵素ではないかと考えた。すなわち、YLM-1型菌は増殖に参与する代謝経路の一部を欠如しており、酵母由来の対応する酵素を利用して増殖すると考え、酵素の代わりに

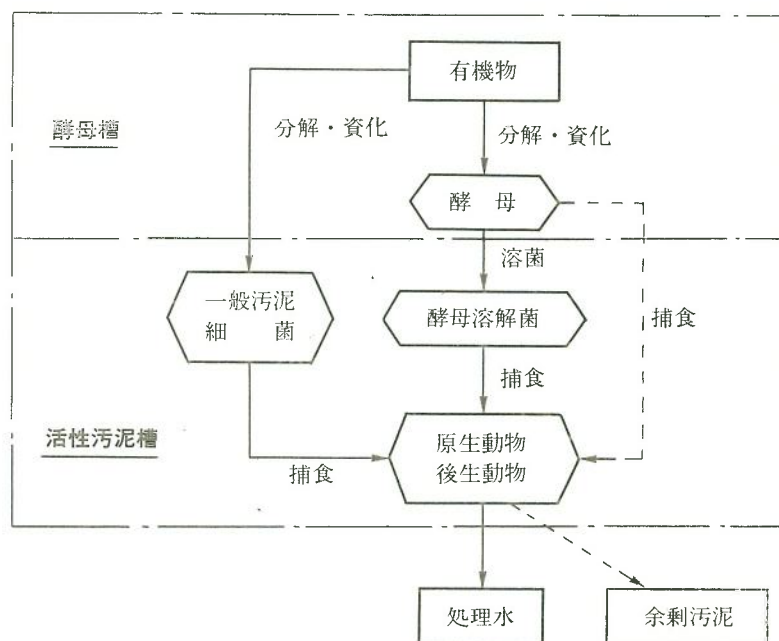


図1 酵母—活性汚泥処理における食物連鎖

酵素反応生成物と想定される物質を培地に添加して増殖を調べた。その結果、酵母死菌体存在下で α -オキソ酸やFADなどの過酸化水素の消去に参与する物質がYLM-1型菌の増殖を促進したが、これらを酵母死菌体も含まない栄養培地のみ添加到したものでは増殖は認められなかった。結局、カタラーゼやペルオキシダーゼなどのヘムを含む酵素やタンパク質、ならびにヘミンやプロトポルフィリンIXなどを栄養培地に添加することでYLM-1型菌の増殖が可能となった。これらのヘムのうち、カタラーゼの添加効果が最も大であった⁵⁾。いずれにせよ、YLM-1型菌はヘムの合成系のどこかが欠如しているものと考えられる。

3. 酵母溶解菌YLM-1型菌の分類

YLM-1型菌を酵母生菌体なしに培養できるようになったので、その菌学的性質を調べ、更に化学分類を試みた。YLM-1型菌は孢子を形成せず、グラム陽性(培養開始後数時間で染色されなくなり、分離当初はグラム陰性と判断してしまった。)の桿菌でV字型も観察され、クエン酸添加培地で多形性を示した。これらの点からコリネフォルム細菌であることがわかった。

前述したとおり、好気的な条件下ではその増殖にヘムを要求するが、嫌気的条件下ではヘムを要求せず炭酸ガスを要求した。DNAのGC含量は65.7~66.1mol%，細胞壁ペプチドグリカンを構成する塩基性アミノ酸はL-オルニチンで菌体の主要脂肪酸は12-メチルテトラデカン酸であり、主要キノンはメナキノン-9であった。これらの性質を示す細菌は、酵母に対して溶菌能を示す *Oerskovia xanthineolytica* をはじめ、近縁のコリネフォルム細菌のいずれにも該当せず、DNAの相同性からも独立したグループを形成することから、新属、新種の細菌であることが明らかとなった。

そこで、*Rarobacter faecitabidus* という学名が提案された⁶⁾。「*Rarobacter*」は、「珍奇な細菌」，「*faecitabidus*」は「オリ（酵母）を分解する」という意味である。

4. 酵母の溶菌過程

R. faecitabidus は、大部分の子のう酵母と接着・凝集し、それらを溶菌する。一方、担子菌系の酵母とは接着・凝集をせず、溶菌もしない。すなわち、自分の利用できる酵母

か否かを認識して接着・凝集するのである。

酵母を唯一の炭素源として *R. faecitabidus* を培養すると、本菌は培養液中に酵母溶解酵素をほとんど出さないこと²⁾、本菌の細胞壁区分に溶菌関連酵素が局在していること⁷⁾ から、本菌と酵母との接着・凝集が酵母の溶菌に重要な役割を演じているものと推定された。

酵母の溶菌過程を走査型電子顕微鏡により観察すると、*R. faecitabidus* が接着した部分から酵母細胞壁が溶かされていく様子が認められた。（表紙、図2）*R. faecitabidus* は酵母の細胞壁表層に接着し、接着部分に孔をあけることによって必要最少量の溶菌酵素で効率的に酵母を栄養源として利用しているものと思われる。

おわりに

排水処理という実用上の問題を出発点として、*R. faecitabidus* というという新属の細菌の発見とその興味深い生態が明らかにされた。

本菌の分泌する溶菌酵素はプロテアーゼとグルカナーゼからなっているが、特にプロテアーゼの基質特異性と溶菌活性との関係が次第に明らかになりつつあり、分子レベルで解



図2 酵母細胞壁は、*R. faecitabidus* の接着部分から溶解され、最終的には酵母菌体が完全に溶解される（30°C，8時間反応，×10,000）

明される日も近い。

また、酵母との凝集機構も生物相互間の認識という観点からも興味深い研究材料であり、今後の研究の発展が期待される。

文 献

- 1) 吉沢 淑 (1981) 農化 55: 705-711
- 2) 蓮尾徹夫・山本奈美・斉藤和夫・蓼沼 誠 (1984) 醸協 79: 510-516
- 3) 山本奈美・蓮尾徹夫・寺内敬博・斉藤和夫・蓼沼 誠 (1984) 醸協 79: 828-833
- 4) 蓮尾徹夫・伊藤雅代・山本奈美・斉藤和夫・蓼沼 誠・吉沢 淑(1984) 醸協 79: 904-905
- 5) Yamamoto, N., T. Hasuo, K. Saito and M. Tadenuma (1987) *Agric. Biol. Chem.* 51: 1541-1545
- 6) Yamamoto, N., S. Sato, K. Saito, T. Hasuo, M. Tadenuma, K. Suzuki, J. Tamaoka and K. Komagata (1988) *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38: 7-11
- 7) Saito, K., T. Hasuo, N. Yamamoto and M. Tadenuma (1988) *Agric. Biol. Chem.* 52: 1849-1850

国内情報

光合成型がC₄型とC₃型に変換する植物の発見：その特性と意義

農林水産省 農業生物資源研究所 発育生理研究室

上野 修

はじめに

近年における光合成炭酸固定経路の研究から、高等植物の光合成型はいくつかの型に分けられることが明らかとなっている。このうち、C₄光合成を行なうC₄植物は、見かけ上光呼吸が見られず、C₃植物に比べて強光、高温、加えて乾燥下で、高い光合成能力を発揮することができ、このため農業研究者の注目を集めてきた。C₃型の作物の光合成能力を改善し、その生産性を高めようとするとき、いくつかのアプローチが考えられるが、その一つとして、C₄植物の効率的な光合成機能をC₃作物に付与し、光合成能を向上させようとする試みも、バイオ育種技術の急速な進歩に伴い、現実的なターゲットとなりつつある¹⁾。

C₃植物では、単一の葉肉細胞に存在しているC₃回路で光合成を行なっているのに対し、C₄植物では葉肉細胞と維管束鞘細胞という2種類の同化細胞から構成された“クラント型葉構造”と呼ばれる独特の形態を持つ。二酸化炭素はまず葉肉細胞でC₄ジカルボン酸として固定される。生じたC₄ジカルボン

酸は維管束鞘細胞へ輸送され、脱炭酸された後C₃回路に取り込まれる。つまり、C₄植物では2種類の同化細胞の共同により、光合成を遂行している。

このように、C₃植物とC₄植物を比較してみると、両グループは生理・生化学的ばかりでなく、形態学的にも大きく隔たったものと考えられ、C₃植物の“C₄化”といった試みも容易でないことが予想される。事実、これまで、一つの植物がC₃型とC₄型の光合成機能を発現するというものは、知られていなかった。もし、このような特徴を持つ植物が見出されれば、C₄光合成の遺伝子発現調節機構を究明していくうえで、格好のモデル植物を提供することになる。

これまでの私たちの研究から、カヤツリグサ科のハリイ属 (*Eleocharis*) は、単一の属内にC₃種やC₄種だけでなくC₃-C₄中間植物種を含んでいることが見出され、C₄光合成の遺伝・発現を解析して行く上で有望な植物群であることがわかっている²⁾。このうち、北米南東部に自生する水陸両生のエレオカリス・ビビパラ (*E. vivipara*) は、陸上ではC₄型であるが、水中ではC₃型の光合成特性を

発現することが発見された³⁾。以下に、この植物の光合成特性を紹介してみたい。

1. 光合成組織の特徴

ハリイ属植物では、葉身が退化し、稈が光合成を行なう。このため、ビビパラの陸生型ではイグサのような形態を示し、硬い大型の稈を持つ。一方、水生型では糸状の軟弱な稈を持ち、陸生型とは著しく異なった形態を示す(口絵)。また、両型は稈の光合成組織の構造についても、明瞭な相違を示す(図1)。陸生型では、大型の葉緑体とミトコンドリアを多数含有した維管束鞘細胞が発達し、その外側を葉肉細胞が取り囲み、クランツ型構造を示す。しかし、水生型では表皮の内側に大型の膨潤した葉肉細胞が分布し、維管束は少数小型化する。維管束鞘細胞は存在はするが、葉緑体は未発達で、クランツ型の特徴を失っている。このように、エレオカリス・ビビパラは、陸上で生育するときはC₄植物の形態を持っているが、水中ではC₃植物に類似し

た形態を示し、この点は以下に述べるように、光合成代謝と綿密に関連している。

2. 光合成炭素代謝特性

陸生型と水生型で、どのような光合成代謝型が働いているのかを決定するために、¹⁴Cで標識した二酸化炭素中で光合成を行なわせ、光合成初期産物の動態を検討した(図2)。陸生型ではC₄光合成に典型的なパターンを示し、30秒間の¹⁴Cパルスで、大部分の¹⁴CはC₄ジカルボン酸のアスパラギン酸とリンゴ酸に取り込まれ、このラベルはチェイス期で急速に減少した。一方、水生型では30秒間のパルスでは、¹⁴Cの多くは3-ホスホグリセリン酸(PGA)と糖リン酸に取り込まれ、C₄ジカルボン酸には約20%しか分布しなかった。C₄ジカルボン酸のラベルは、チェイス期ではわずかな減少しか示さず、この結果は水生型では主にC₃回路により、二酸化炭素を固定していることを示している。

このように、陸生型と水生型とでC₄型と

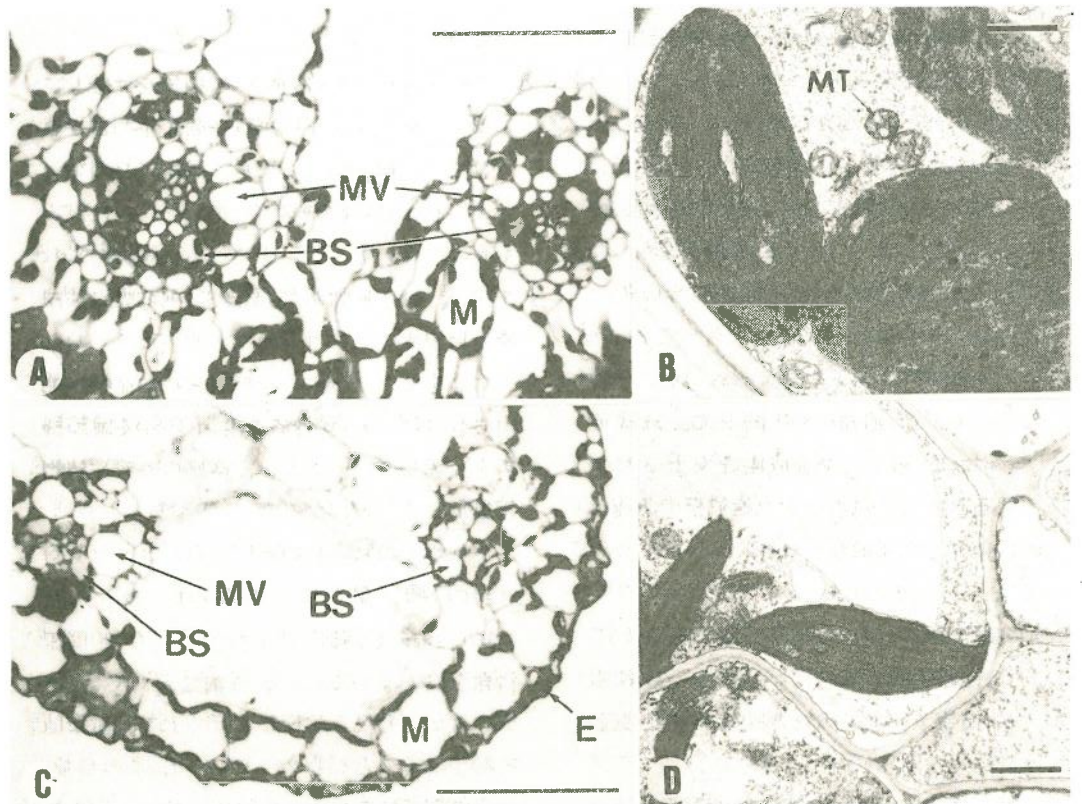


図1 エレオカリス・ビビパラの稈の内部構造と維管束鞘細胞葉緑体、陸生型(A, B)と水生型(C, D)

BS:維管束鞘細胞, E:表皮細胞, M:葉肉細胞, MV:後生木部導管, MT:ミトコンドリア
スケール: A, C=50μm, B, D=1μm

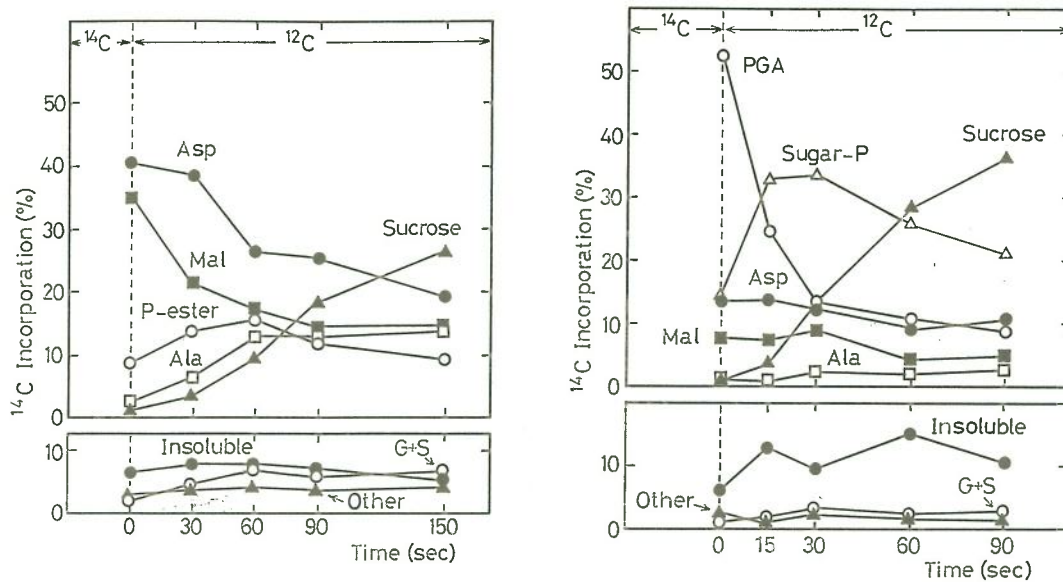


図2 エレオカリス・ビビパラの ^{14}C -パルス・チェイス実験，陸生型(左)と水生型(右)。

Asp:アスパラギン酸, Mal:リンゴ酸, Ala:アラニン, P-ester:リン酸エステル, PGA:3-ホスホグリセリン酸, Sugar-P:糖リン酸, G+S:グリシン+セリン

C_3 型の光合成代謝が働いているとすれば、 C_3 、 C_4 光合成関連酵素の活性値も両型で異なっているものと推定される。陸生型について、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼやピルビン酸、リン酸ジキナーゼなどの C_4 光合成酵素の活性を測定してみると、 C_4 植物で見られるような高い活性を示し、 C_3 光合成酵素のリブローズ 2リン酸カルボキシラーゼ (RuBP-C) は低い活性しか示さなかった。一方、水生型では逆に RuBP-C の活性が高く、 C_4 光合成酵素の活性は陸生型よりも低い値を示した。このように、酵素の活性レベルでも陸生型と水生型とは、それぞれ C_4 型と C_3 型という異なった光合成代謝を行っていることが確認された。

3. C_3 型と C_4 型光合成特性の相互変換性

次に、生育環境を陸上から水中、あるいは逆に変えたとき、植物はどのように反応するのかを検討した。水生型を気相中に移し育成すると、地上部は乾燥枯死したが、やがて地下部より陸生型の形態を持った新しい稈を形成した。この稈について光合成初期産物を同定してみると、多くは C_4 ジカルボン酸であった。反対に、陸生型を水中で育成すると、

植物は稈の先端の不定芽から水生型の形態と C_3 的な代謝パターンを示す新しい稈を発生する能力を持つことが確認された。なお、新しく発生した稈の特徴は、不定芽の発育のどの段階で水中に移されたかなどによって左右されるようであり (C_3 的~ C_4 的)、さらに詳細な検討を要す。

ともあれ、以上の生育環境変動についての予備的実験の結果は、一方の型の生育条件が変えられると、もう一方の型の特徴を持つ新しい光合成器官を発生する能力があることを示しており、エレオカリス・ビビパラは生育環境の変動に対応して、 C_3 型と C_4 型の光合成特性を相互変換的に発現することを物語っている。このため、本植物は C_3 、 C_4 光合成を巡る形態と生理・生化学的機能の遺伝生理・あるいは C_4 光合成遺伝子の発現調節機構を解析していくうえで、極めて興味深い研究対象になるものと期待される。

おわりに

これまでの研究では、 C_3 植物と C_4 植物とは大きくかけ離れたものと考えられており、一つの植物が C_3 型と C_4 型の両特性を発現するという報告は、ここで紹介したエレオカ

リス・ビビパラが最初である。この植物の陸生型と水生型では、 C_3 、 C_4 光合成酵素蛋白質が細胞・オルガネラレベルでどのように局在分布しているのか、また、それは遺伝子レベルでいかに発現制御されているのか、最も興味を持たれる点である。

最近の遺伝子工学をはじめとするバイオテクノロジーの発達はめざましいものがあり、光合成研究の分野でも例外ではない。 C_4 光合成メカニズムの成立にとって不可欠な酵素遺伝子の単離や構造解析が盛んに進められ、 C_4 光合成の遺伝子発現調節機構の研究も開始されるに至り、多くの新知見が報告されている^{4,5)}。こうした新しい動きの中で、ここで紹介したエレオカリス・ビビパラは、いわば

C_3 植物と C_4 植物との間をつなぐ“架け橋”と位置づけられ、本植物の研究から C_4 光合成の遺伝・発現機構の一端が明らかになるのではないかと期待される。

文 献

- 1) 鮫島宗明 (1985) 農業技術 40: 452-457
- 2) Ueno, O., M. Samejima and T. Koyama (1989) *Ann. Bot.* (In press)
- 3) Ueno, O., M. Samejima, S. Muto and S. Miyachi (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 6733-6737
- 4) Harpster, M. H. and W. C. Taylor (1986) *J. Biol. Chem.* 261: 6132-6136
- 5) Sheen, J. Y. and L. Bogorad (1987) *J. Biol. Chem.* 262: 11726-11730

国内情報

冷凍耐性パン酵母の開発

農林水産省 食品総合研究所 微生物利用第2研究室
高野博幸

はじめに

パンは私達の食生活にとって欠くことのできない食品である。特に近年、食生活の多様化・高級化に伴って、新鮮な焼きたてのパンに対する消費者のニーズが強まってきており、これに応えるべく焼きたてパンを販売するオープンフレッシュベーカリーが各地に急増している。このような状況の中で、製パン業界ではいかにして新鮮で焼きたてのパンを消費者に提供していくかが重要な課題となっている。その一つの解決策として、冷凍生地製パン法がある。この方法で品質の良いパンを得るには、冷凍生地製パン専用のパン酵母つまり冷凍耐性酵母が不可欠といえる。そこで、筆者等が見出した冷凍耐性パン酵母の特性とこの開発の現状を紹介する。

1. 冷凍生地製パン法とその問題点

パンは発酵食品であり、パン特有のフレーバーと柔らかな内相の触感は、十分な発酵工程を経て得られる。このためパンの製造には4～6時間を要する。冷凍生地製パン法は、予め発酵を行ったパン生地を分割あるいは整形した後に冷凍貯蔵し、必要な時に解凍・焼成を行うことで、消費者に新鮮なパンを提供することを主目的としているが、製パン工場では省力化等も図れることから、この実用化には多大な期待が寄せられた。しかし、1週間冷凍貯蔵したパン生地の解凍後の発酵力を非冷凍パン生地の発酵力と比較すると、無発酵ではほとんど差がないが、冷凍前の発酵(前発酵)を30分行うと減少が認められ、前発酵1時間では半減、3時間ではほとんど失われてしまう。そして、冷凍貯蔵期間の延長に伴って解凍後の発酵力はさらに減少する。

発酵を行ったパン生地の冷凍による発酵力低下の原因は、パン生地中の酵母が冷凍によって障害を受けるためである^{1,2)}。このため冷凍生地製パン法は、十分な発酵を必要とするパンには適用できず、酵母の冷凍障害に対し保護作用がある油脂、砂糖、脱脂粉乳および卵を用いたデニッシュペーストリー、クロワッサン、バターロール等いわゆるリッチタイプのパンに限定し実用化が図られている。この方法によるなら、解凍後にホイロ発酵を行うことで脹らんだパンが得られが、パンとしてのフレーバーに欠け、テクスチャーが劣るといふ問題がある。

2. 冷凍耐性酵母の特性

筆者らは冷凍耐性酵母の検索を行い、パン酵母と同種の *Saccharomyces cerevisiae* (F R I-413) および *Kluyveromyces thermotolerance* (F R I-501)、さらに保存菌株から1菌株 (*S. cerevisiae*, F R I-802) の計3菌株を見出した^{3,4)}。他の種では田中らが高糖生地用酵母として検索した *Torulaspora delbrueckii* (旧名: *S. rosei*, T. d) に冷凍耐性があることを見出している⁵⁾。これを契機として、我が国のパン酵母各社によって冷凍耐性酵母の検索が行われ、多くの冷凍パン生地製造用パン酵母 (C F Y) が見出されている。

市販パン酵母 (C Y) と冷凍耐性酵母との相違は、発酵によって活性化された状態の C Y 菌体に、発酵中に生成されたエタノールと小麦粉 (この場合、小麦粉に存在する酵母発酵阻害タンパクであるピューロチオン) とが共存すると冷凍障害が助長される。しかし、冷凍耐性酵母2菌株の活性化菌体はピューロチオンを添加、あるいは小麦粉とエタノールとを共存させ冷凍しても発酵力の低下は認められない。冷凍貯蔵した酵母からのグルタチオン漏洩は、C Y の休止菌体からはごく僅かではないが、C Y の活性化菌体では貯蔵期間の延長に伴って増大し、冷凍耐性酵母2菌株の活性化菌体からはグルタチオンの漏洩はほとんど認められない。細胞内物質

であるグルタチオンが細胞外に漏洩すると、パン生地中では還元物質として作用し、グルテンの S-S 結合が切断されパン生地の粘弾性は低下する。この結果、解凍後に長時間ホイロ発酵を行っても一定のパン生地体積が得られず、パン体積は劣り、内相の粗い品質の劣ったパンとなる。

冷凍耐性パン酵母3菌株 (F R I-413, 501 および 802) と C F Y のパン酵母としての特性を C Y と比べてみた。高糖生地発酵力は C F Y と F R I-802 は同程度、F R I-501 は同等以上、そして F R I-413 には高糖生地発酵力がなかった。無糖生地発酵力は C F Y と F R I-802 は同程度、そして F R I-413 と F R I-501 には無糖生地発酵力がなかった (図2参照)。食パン生地を用い前発酵時間の相違が解凍後の発酵力に及ぼす影響を調べた結果、C Y は前発酵60分で解凍後の発酵力は半減し、120分以上では激減する。F R I-802 と C F Y は前発酵時間の延長に伴って発酵力に減少が見られるが、減少の程度は C Y に比べ緩やかで、前発酵90分で約60%保持されていた。これら3菌株は、前発酵時間が長くなるに従ってパン生地中の酵母は冷凍障害を受けるが、冷凍下での感受性に差があり、C F Y と F R I-802 は C Y に比べ冷凍に対し抵抗性が強い菌株であるといえる。一方、F R I-413 あるいは F R I-501 を用いたパン生地は、前述の3菌株とは異なり前発酵時間が長いほど解凍後の発酵力が増大するという特徴を保持していた。この2菌株は、冷凍に対し強い耐性を保持しており、凍結に対する感受性が全くない酵母であるといえる (図1)。前発酵の異なる冷凍食パン生地を用いた製パン試験でも、ほぼ同様の結果を得ている。

3. 冷凍耐性パン酵母の開発

冷凍耐性パン酵母 F R I-501 は高糖生地発酵力を保持し、前発酵を行ってから冷凍しても解凍後の発酵力低下が殆どないことから、油脂含量が少なく、十分な発酵を必要とする菓子パン類の冷凍生地製パンに使用が可能である。しかし、砂糖無添加で十分な発酵を必

要とするパン類（例：フランスパン）の冷凍生地製パン法に適する冷凍耐性パン酵母は見出されていない。そこで、冷凍耐性パン酵母 F R I -413と冷凍耐性のない無糖パン用酵母

（C Y -M）との性的交雑による無糖生地用の高活性冷凍耐性パン酵母の育種を試みた。その結果、各種パン生地での発酵力に関しては C Y -Mの性質（図2）を冷凍耐性に関しては F R I -413の性質を受け継いだ冷凍耐性パン酵母 E T Y -3が得られた（図1参照）。当酵母は、無糖から中糖パン（砂糖15%程度）生地までの冷凍生地製パンに適用可能であり、冷凍生地製パンの飛躍的な発展が期待できる。

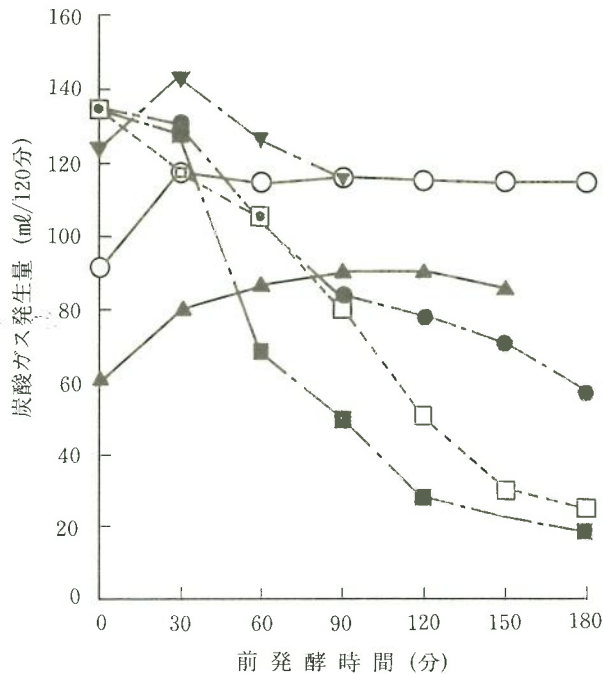


図1 各種冷凍耐性パン酵母と市販パン酵母を用いた前発酵冷凍パン生地の解凍後における発酵力

注：小麦粉20g 使用した食パン生地
 冷凍条件（-20°C、7日間）
 ○：FRI-501, ▲：FRI-413, □：FRI-802
 ▼：FTY-3, ●：CFY, ■：CY

おわりに

冷凍生地製パン法はアメリカにおいて開発され、西欧諸国でも実用化されている。我が国は世界で初めて冷凍生地製パン用の冷凍耐性酵母を発見し、この分野では世界の最先端をいっているといっても過言ではない。このことによって、我が国においても冷凍生地製パンは急速な勢いで広まり、今では冷凍生地製造の専用工場ができています。しかし、市販されている冷凍生地用パン酵母は、前発酵を十分行うことができないため、F R I -501およびF T Y -3の実用化に大きな期待が寄せられている。また、育種によってF T Y -3が得られたことで、今後高活性冷凍耐性パン酵母の開発・育種が進展するものと期待している。

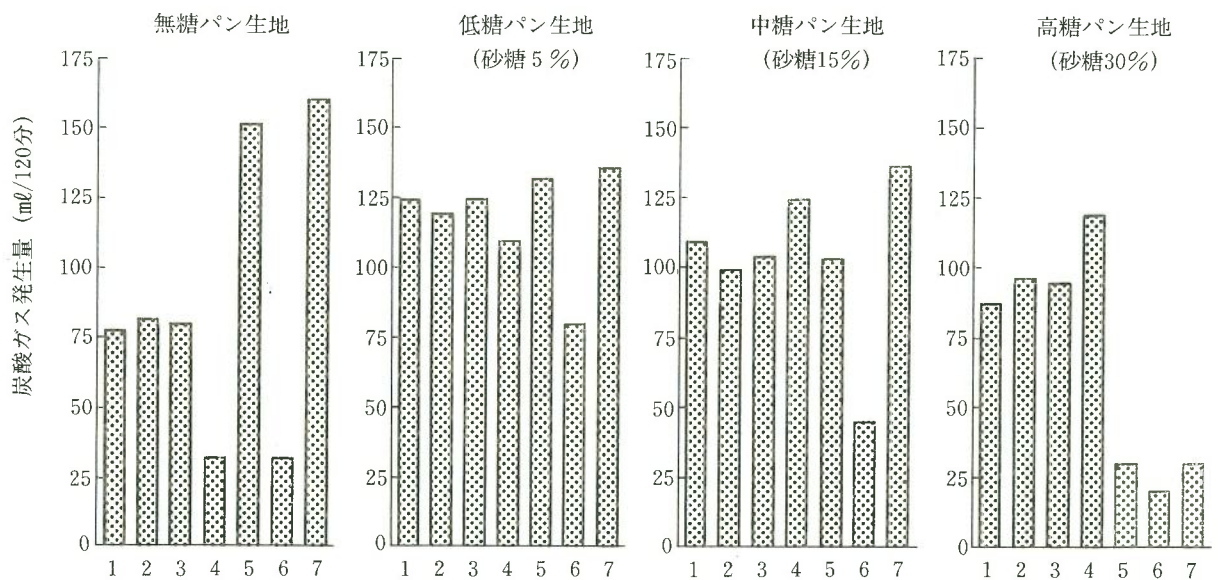


図2 冷凍耐性パン酵母と市販パン酵母の各種パン生地発酵力の相違

注：小麦粉20g 使用生地
 (1：CY, 2：CFY, 3：FRI-802, 4：FRI-501, 5：CY-M, 6：FRI-413, 7：FTY-3)

文 献

- 1) 田中康夫・川口真理子・宮武真理子 (1976)
日食工誌 23: 419-424
- 2) 田中康夫・伊東弥生・高野博幸・小柳 妙
(1981) 日本食品工業学会 第28回大会講演要
旨集: p.21
- 3) 田中康夫・高野博幸・伊藤 寛 (1982) サッ
カロミセス・セレビスェ FTY(FRI-413)
特願昭57-40044, 特許1290653 (昭和60年11月
29日)
- 4) Hino, A., H. Takano and Y. Tanaka (1987)
Cereal Chem. 64: 269-275
- 5) 田中篤治・深津玖允・菅浦敏夫・榎田静雄・
寺本 進・小玉健太郎・古谷航平・内藤 敦
(1984) 日食工誌 23: 661-664.

国内情報

1 本鎖DNAウイルスであるmung bean
yellow mosaic virus のゲノム構造

東京農業大学総合研究所

池上正人

Mung bean yellow mosaic virus (MYMV) はインド、タイ、西パキスタン、スリランカに分布し、緑豆に感染すると黄斑モザイク症状を呈して、緑豆の収量に大きな影響を与える。このウイルスは自然界ではタバコナジラミによって永続伝播されるが、汁液接種も可能である¹⁾。MYMV粒子は、球形粒子が二つ連結した構造 (20×30nm) をとり、その核酸は環状1本鎖DNA (塩基数約2700, 分子量 8.0×10^5) である²⁾。これらの結果から、MYMVはジェミニウイルス群に属するとされた³⁾。ジェミニとは日本語で双子の意味で、グループ名はウイルス粒子の形態に由来する。われわれは、MYMV DNAをクローニングし、そのDNAの全塩基配列を決定するとともに、MYMVのゲノム構造を明らかにしたので報告する。さらに、MYMVのゲノム構造を、われわれが全塩基配列を先に決定した、他のタバコナジラミ伝播型ジェミニウイルスである bean golden mosaic virus (BGMV) DNAのゲノム構造と比較したのであわせて報告する。

1. MYMVは2種類の分節ゲノムからなる

MYMV感染葉から分離したMYMV 2本

鎖DNA (MYMV 1本鎖DNAの複製中間体) を各種制限酵素で切断して生じたフラグメントの大きさを合計すると、約5,400となった⁴⁾。この値は電子顕微鏡観察から算出したMYMV粒子中の1本鎖DNAの長さ (約2,700塩基)²⁾ の約2倍に相当する。このことは、MYMV 2本鎖DNA標品に制限酵素地図が異なり、塩基数が極めてよく似た2種類のDNAが存在することを示している。この結果とMYMV 2本鎖DNAの感染実験の結果 (後述) から、MYMVは、BGMVと同様、分節ゲノムからなる。

2. MYMV DNAのクローニング

MYMV感染葉から分離した2本鎖DNAを各種制限酵素で切断して、MYMV 2本鎖DNAの制限酵素地図を作製するとともに (図1)、2種類のDNA成分の大きさを算出した⁴⁾。それぞれのDNA成分を1と2とすると、MYMV 2本鎖DNA 1は約2.72 k塩基対、MYMV 2本鎖DNA 2は約2.67 k塩基対からなり、2成分のDNAの長さは極めてよく似ている。これらの塩基数は、MYMV粒子中の1本鎖DNAの長さとは一致する。MYMV DNA 1とDNA 2の制限酵素地図を比較すると全く異なっていた。

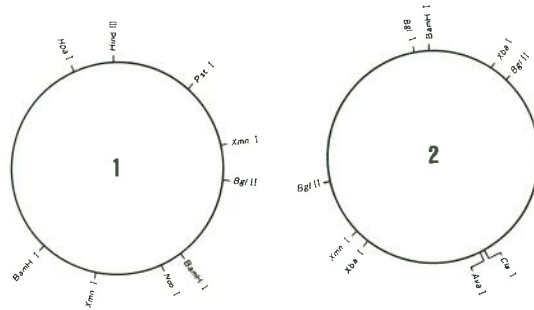


図1 MYMV 2本鎖DNAの制限酵素地図⁴⁾

MYMV DNAの感染性には2成分のDNAが必要なのだろうか、あるいは1成分のDNAのみで感染性があるのだろうか。そこで、われわれは、MYMV DNA 1とDNA 2の全長のクローニングを試み、クローン化DNAを用いてMYMV DNAの感染性を調べた。MYMV DNA 1およびDNA 2はそれぞれ *Hind* IIIおよび *Bam* HIで1か所切断されるので、MYMV 2本鎖DNA 1とMYMV 2本鎖DNA 2の全長をそれぞれ別々に *Hind* III部位と *Bam* HI部位で大腸菌の pBR 322にクローニングした。このようなクローン化MYMV DNAを用いての感染実験の結果から、MYMVの感染性にはDNA 1とDNA 2の両方が必要で、DNA 1あるいはDNA 2のみでは感染性がないことがわかった。

3. ゲノムの構造

MYMV DNAの全塩基配列を Sanger らの dideoxy chain-termination 法⁶⁾ により決定した⁵⁾。それによると、MYMV DNA 1は2723塩基、MYMV DNA 2は2675塩基からなる。DNA 1とDNA 2の全塩基配列を比較したところ、極めて相同性の高い、約200塩基からなる配列（以下共通配列と呼ぶ）が存在するが、それ以外の領域同志では塩基配列の相同性はない。MYMVゲノムDNA間にみられるこのような共通配列はBGMVなど他のタバコナジラミ伝播型ジェミニウイルスの分節ゲノム間にもみられる。MYMV DNA上の共通配列に34塩基からなり、ステム・ループ構造を組むことができる配列が存在する(図2)。このステム・ループ構造のステムは八つのG-C対と三つのA-T対からなり、ループはA-Tに富む12塩基からなる。このようなステム・ループ構造はBGMV DNA上の共通配列内にもみられる(図2)。興味あることには、二つのウイルスのステム・ループ構造のループに共通してTAA TAT TACという配列が存在する。MYMVやBGMVに共通したこのようなステム・ループ構造がジェミニウイルスDNAの複製に重要な働きをしているものと思われる。MYMVの全塩基配列からATGを翻訳開始コドンとし、

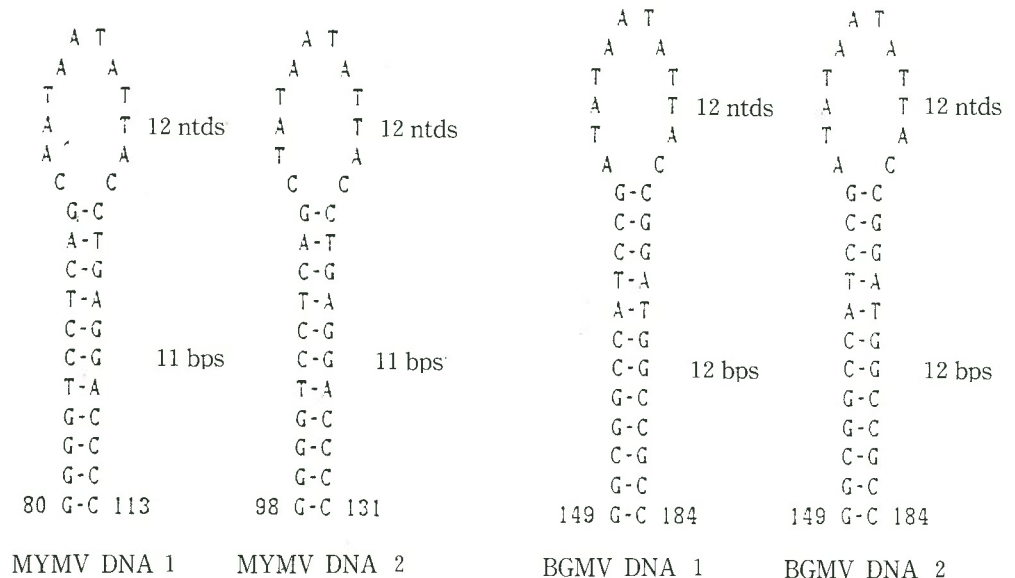


図2 MYMV DNAおよびBGMV DNAの共通配列内にみられるステム・ループ構造^{3),5)}

TAA, TAGあるいはTGAを翻訳終止コドンとするオープンリーディングフレーム(ORF)を, MYMV 2本鎖DNAのうち, MYMV 1本鎖DNAとおなじ塩基配列の鎖(+鎖)(1+, 2+)とMYMV 1本鎖DNAに相補的な塩基配列の鎖(1-, 2-)の中から探し出した。それによると, MYMV 2本鎖DNAの+鎖には5個, -鎖には3個のORFが存在する(図3)。

われわれはBGMVのゲノムの全塩基配列および全塩基配列から推定されるORFを決定するとともに(図4)⁸⁾ MYMVゲノムのORFパターンと比較した。それによると, BGMVのORFパターンはMYMVのORFパターンとよく似ている。MYMVのそれぞれのORFのアミノ酸配列をそれらと対応するBGMVのORFのアミノ酸配列と比較したところ, MYMV 1R1はBGMV 1R1と, MYMV 1L1はBGMV 1L1と相同性が高く, 70%以上であった。しかしながら, それ以外のORFについてはアミノ酸配列の相同性は低かった。1R1は外被蛋白質の遺伝子であるが, それ以外のORF

がどのような蛋白質をコードしているかは知られていない。MYMVとBGMVの地理的分布は異なっているが, 宿主域は若干の違いはあるが極めてよく似ており, MYMVとBGMVの遺伝子解析により, どの遺伝子が宿主域を決定しているかを明らかにすることは興味ある課題である。

おわりに

以上, ジェミニウイルス群に属するMYMVについて, そのゲノム構造を中心に解説した。MYMVが環状1本鎖DNAウイルスであることが報告されて以来, わずか数年足らずの間に多くの成果が得られた。これは組換えDNA技術や塩基配列決定法などの遺伝子工学的技法がMYMV研究に導入されたためである。

緑豆は東南アジアにおいて重要な作物であるが, MYMVはこの緑豆に感染して大きな被害を与える。MYMVのクローニングやMYMVゲノムの構造解析などの研究成果から, 遺伝子操作によるMYMV弱毒株の作出

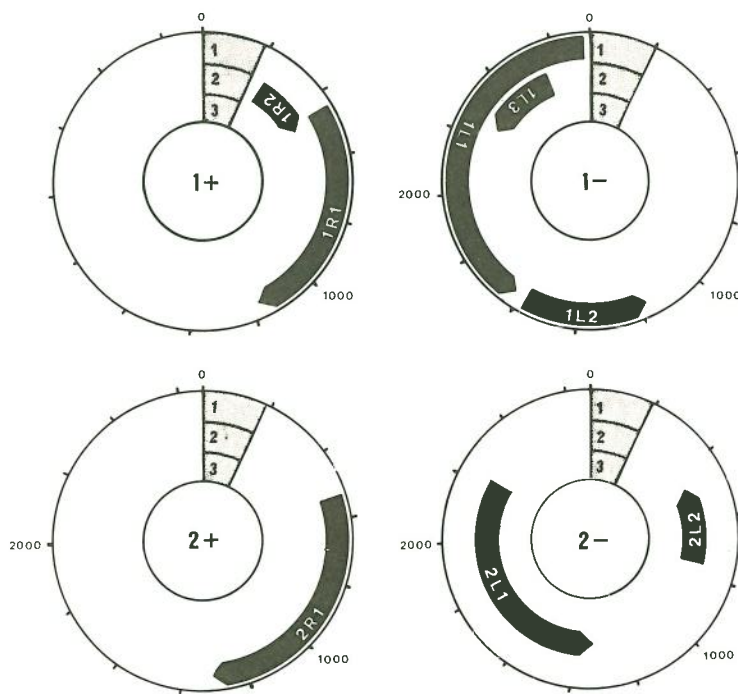


図3 MYMVと同じ塩基配列をもち鎖(1+, 2+)とMYMVゲノムDNAに相補的な塩基配列をもつ鎖(1-, 2-)の中にみられるORF⁵⁾
 ■ は共通配列の領域を示す。

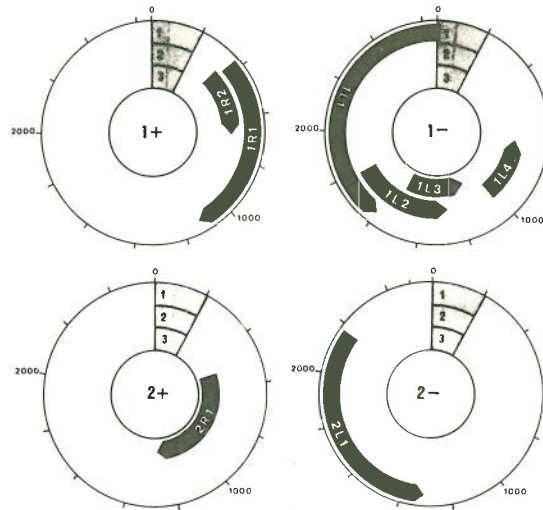


図4 BGMVと同じ塩基配列をもつ鎖(1+, 2+)とBGMVゲノムDNAに相補的な塩基配列をもつ鎖(1-, 2-)の中にみられるORF³⁾
 ■ は共通配列の領域を示す。

への道が開け、緑豆の黄斑モザイク病の防除も可能となるであろう。

文 献

1) Honda, V. and M. Ikegami (1986) AAB/CMI Descriptions of plant viruses No.323. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

2) Ikegami, M., K. Yazaki, Y. Honda, M. Iwaki, H. Fujii, T. Morinaga and K. Miura (1985) *Microbiol. Immunol.* 29: 783-789

3) Morinaga, T., M. Ikegami, K. Shimotohno and K. Miura (1987) *Microbiol. Immunol.* 31: 147-154

4) Morinaga, T., M. Ikegami and K. Miura (1989) *Intervirol.* (印刷中)

5) Morinaga, T., M. Ikegami and K. Miura (1989) *Plant Mol. Biol.* (印刷中)

6) Sanger, F., S. Nicklen and A.R. Coulson (1977) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*



文献情報

アカパンカビにおけるミトコンドリア内在性プラスミドの宿主非依存的転移

多くの菌類のミトコンドリア内には環状あるいは直鎖状DNAプラスミドが存在することが報告されている。これらプラスミドのある種のもはミトコンドリアのゲノムと相同性を有し、ミトコンドリアの退化と関連していると示唆されているが、しかし相同性を有してもミトコンドリアの退化と関連しないものもある。またミトコンドリアのゲノムと全く相同性を示さないプラスミドもある。細胞内やミトコンドリア内におけるミトコンドリア内在性プラスミドの機能についてはまだ不明である。

アカパンカビ (*Neurospora crassa*) よりミトコンドリアのゲノムと相同性を示さない環状DNAプラスミドが発見され、このプラスミドが同属の *N. tetrasperma* や *N. intermedia* に存在するプラスミドと高い相同性を有することが示された。そしてこれらプラスミド間の高い相同性および自然界におけるプラスミドの地理的分布から考えて、*Neurospora* 属のプラスミドは種分化以前に存在し、進化的に保存されたものではなく、同属菌類間におけるプラスミドDNAの水平的伝達によって保存されているものと推測されてきたが、しかしその直接的証明はなされていなかった。

アカパンカビの地理的棲息とプラスミドの分布について調べた実験では、米国ルイジアナ州から分離したアカパンカビ15菌株中の高プラスミド保有株 P516 a のプラスミドDNAをプローブとしたDNA-DNAハイブリダイゼーションにより分離株中の6株で、さらに他の米国内外から得られた供試3株のプラスミドでも相同性が認められ、広範囲の地域に分布するアカパンカビのプラスミドで相同性が確認された。またアカパンカビのミトコンドリアはそのゲノムDNAの制限酵素断

片の違いにより2種のタイプに分類されるが、ミトコンドリアのタイプに関係なく、どちらのタイプに存在するプラスミドにも相同性が認められた。このようにアカパンカビの地理的分布やミトコンドリアのタイプに関係なく相同性プラスミドが存在することから、プラスミド転移がミトコンドリアの遺伝とは独立して起こるものと示唆された。

さらに、無性生殖過程におけるプラスミドの転移について上記高プラスミド保有株 P516 a から形成された分生胞子を単胞子分離して得られた100株で調べた結果、分離した全株でプラスミドの存在が認められた。したがって無性生殖過程ではプラスミドは安定に子孫に転移されるものと考えられた。

有性生殖過程については高プラスミド保有株 P516 a (P+) とプラスミド欠失株 3960 A (P-) との間で相反交配を行い、これらの子のう胞子へのプラスミドの転移を調べた。P+雄株とP-雌株を交配して得られた130個の子のう胞子から8株のプラスミド保有株が得られ、一方P-雄株とP+雌株を交配して得られた100個の子のう胞子では全株においてプラスミドの存在が認められた。なお、得られた全プラスミド保有株においてプラスミドはミトコンドリア内のみ存在し、核内には存在しないこと、さらに子のう胞子へのミトコンドリア由来についてみた場合には全株で母親由来のミトコンドリアDNAを有し、父親由来のミトコンドリアDNAを有する株は得られないことがわかり、有性生殖過程ではミトコンドリアは母性遺伝により母親から由来するが、プラスミドは母性遺伝に従うことなく母親および父親の両方から転移されるものと示唆された。プラスミドは宿主ミトコンドリアとは異なる機構で転移されると考えられるが、父親から母親への転移の機構は不明である。おそらく雌株の造卵器より雄株の造精器に伸びた受精毛を通しての転移あるいは雄核の移行に伴う転移のいずれかによるものと推測される。

以上のように、アカパンカビの自然集団におけるプラスミドDNAの分布およびプラスミドのミトコンドリア非依存的転移の実験的

証明は、これらプラスミドがアカパンカビ間で水平的に転移されている事実を示す。

一般に遺伝子の水平的転移は分種化した生物における高度に保存された核遺伝子やDNA配列の説明に用いられるが、アカパンカビの場合にはプラスミドが隔離されたミトコンドリア内を転移する点で特殊な水平的転移の例である。同様の事実はアブラナ科植物のミトコンドリア内在性プラスミドでもプロトプラスト融合実験で証明されている。

最後に、菌類におけるプラスミドDNAの水平的転移は遺伝子組換えにおけるクローニング・ベクターとしての利用を考える場合に考慮すべき課題であり、プラスミドの自己複製因子としての長期間安定性、組換えDNAの他菌類との交換性が問題となる。とくに組換え菌が自然界の菌類集団と接触する場合には組換え分子の拡散性について十分に検討する必要がある。

(抄訳 米山勝美一理研)

Independent transfer of mitochondrial plasmids in *Neurospora crassa*

May G. and John W. Taylor

Nature 339 : 30-32 (1989)

文献情報

系統発生的染色：単一細胞同定用のリボソームRNAに基づいたプローブ

微生物を可視化するために行われる古典的な化学染色法は、形態学の分野において非常に有効である。蛍光抗体のような試薬は、ある特定の生物の同定に用いられる。しかし、その特定の生物のみにしか反応しないという性質は、近縁あるいは遠縁な異なる生物を比較しようという場合、少々不便なことが多かった。

アイソトープを用いた *in situ* ハイブリダイゼーションでは、ラジオオートグラムを得るために、フィルムに対して長時間の露出時

間を要し、また、フィルムの乳材面における放射線の散乱のため、おおよそ $1\mu\text{m}$ 以上の解像力しか期待できないため細菌などの微小な生物への適用が難しい。一方、増殖の速い細菌類では、リボソームが細胞当り $10^4 \sim 10^5$ 個と豊富であるため、rRNA由来のプローブをある種の蛍光試薬と結合しておけば、直接的に、しかも短時間に蛍光顕微鏡で可視化できるはずである。そこで、単一の微生物細胞個々の系統発生学上の比較ができるような、rRNAを標的とした染色法の検討を行った。

ここで検討した方法は、16SのリボソームRNA (16S rRNA) の塩基配列に相補的なオリゴデオキシヌクレオチドプローブを用いるもので、顕微鏡を用い、しかも系統発生学上の位置づけが行えることを目的としたものである。

進化系統樹上の下等な生物群のうち、eubacteria, eukaryotes, archaeobacteriaのそれぞれを材料に、16S rRNAの共通なあるいは各々に特異な部分に相補的なオリゴデオキシヌクレオチドプローブ (17~34塩基) 数種類をDNA合成装置で合成し、その5'末端にaminoethyl phosphateリンカーを結合した。そしてさらに、この5'-aminoethyl oligodeoxynucleotideをローダミンあるいはフルオレセインなどの試薬と結合して純化し、プローブとして用いた。

まず、遠縁関係にある *Bacillus megaterium* (枯草菌の一種: eubacterium) と *Saccharomyces cerevisiae* (酵母菌: eukaryote) をスライドガラス上で混合してホルムアルデヒドで固定し、実験に用いた全ての生物のrRNAにハイブリダイズするフルオレセインプローブ (universal probe) あるいは eukaryotes に特異的なローダミンプローブをハイブリダイズさせ、位相差顕微鏡と蛍光顕微鏡でこれらプローブの微生物に対する特異性を観察した。その結果、universal probeをハイブリダイズした場合には枯草菌、酵母菌ともに位相差顕微鏡と蛍光顕微鏡で観察が可能であった。一方、ローダミンを結合させた eukaryote プローブを用いた場合、位相差顕微鏡ではどちらのサンプルも観察できたが、ローダミンの

蛍光のみを透過するフィルターを用いると、eukaryote の酵母菌のみが可視化された。同様に、ローダミン eubacteria プローブ、フルオレセイン eukaryote プローブの場合でも、フルオレセインの蛍光のみを透過するフィルターを用いることで酵母菌のみが観察できた。さらに、archaebacterium プローブを用いることによって、archaebacterium の *Methanosarcina acetivorans* を *B. megaterium*, *Proteus vulgaris*, *S. cervisiae* と区別できた。

また、オリゴデオキシヌクレオチドプローブは系統分化上の近縁なグループをも区別できた。すなわち、ハエの蛹に寄生する膜翅目昆虫(ハチ) *Nasonia vitripennis* の雄の卵のみを殺し、性比に歪みを生じさせるとされる細菌 son-killer およびこれに非常に近縁(16SrRNA で92%の相同性)で形も大きさも殆ど区別できない *Proteus vulgaris* に対して、フルオレセインで標識した son-killer プローブを適応した。その結果、細菌を分厚く塗り込めたスライドグラス上でも son-killer のみが識別できた。すなわち、ここでは進化系統樹上での遠縁生物も近縁生物も 16S rRNA に相補的なオリゴデオキシヌクレオチドをプローブとすることによって区別が可能であった。

ここで用いたようなプローブを用いた染色法は、遺伝子や rRNA シーケンスを直接解析することなしに、それらのシーケンスのある程度の正確な比較が可能であるという面で、あるいは自然界における微生物集団や、培養が困難な微生物について研究するうえで、非常に有効であろう。

今後の問題としては標的細胞の自家蛍光をいかにして取り除くかということが挙げられる。この問題はプローブをハイブリダイズする前に固定細胞の自家蛍光を取り除く処理を行うことで解決されるであろう。また、今回用いたのは低分子のプローブで、細胞への取り込みはスムーズであったが、数百塩基のヌクレオチドを用いた場合には、細胞壁を酵素で緩やかに破壊し、染色を容易にする処理も必要であろう。さらに、比較的リボソーム含量が少なく蛍光の弱い生物では、いくつかの

プローブをいくつかの異なる試薬で標識し、蛍光を高めることが必要であろう。

(抄訳 奥 尚一東大)

Phylogenetic stains: ribosomal RNA-based probes for the identification of single cells

DeLong E.F., G.S. Wickham and N.R. Pace
Science 243: 1360~1363 (1989)

文献情報

Turnip crinkle virusのvirulent satellite RNAの病原性、およびその他の機能領域の同定

植物ウイルスには、宿主内での複製をヘルパーウイルスに依存し、ウイルス粒子内に取り込まれる低分子量のRNAsを保持するものがある。このRNAは、サテライトRNA (sat-RNA) と呼ばれ、ヘルパーウイルスの感染増殖や病徴発現に関与することが知られている。

TCVにおいても、感染、非感染カブ葉およびウイルス粒子内のRNAsの比較によってRNA C (355塩基)、RNA D (194塩基)、RNA F (230塩基)のsat-RNAの存在が認められている。virulent sat-RNA (vir sat-RNA) に当るRNA Cはヘルパーウイルスと共にカブに感染させると、より激しい病徴を示し、avirulent sat-RNA (avir sat-RNA) に当るRNA D, RNA Fは、病徴にまったく影響を与えない。また、これらのsat-RNAは、ウイロイドや他のsat-RNA同様、タンパク質を合成しない。塩基配列解析の結果、RNA Cは、avir sat-RNAと共通性のある5'側領域と、ヘルパーウイルスゲノムと相同性のある3'側領域から構成されており、ユニークな複合分子であることが明らかとなった。

Howellらは、RNA Cの二つの領域の、いずれが病原性に関与しているかを決定するため、*in vitro* transcription系を用いて avir sat-RNA (RNA F) の5'末端の155塩基に

RNA C の 3'末端の200塩基を結合したキメラ sat-RNA F/C を合成した。RNA F の 5'末端領域は、RNA C の同領域と比較して12ヌクレオチド配列が異なっている。sat-RNA F/C をヘルパーウイルスゲノムと共にカブに接種したところ、RNA C と同様、激しい病徴が再現された。この植物からは、キメラ sat-RNA F/C に相当するサイズのRNA が検出され、塩基配列解析の結果、その配列は保存されていることが認められた。

次に、RNA C の他の機能を明らかにするため、cDNA を作成し、各部位にデレションおよびインサクションを行なって、*in vitro* transcripts の性状を調べた。13の突然変異試験の結果、中央部領域の50%以下の変異および1~60塩基のインサクションでは、sat-RNA の感染性を認めたが、3'側領域の変異では感染性を失なった。また5'末端から79番目に存在する Sna BI 部位にインサクションをするか、あるいは Sna BI と Nco I 部位(100塩基目)間の22塩基がデレションすると病徴発現は促進され、病徴はさらに激しくなった。RNA C は多量体を形成することが知られているが、これらの変異によって2量体が集積し、単量体は形成されなかった。

単量体集積(RNA プロセッシング)に影響を与える配列の解析では、Sna BI 部位から Nco I 部位方向へ Bal 31 によって種々のデレションシリーズをつくり、それぞれに感染した植物のRNA の電気泳動パターンを検討したところ、Sna BI 部位から4~5塩基を超えるデレションによって単量体集積が失なわれることが認められた。

以上の結果より、vir sat-RNA (RNA C) の病原性は、ヘルパーウイルスゲノムと相同性のある3'側領域が決定していることが明らかとなった。しかしながら、病原性領域の詳細な同定には感染性を持ち、病原性のない突然変異体が必要であると考えられる。また本研究においてRNA C の5'側領域は、病徴発現を調節したり、RNA プロセッシングに影響を与えることが示された。今後、sat-RNA の変異体を利用した解析により、さらに詳細な機能領域が明らかになるであろう。

(抄訳 中保一浩—東北大)

Identification of regions affecting virulence, RNA processing and infectivity in the virulent satellite of turnip crinkle virus

Simon A. E., H. Engel, R. P. Johnson and S. H. Howell.

EMBO J. 7: 2645-2651 (1988)

文献情報

発現に関する転写因子を支配する複合遺伝子の染色体 rearrangement による作出

グラム陽性菌である *Bacillus subtilis* はその孢子形成時において、2種類の細胞、すなわち母細胞および前孢子を形成する。この母細胞と前孢子は栄養細胞分裂によってひとつの細胞より生ずるが、染色体が等しく分配されるにもかかわらず、それぞれのたどる成熟過程はまったく異なる。

前孢子は成熟孢子となるが、母細胞とその染色体は孢子を包む孢子殻などを形成した後最終的には溶菌して捨て去られてしまう。

母細胞部分の特異的な遺伝子発現は、 σ^K または σ^{27} と称されるRNAポリメラーゼシグマ因子により部分的に決定されている。本研究ではこの σ^K 因子について以下のことを明らかにした。

- ① σ^K 因子のN末端側の約半分は *spo IV CB* 遺伝子、残りのC末端側は *spo III C* 遺伝子にコードされている。
- ② 孢子形成過程において、*spo IV CB* と *spo III C* 遺伝子は染色体の rearrangement により再結合し、複合オープンリーディングフレームを形成する。
- ③ *spo IV CB* と *spo III C* 遺伝子の rearrangement により形成された複合遺伝子 *sig K* は、RNAポリメラーゼシグマ因子 σ^K をコードする。
spo IV CB 遺伝子のオープンリーディング

フレームは155のコードからなり、エドマン分解法によって得た成熟 σ^K のN末端のアミノ酸配列を含み、更にそれに先行して20個のアミノ酸が存在していた。このことにより、 σ^K 因子は *spo IV CB* にコードされており、プロタンパク質として翻訳されるであろうと推定された。しかし、SDS-PAGEで確認された σ^K の分子量は27,000Dであり、オープンリーディングフレーム全体(すなわちプロタンパク質)でも17.3kD、成熟タンパク質(135アミノ酸)では15.2kDにしかならないことから、*spo IV CB* 遺伝子が σ^K をコードするには短かすぎると考えられた。

一方、*spo III C* 遺伝子から推定されるアミノ酸配列は *E. coli* および *B. subtilis* 由来の他のシグマ因子のC末端アミノ酸配列とよく似ており、しかもその配列の開始点付近は *spo IV CB* 遺伝子の σ^K をコードしている領域の推定アミノ酸配列の最後の部分とよく一致していた。そこで、*spo IV CB* と *spo III C* 遺伝子が共通のAATGA配列を介して site specific に結合して241コドンよりなる複合遺伝子を出し、プロセッシング後は221アミノ酸より25.4kDのポリペプチドをコードするという仮説をたてた。

このことは、孢子形成開始後1時間目と5時間目の細胞からDNAを抽出し、数種の制限酵素で切断後、*spo IV CB* および *spo III C* をプローブとしたサザンハイブリダイゼーションを行うことにより確認できた。

また、rearrangementは5bpの配列(AA-TGA)により行われるが、*spo IV CB* ではその下流、*spo III C* ではその上流に互いに逆向きの共通配列(21bp中19bpが一致する)が存在する。この配列は、染色体のrearrangementを行うrecombinaseの認識部位であろうと考えられる。

複合遺伝子 *sig K* は σ^K のRNAポリメラーゼへの結合ドメインをコードしている。このドメインはシグマ因子の中でも高度にアミノ酸配列を保存している領域で、*spo IV CB* に由来している。また、この *sig K* 遺伝子は-35認識部位と推定される α helix- β turn- α helix 領域をもC末端近くにコードしており、

これは *spo III C* 遺伝子由来である。更に、*spo IV CB* と *spo III C* の両者にまたがる形で-10認識部位がコードされていることも明らかになった。

sig K 遺伝子は、孢子形成開始後3時間で出現し、ある種の変異株(*spo II G*, *spo III D*)で阻害されるが、別の変異株(*spo II D*, *spo III G*)では阻害されないなどの結果から、孢子形成時特異的、母細胞特異的と考えられる。(*spo III D* は母細胞系遺伝子発現の調節遺伝子、*spo III G* は前孢子系遺伝子発現の調節遺伝子)

spo IV CB と *spo III C* の rearrangement は、母細胞に限定されること、および孢子形成過程の最終段階で母細胞が廃棄されることなどから可逆的反應である必要がない。

染色体のrearrangementが選択的な発現に関与していることはよく知られており、(i) *Salmonella* における鞭毛の抗原相変異、(ii) *Mu* フェージの宿主域の変化、(iii) 酵母の接合型の相互変換、(iv) 脊椎動物のイムノグロブリン遺伝子の調節などがある。

他にも、微生物では *Streptomyces* の気菌糸形成、mixobacteriaの子実体形成などの最終的には溶菌するようにプログラムされた細胞の分化過程において、このような機構が存在することが予想される。

また、より高等な生物の場合にも、不可逆的rearrangementが生殖細胞以外の様々な遺伝子発現を支配する調節遺伝子において行われていると考えられる。

(抄訳 村山晶子—東農大)

Chromosomal rearrangement generating a composite gene for a developmental transcription factor

Stragier P., B. Kunkel, L. Kroos and R. Losick

Science 243: 507~512 (1989)

文献情報

ミトコンドリアのアセンブリ因子をコードする酵母 *HSP60* 遺伝子の特徴

Tetrahymena thermophila から分離された hsp 60 は熱ストレスによって誘導されるタンパク質であり、これと免疫学的に相同のタンパク質は *E. coli* をはじめ、植物や動物のミトコンドリア内に存在することが知られている。本論文では酵母 (*S.cerevisiae*) *HSP60* 遺伝子のクローニングとその塩基配列の決定および予想されるアミノ酸配列から *E. coli* の gro EL およびコムギの葉緑体の RBP タンパク質との相同性を検討したうえ、hsp 60 タンパク質の機能を考察した。

まず著者らは *T. thermophila* hsp 60 の多クローン抗血清を用いて酵母遺伝子ライブラリーの中から 3.0kbp のクローンを分離し塩基配列を決定したところ、その中に gro EL および RBP と相同のタンパク質をコードする ORF を見出した。そして更にこの DNA をプローブにして *HSP60* 全 DNA を含む断片 (5.3kbp) を得た後、その全塩基配列を決定した。

次に *HSP60* に相当する 1.8kbp の塩基配列から予想されるアミノ酸配列を調べたところ 572 個のアミノ酸からなり、これは gro EL および RBP のアミノ酸配列と相同性が高く、酵母 hsp 60 タンパク質が構造的および免疫学的に gro EL に類似していることと合わせ、この ORF が *HSP60* 遺伝子であると断定した。更に、この DNA をプローブにした Northern プロテイングの結果、*HSP60* は 1.9kb の mRNA に転写されており、hsp 60 タンパク質の推定分子量 64,000 とも符合した。この mRNA 量は酵母に熱ストレスをかけると 2~3 倍に上昇した。また、この DNA を多コピーベクターに連結して得た YEp *HSP60* による形質転換体ではミトコンドリア内に免疫学的に hsp 60 と相同のタンパク質が高濃度で存在していた。

更に hsp 60 と gro EL および RBP タンパク質の相同性を調べたところ、それぞれ 54% と 43% であり、相同領域はペプチド鎖全体に分散していた。また、hsp 60 と gro EL の C 末端附近に Gly-Gly-Met の反復配列が見られた。hsp 60 の特徴として N 末端が他に比べ 22 アミノ酸長いことが挙げられる。この部分はミトコンドリアの標的識別因子の特徴として 5 個の塩基性アミノ酸を有しているが、酸性アミノ酸はなく、また 6 個 OH アミノ酸残基が存在していた。hsp 60 に標的識別配列のあることはミトコンドリア内に存在する結果と符合する。

続いて、酵母 *HIS3* 遺伝子を挿入することにより破壊した *HSP60* 遺伝子 (*hsp60::HIS3*) を用いて *HSP60* の役割を検討した。この破壊された遺伝子を *his3* についてホモな 2 倍体に導入して a/ α W303 ∇ *HSP60* を得た。この 2 倍体においては *HSP60* 座が一方では野生型、他方では破壊された遺伝子 (*hsp60::HIS3*) となっている。したがって、この 2 倍体の四分子解析を行った結果、His 要求性セグレガントは野生型の *HSP60* を持っていたが、一方の *hsp60::HIS3* を持つセグレガントは生育しないことから、*HSP60* は生育にとって不可欠であり、熱ストレス条件下に限らず 30°C での増殖にも必要であることが示された。

著者らとは別に Cheng ら (*Nature* 337: 620, 1989) は非許容温度下でミトコンドリア酵素系の構築ができない突然変異株 *ts143* を分離している。そこで、この突然変異が著者らの分離した *HSP60* によって相補されるかをアレイズム試験により検討した。*ura3* に関してホモの 2 倍体の a/ α W303 ∇ *HSP60* を *URA3* をマーカーに持つ YEp *HSP60* で形質転換した株について四分子解析を行ったところ、得られた 1 倍体は *HSP60* または *hsp60::HIS3* のどちらか一方を持っており、いずれも YEp *HSP60* (*URA3*) を含んでいた。そこで、これら 1 倍体各々を *ts143* と接合させた結果、*HSP60/ts143* の 2 倍体は継代培養により YEp *HSP60* が脱落しウラシル要求性となったが非許容温度下で生育し、

一方, *hsp 60:: HIS 3/ts 143* の2倍体で非許容温度下で生育するものは総てウラシル非要求性であり YEpHSP 60 を持っていた。このことから *hsp 60::HIS* と *ts 143* は互に相補しないことが示された。なお, Cheng ら(1989) は *ts 143* が *HSP 60* の対立遺伝子であり, *HSP 60* の突然変異によってミトコンドリアのサブユニット複合体のアセンブリーが非許容温度下でできなくなり致死すると述べている。

HSP 60 とは別に *HSP 70* のタンパク質がミトコンドリアおよびERへのタンパク質輸送に必要な unfolding 因子であると報告されている (*Nature*, 322: 800,805,1988)。著者らはミトコンドリアの種々のタンパク質を高次構造へ組立てる因子が膜の両側にあり, *hsp 60* タンパク質は内側にあつて, 輸送されたタンパク質の refolding あるいは組立てに関与していることを示唆している。

(抄訳 飯村 穰一名古屋国税局)

Characterization of the yeast *HSP 60* gene coding for a mitochondrial assembly factor

Reading D. S., R. L. Hallberg and A. M. Myers

Nature 337: 655-659 (1989)

文献情報

T-DNA の挿入により誘発されたシロイヌナズナのわい性突然変異

農業上重要な形質を支配する遺伝子を単離し, クローニングすることは, 遺伝子導入による新しい育種素材の作出の上で克服しなければならない課題である。ある遺伝子を釣り上げる場合, その遺伝子によって支配されている形態的, 生理的特性だけが正常に発現しない変異株があれば, 操作は比較的容易になる。トウモロコシでよく知られているトランスポゾン, その様な変異株を人為的に作成

する手法として注目されている。トランスポゾンが機能を持つ遺伝子の塩基配列に入り込んだ場合, その発現は不完全なものとなり変異が生じ, その挿入部を目印とすれば変異した形質を支配する遺伝子が釣り上げられる。しかしながら植物の持つトランスポゾンの多くは, 多数のコピーが存在し, さらに転位の生じる確率が非常に低く, まだ実用的手法とはなっていない。近年, 遺伝子導入法としてアグロバクテリウムが用いられているが, この方法は遺伝子導入のほかにトランスポゾンと同様に変異体を作り出す可能性を持つと考えられる。つまりアグロバクテリウムが, T-DNA によって外来遺伝子を植物体ゲノムに組み込む過程で, たまたま機能を持つ塩基配列に挿入が起こり変異株が得られる可能性があるわけである。現在までに, この方法による形質転換は多くの植物で報告されているにもかかわらず, そのような変異株の報告はない。その理由としては, ①植物体の全塩基配列の中には意味(機能)を持たない配列が非常に多く, そのような部分に T-DNA が組み込まれる確率が高い。したがって②変異株を得るためには, 何百, 何千という形質転換体を育てなければならず物理的制約がある。また③形質転換体を得る場合, 一般にカルス経路させるため体細胞変異 (somaclonal variation) が生じ, 得られた変異が, 遺伝子の挿入によるものなのか, 培養によるものなのか区別できないことなどがあげられる。

そこで著者らは, シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) を用い, 組織培養を使わずに, アグロバクテリウムによる形質転換を行った。シロイヌナズナは, 半数体当りの塩基数が 7000kb と他の植物に比べて非常に少なく, 繰り返し配列も全体の 10~14% と少ないため, 意味を持つ配列への T-DNA の挿入の確率が高いと考えられるうえ, 植物体そのものが少く一世代の期間が 4~6 週間と短いのでグロースチャンバーの中で同時に数千個体を生育させ短期間で変異の調査できる利点がある。具体的には, T-DNA 中にカナマイシン抵抗性遺伝子の入った非腫瘍性 Ti-プラスミドを持つ *Agrobacterium tumefaciens* (C

58Clrif)を滅菌し十分吸水させた種子と一晚共存培養させて感染をはかり、組織培養を経ずそれらの種子を発芽させるだけで形質転換体を得ようとした。発芽し、正常に生育した個体(T1)から得られた種子(T2)でカナマイシンによる選抜を行ったところ、3回の実験で1000個以上の形質転換体を得られた。さらにそれらの後代(T3)でカナマイシン抵抗の136系統について形態的変異を調べたところ、36系統で草丈、花器の構造、茎状、胚形成などに変異が認められ、それらがメンデル様式で分離することも確認された。特にわい性形質に注目し、それらの遺伝様式を調べたところ、抵抗性で高い草丈(Kan^R・tall)のT3個体からは、抵抗性でわい性(Kan^R・Dwf)、抵抗性で高い草丈(Kan^R・tall)、感受性で高い草丈(Kan^S・tall)のものがそれぞれ1:2:1の比率で分離しKan^R・DwfのT3個体からはKan^R・Dwfのものしか分離せず、何れの場合もKan^S・Dwfのもの分離は見られなかった。また、わい性株Kan^R・Dwfと野生株Kan^S・tallを正逆交雑させたところ、何れもF₁はすべてKan^R・tallであり、F₂では(Kan^R・Dwf):(Kan^R・tall):(Kan^S・tall)=1:2:1となり、やはりKan^S・Dwfの個体は一つも分離しなかった。この結果から形質転換によって生じたわい性形質は、草丈を制御している塩基配列に優性形質のカナマイシン抵抗遺伝子が組み込まれたために生じた劣性変異であることがわかった。さらに組み込まれた遺伝子の植物体ゲノム中での存在様式をサザン法で調べたところ、世代を経てもその様式は変わらず、かなり安定して組み込まれていることも確認された。

本実験により、種子を用いたアグロバクテリアウムによる形質転換法は、変異株を人為的に作り出す手段ともなりうることが証明されたわけだが、この手法は供試植物がシロイヌナズナであったために有効であって、他の植物での実用性は低いと考えられる。注目すべき点は、著者が述べているように、この植物を用いれば、全塩基の2 kb おきに組み込みがある形質転換体セットを短期間で得ることが可能な点である。それができればさま

ざまな形質についての変異株も得られるはずであり、有用な形質を支配する遺伝子の釣り出しは飛躍的に進歩すると考えられ、この実験の意義は大きい。

(抄訳 中村俊樹—東北農試)

A dwarf mutant of *Arabidopsis* generated by T-DNA insertion mutagenesis.

Feldmann K.A., M.D. Marks, M.L. Christianson and R.S. Quatrano
Science 243: 1351-1354 (1989)

文献情報

ゼブラフィッシュ胚で細胞の運動と運命を変える突然変異

一個の受精卵からどのようにして動物の体が作られていくかという形態形成は、現在の生物学のなかでも最も興味ある問題である。形態形成の遺伝子機構の研究は、線虫やショウジョウバエなどで細胞の発生運命を変えるような突然変異を用いることによって大きく発展している。脊椎動物ではこのような突然変異が少ないことが研究の障害になっている。オレゴン大学のKimmelらは、魚類のゼブラフィッシュで特定の胚細胞の運動と発生運命を変化させる致死突然変異を発見した。この突然変異では、この胚期中胚葉細胞の運動に異常が起こり、胴に移動して体節を作るはずの細胞が尾部に移動するために、胴に体節の欠損が生じるのである。

この突然変異、*spt-1 (b104rl)*は劣性で、表現型は“spadetail”とよばれるように胴が短く、尾が腹側にほぼ直角に曲がっているのが特徴である。ヘテロ個体間の交配から生まれた個体は4分の1が突然変異個体で、ヘテロの雌の卵から雌性発生で産まれた半数体では2分の1が突然変異個体となる。この突然変異をホモにもつ個体は受精から一週間以内

に死ぬ（ゼブラフィッシュは約3日で孵化する）。

突然変異個体では、胚はのう胚期の初めまでは正常に発生するが、尾芽胚期になると胴の中胚葉には間充織細胞が散在しているだけで、沿軸中胚葉が形成されないという発生異常が起る。後の発生段階でも、胴の体節や筋節の形成は極めて貧弱である。これと対比的に、尾芽は異常に大きく、その後の発生でも尾部の中胚葉組織はよく発達する。これに対して、頭部の中胚葉は正常に発生する。また、胴にある体節以外の構造、脊索や脊髄などにも異常は見られない。これらのことから、発生異常は、胴の中胚葉に限られていることがわかる。

筋節について調べて見ると、突然変異胚では、野性型に見られるようなV字型構造が存在しない。筋繊維や筋肉そのものが無い部分も見られる。筋節の数は正常胚の30対に比べて、突然変異個体では14対位しかない。

胴で体節が形成されない原因としては尾芽が肥大するなどのことから、胚細胞の運動に異常があることが考えられる。のう胚期に、胴に移動してそこで沿軸中胚葉を作るはずの細胞が尾部に移動して尾部中胚葉になるのではないかということである。

この問題を調べるために、のう胚初期のある細胞をローダミン-デキストランの注入によって標識し、ビデオ顕微鏡で細胞の運動を追跡した。野性型では細胞は背側の方向に移

動し、頭部と胴の中胚葉を形成する。これに対し、突然変異胚では、細胞は後方に移動して、尾部に入りそこの中胚葉に定着するのである。

これらのことから、*spt-1*は正常ではのう胚形成のときに働く遺伝子であると考えられる。しかし、今のところこの遺伝子の機能やどの細胞で発現するかなどについては解っていない。この突然変異で発生の最初に見られる表現型が、のう胚期における中胚葉細胞の運動の異常であることから、突然変異は細胞運動に直接的な障害を与えるのであろうと考えられる。この細胞運動の障害が、中胚葉細胞そのものに起るのか、細胞の運動を導くまわりの組織に起るのかも今のところ解っていない。脊椎動物における突然変異の研究材料として、ゼブラフィッシュが優れているのは雌性発生によって作られる半数体や二倍体で劣性突然変異の検出が容易にできることである。これからも今回のような形態形成に関する突然変異がゼブラフィッシュで発見されることが期待される。

（抄訳 尾里建二郎—京大）

A mutation that changes cell movement and cell fate in the zebrafish embryo

Kimmel, Charles B., Donald A. Kane, Charline Walker, Rachel M. Warga and Mary B. Rothman

Nature 337 : 358-362. 1989



海外便り

メルボルン大学・植物細胞生物学センター 訪問記

生研機構

増澤 力

はじめに

年号も平成と改まった三月初旬、バイオテクノロジー研究・開発の現状調査のため、道宗研究員（当機構農業機械化研）と二人で、ニュージーランドとオーストラリアを対象に、畜産と植物育種との2課題について、国立機関を中心とした16研究機関を見学する機会に恵まれた。

両国ともバイオテクノロジー研究・開発の推進は、大学を含めた国の研究機関主導型で、ここ数年の間に組織を改編して新しい課題に対応していた。

研究・開発する課題は、自国の特産品を主に、それも、数年で結果が出る実用化研究に力を注いでいた。国の研究機関で行なう実用化研究では、民間企業と共同して、その資金を入れる努力をしていた。そのうえ、国は、バイオテクノロジーを行なう企業に対して、免税措置をとっている。

また、最近企業等約120社600人が参加するオーストラリアバイオテクノロジー協会（Australian Biotechnology Association, 会長 Neil S. Willetts）を組織し、情報交換活動を行なっていた。

他の研究機関のバイオテクノロジーの研究活動については、別の機会に報告するとして、ここでは、メルボルン大学の植物細胞生物学センター（Plant Cell Biology Research Centre）に焦点を当てて、見聞したことを感想も含めて報告する。

なお、訪問に当たって、在日オーストラリア大使館の Mr. Mark Hyman 科学参事官と東北大学の日向教授のご紹介を頂いたことを記して感謝の意を表す。

1. 植物細胞生物学センターはバイオテクノロジーのメッカ

ご多忙なクラーク先生に2時間の面会時間を取って頂いた。先生は、2階と3階に二つの研究室を持ち、30人程のスタッフを抱えて次の三つのテーマに研究を集中していた。

1. Molecular basis of self-incompatibility
2. Molecular basis of pathogenesis
3. Carbohydrate chemistry

女性の研究者であるクラーク先生は、米国出身で現在は、センター長として精力的に研究を指導し、国際学会出席と依頼講演のため国外へよく出掛けるとのことである。日本にも何回かこられ、昨年、Toyobo Biotechnology Foundation Symposium, Nagoya に出席のため、6人の学者とともに来訪した。東北大の駒嶺先生、日向先生をはじめ多くの知人があるようであった。

また、CSIRO（連邦科学産業研究庁）の理事会メンバーを始め、International Society of Plant Molecular Biology の理事会メンバー、The Biological Sciences Committee, The Australian Research Council の chairwoman と審議会、学会等数多くの役職をこなし、文字通りオーストラリアバイオテクノロジーの推進者でもある。

我々が訪問した折には、数多くの研究成果の別刷と、最新のセンター年報（1987～88）を用意されるなど、細かい心遣いを頂いた。

2. 良き研究者に囲まれて

まず前に挙げた三つの研究テーマについて、

先生の部屋で短い説明を受けた後、二つの研究室を見学した。その際、研究者一人一人の経歴と現在の研究について、各人の長所が分かるように、簡単にかつ心配りがある方法で紹介された。例えば『Dr. G. I. McFadden は、Queen Elizabeth II の fellow で、細胞中の遺伝子を見る *in situ* hybridization について新しい方法を開発し、優れた技術をもつ。そこで世界中から引っ張りだこだ。』他の例では、『この大学には、出産で研究を中断した女性研究者が折角の技術を失わないために特別な奨学金があり、Dr. N. は、芝の研究所から来て、今は自家不和合性に関するタンパクを研究している』というような具合である。

なお、両国とも女性の活動が目立ち、研究所長を含む多くの女性研究員にお会いした。

先生の研究室には、米国、西独、スウェーデンなど諸外国からの研究者が多く、特に米国とは研究者の相互交流をしているとのことである。そのほか、オーストラリア各地からの研究者、メルボルン大学の大学院学生など多種多様なメンバーが活発に研究を進めていた。

研究室に隣接して、二つに分かれたガラス温室をもち、貴重な遺伝子型 (genotype) をもつ植物を育て、組換え植物体の実験に使用することである。ガラス越しに見る内部には実験材料である花タバコ (*N. alata*) が栽培されているのが目に付いた。

3. 三つのハイレベルな研究

研究室の見学を終えて、さして広くない先生のお部屋で先生が用意されたティーを飲み、クッキーをつまみながら、クラーク先生とベーシック博士から、最近の研究の主な結果と今後の方針とについて、更に詳細な説明を伺った。両国ともティータイムを非常に大切に、午前と午後には、各1回必ず取るようで、各所で研究者が、ティーを取りながら談笑する光景に出会った。

専門外ではあるが、私の理解によれば、研究の内容は次のようであった。

1. 先ず、植物の Molecular basis of self-incompatibility (自家不和合性) の研究については、モデルとして使用する植物は、ナス科の *N. lata* (花タバコ) と *L. peruvianum* (野性のトマト) の2種であり、これを支配する遺伝子 (S-gene と呼ぶ) は一つであることを見出し、それをクローニングすることに成功した。

また、花柱から、S-gene に対応するタンパク質を分離し、これが、糖タンパク (glycoprotein) で、その glycosylation site が重要な役割をする。その詳細な構造について目下研究中である。

次に、既に S-gene を支配するゲノム DNA クローン (genomic DNA clone) を得ているので、現在これに適切な、プロモーターを利用して植物体に組み込み、その発現を見る研究を行なっている。さらに、この gene に突然変異を起こし、表現型 (phenotype) にどのような差があるかを調べている。

これに関連する、二つの重要な報告があり (*Nature* 321: 38-44, 1986 と 326: 99-102, 1987), 現在この方針に沿って研究を推進している。この研究は、世界的にもまた注目を浴びている。その理由は、

一つは、実用面から、植物の受精をコントロールするメカニズムがわかれば、種子の形成やハイブリッドの形成に応用できる。また、基礎科学的に見ても、種子形成のメカニズムの解明に役立つものである。

もう一つは、動物では既に研究が進められているが、この研究は、植物の二つの細胞が、



写真1 クラーク所長(右)およびベーシック博士(中央)から研究内容の説明を受ける筆者(左)

いかにしてお互いに交信するかを示す植物認識の最初の例となる。これがわかれば、植物細胞中に見られる病原体がどのようにして侵入するか、また排除されるかがわかる。そこには、carbohydrate complex が関与しており、また、同時に glycosylation site が重要な役割を果たしているという。

2. 次は、Molecular basis of pathogenesis の研究であり、二つの研究のテーマがあった。

(1) まず、病原菌 (*Phytophthora cinnamomi*) と宿主であるトウモロコシ (*Zea mays*) との関係である。この菌の胞子が植物体の根に接近し、最初の交信にどのようなことが起こるかである。これには根から分泌される粘質物 (root slime) が関係する。この粘質物は、carbohydrate complex であり、その構成成分は、ガラクトース、グルコース、キシロースなど多くのサッカライドである。その中で、特に胞子の receptor と fucose との相互作用により特異的な認識が行なわれると考えられている。この carbohydrate complex の詳細な構造と認識のメカニズムについて、目下研究を続けている。

(2) もう一つは、遺伝子工学の面からの研究である。すなわち、病原菌 (*P. vignae*) とササゲ (cowpea, *Vigna unguiculata*) との関係を取り扱った。まず、どの程度病原体が茎 (stem) に侵入するかを判断する方法を開発し、ササゲに、病原菌耐性遺伝子を与えた植物と、耐性を持たない植物とを対象に、病原体の胞子がどの程度深く侵入するかを見る。

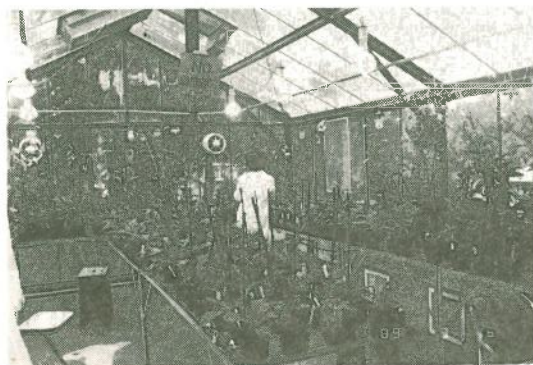


写真2 研究室に隣接したガラス温室
貴重な遺伝子をもつ植物を育てる

この方法で、どの遺伝子が病気に抵抗性をもつか、何時でも調べることができる。世界中の研究者がこの方面に関心を持ち研究を進めている。この研究室では、新しい方法でアプローチをした。まず、胞子、菌糸、シストなどに適当なプロモーターを用いて、この遺伝子を組み込み、植物体における発現をみている。この研究はまだ完成していない。

現今では、作物の病気の防除剤として、化学薬品を多く用い、このため各地で水および土壌が汚染されている。そこで化学薬品を用いないで植物に耐病性をもたせることで、植物の病気の防除をしたい。多くの農薬会社は、この研究に関心を持っており、遺伝子工学を用いて耐病性のある作物を作ろうとしている。当研究室では、そのための基礎研究を行なっている。

3. 三つめは Carbohydrate chemistry の研究である。既に動物では、細胞間の交信に carbohydrate の重要な役割が知られている。1と2で説明したように、植物でも同様に、carbohydrate が重要な役目を果たしており、ベーシック博士が中心となって研究を進めている。

このほか二つの研究機関と共同研究を進めている。Walter and Eliza Hall Institute と住血性鞭毛虫 (*Leishmania*) について、CSIRO Soil Division と線虫 (nematodes) についての研究である。住血性鞭毛虫は、通常菌を殺すマクロファージに付着して内部に侵入し、リソソーム (lysosome) の中で生存している。

この理由として、*Leishmania* の表面が glycoconjugate に覆われており、また絶えずこの表面から分泌物を出して保護しているからだと考えている。既に、この物質を単離し、glycolipid であることを明らかにし、その細部構造と作用を研究中である。

この研究の重要性は、基礎研究として病気を起こす細胞と細胞との相互作用を明らかにするだけでなく、これらの病気に対するワクチンの開発に寄与することにある。

4. 専門家の協力と高度な機器の共同 利用が必要

このセンターは、政府からの援助で成り立っている特別な研究機関である。特に1988年の初めから、センターは The Report of the Review Committee on Special Research Centre の勧告により、強力な研究ができるような体制をとった。

最近の研究は、多くの専門の異なる優れた研究者の協力がなければできない。例えば、carbohydrate の研究でも少なくとも4~5人の各分野の専門家の協力が必要だ。遺伝子工学の分野でも同様である。幸いにメルボルン

大学は、この条件を十分に満たしている。またメルボルン地域は、分子生物学、バイオテクノロジーに強く恵まれた環境である。

実験装置も他の国立機関科学技術産業庁と比較して、立派なものがあるわけではないが奇麗に整頓されていた。近くの研究機関と共同研究をしておりNMR、DNA合成機など高価な機器類の利用が可能である。

おわりに

短時間の訪問であったが、先生の真摯な研究態度と親切な対応が印象に強く残った。

国際学会レポート

第8回国際植物膜輸送学会に参加して

農林水産省 農業生物資源研究所 細胞生理研究室
笠毛邦弘

はじめに

第8回国際植物膜輸送学会が、1989年6月25日~30日にかけて、イタリアのベニス市で開催された。筆者は科学技術庁国際研究集会派遣研究員として参加する機会を得たのでその概要を紹介したい。

この学会は植物の生体膜の基礎および応用に従事している各国の研究者が一堂に集まり、最新の知見や考え方を発表および討論することにより、お互いの友好を深めると同時に今後の生体膜の研究の方向に重要な指針を与える役目を長年演じてきた。この学会は前回オーストラリアのシドニーで開催され、3年ごとに世界各国で開催されている。今回はイタリア国ミラノ大学を中心として、第8回国際植物膜輸送学会組織委員会によって組織化され主催された。参加者は18か国から総勢400名を超え、ポスターセッションを含めると発表は約230余りにのぼった。今回の学会

の参加者は生体膜の構造および機能に関する基礎的研究を行っている研究者がほとんどであり、我が国からは大学から9名と私の計10名が参加し、発表を行った。

発表は次の五つのセッションに分かれ、各セッション10~15のテーマで講演があった。各セッションは次の通りである。

1. Transport at the plasma membrane
(原形質膜の輸送)
2. Transport at the tonoplast
(液胞膜での輸送)
3. Calcium and membrane transport
(カルシウムと膜輸送)
4. Transport and metabolism
(輸送と代謝), ならびに
Regulation of transport processes
(輸送の調節)
5. Biochemistry and molecular biology
of transport
(輸送の生化学ならび分子生物学)

1. 原形質膜での輸送

このセッションでは、東大・田沢仁教授の座長のもとで、D. Sanders (ヨーク大・英国) が、原形質膜を介しての H^+ イオンの輸送系の概略、ならびにそれらの駆動力となるプロトン勾配の形成に関与する H^+ -ATPase (プロトンポンプ) の構造と機能ならびに Ca^{++} チャンネルについて基調講演を行った。また、N.A. Walker (シドニー大・オーストラリア) や W.J. Lucas (カルフォルニア大・米国) らによって、原形質膜を介しての H^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+ などの能動輸送あるいはそれらとの共輸送の仕組みを、車軸藻という巨大細胞を用い、主として電気生理学的手段で解析した結果が報告された。また、ここ数年話題になっている、ATPを介さない H^+ 輸送、つまり酸化還元反応で H^+ を輸送する機構が原形質膜に存在することを B. Rubinstein (マサチューセッツ大・米国) らが報告し、その供与体や受容体は原形質側であることを P. Askerland (ルンド大・スウェーデン) らは水性2層分配法で得た膜小胞を用いて明らかにした。

2. 液胞膜での輸送

このセッションでは、J.A.C. Smith (エジンバラ大・英国) の座長のもとで、L. Taiz (カルフォルニア大・米国) が、液胞膜 H^+ -ATPase の構造と機能について基調講演を行った。そのなかで、世界で初めてネガチブ染色によって液胞膜 H^+ -ATPase を電子顕微鏡像として得ること成功したことが報告された。この像は、従来から報告されていたミトコンドリア F_0F_1 -ATPase と非常によく似た。液胞膜にはピロフォスファターゼ (PPiase) というもう一種類の H^+ ポンプが存在する。R. Hedrich (ゲッティンゲン大・西独) らは、液胞膜 H^+ -ATPase と PPiase の両者のポンプカレントに差異があること、R.J. White (エジンバラ大・英国) は、蛍光プローブを用いた膜小胞での実験から、PPiase を介して、フマル酸>マロン酸>クエン酸の順でプロトン輸送

を促進することなどを報告した。また、S. D. Tyerman (フィンダース大・オーストラリア) は、パッチクラップ法を用いて、車軸藻の液胞膜にコンダクタンスのことなる (100pS と 60pS) 二つの K^+ チャンネルと Cl^- チャンネルが存在することを明らかにした。60pS の K^+ チャンネルは、液胞に対して原形質がネガチブであるときは、常に閉まっているという。

3. カルシウムと膜輸送

このセッションでは、A. J. Trewavas (エジンバラ大・英国) の座長のもとで、D. Marme (フライバーグ大・西独) が、動物と植物における Ca^{++} の輸送の仕組みについて総説的に講演した。そのなかで、植物においても原形質中の Ca^{++} 濃度に依存したホスファチジルイノシトール3リン酸の関与が強く示唆された。F. Rasi-Caldogno (ミラノ大・イタリア) と D. E. Evans (オックスフォード大・英国) は、 Ca^{++} 輸送に関与するATPaseの構造を明らかにした。それによると、分子量は約140kDaで、八つのトランスメンブレンフラグメントを含み、N末端もC末端もいずれも原形質側に存在するというものであった。また、K.S. Schumaker (メリーランド大・米国) は H^+/Ca^{++} の対向輸送体 (antiporter) を単離同定し、さらにその再構成系の作成も成功したことを報告した。J.I. Schroeder (カルフォルニア大・米国) は、孔辺細胞の容積や浸透圧の調節に、原形質内の Ca^{++} 濃度が重要な鍵であることをパッチクラップ法を用いて明らかにした。また田沢 (東大) は原形質内の Ca^{++} が液胞膜の K^+ チャンネルの開閉に関与することをパッチクラップ法を用いて明らかにした。

4. 輸送と代謝ならびに輸送の調節

このセッションでは、H. Göring (フンボルト大・東独) の座長のもとに、W. Tanner (レジエンズバーグ大・西独) はその基調講演のなかで、膜の持つ区画形成 (compartment-

mentation)が生命の維持にどれほど重要であるかを強調するとともに、1) いかにしてイオンはチャンネルを通過するのか、2) いかにして担体 (transporter) の速度は調節されるのか、3) いかにしてチャンネルや担体の機能する数は変化するのかなど、未だ解明されていない問題を指摘した。F. A. Smith (アデレイド大・オーストラリア) は細胞内の pH 調節機構ならびに膜内外の電位形成を弱酸・弱塩基、 H^+ 輸送の阻害剤などを用いて明らかにし、E. Marré (ミラノ大・イタリア) は今まで蓄積された H^+ -ATPase に関するデータをもとに、 H^+ -ATPase 活性の植物ホルモン (オーキシン、ブラシノリド、ABA) や細胞内の pH 変化との相互作用についてまとめた。また J. K. M. Roberts (カルフォルニア大・米国) は、 ^{13}C -NMR を用いて、原形質と液胞内に存在するマロン酸の同定に成功したことを報告した。また A. Hager (チュービンゲン大・西独) は、 H^+ -ATPase の SH 基の酸化還元反応がこの酵素の立体構造に変化を及ぼし、それが代謝変化に関与することを仮説的に報告した。また H. Felle (ギーゼン大・西独) は、オーキシンの作用は原形質の pH の低下であり、これは原形質内の Ca^{++} の増加によるものであるという従来からの説を強調した。また、E. A. C. MacRobbie (ケンブリッジ大・英国) は、アブシジン酸 (ABA) は気孔を閉ざす役目をするが、これは Cl^- の efflux および K^+ の efflux に起因することを明らかにし、この過程において細胞質の Ca^{++} が増加し、 Ca^{++} のチャンネルを開くことが重要であることを指摘した。また、M. I. DeMichelis (ミラノ大・イタリア) は、原形質膜 H^+ -ATPase 活性のフシコクシンによる促進は、イノシトールリン酸回路を経由した暗号伝達 (signal transduction) に由来し、そうだと報告した。

5. 輸送の生化学ならびに分子生物学

このセッションでは、C. W. Slayman (エール大・米国) の座長のもとに、R. Serrano (EMBL, 西独) がこのセッションの基調講演

を行った。今回は、従来から用いている酵母の原形質膜 H^+ -ATPase の遺伝子解析を、突然変異体を用いて行った。その結果、遺伝子発現において、開始コドンの上流部の TATA Box 周辺の構造が非常に重要であることを発表した。また、最近明らかになった植物原形質膜 H^+ -ATPase の遺伝子構造との比較も行った。A. Goffeau (ローバイン大・ベルギー) はタバコ、M. R. Sussman (ウイソコンシン大・米国) はアラビドプシスから、それに A. B. Bennet (カルフォルニア大・米国) らはトマトから、各々別個に H^+ -ATPase の一つの遺伝子の単離に成功した。これはいずれも 947~959 個のアミノ酸残基を含み、八つの transmembrane fragments を含んでいることが明らかになった。また、アカパンカビとの homology は約 36% 程度であったが、ATP 結合部分、リン酸化部位、それに活性中心部と思われる付近の homology は 70~80% と高かった。筆者は、モヤシマメから得た H^+ -ATPase の活性中心は 1 分子のアルギニン残基が占めることを、アルギニンの化学修飾剤である 2, 3-ブタンジオン (BD) やフェニルグルオキサール (PGO) を用いた擬一次反応 (pseudo-first order kinetics) から明らかにしたことを発表した。

おわりに

今回の学会においては、生体膜、特に原形質膜と液胞膜でのイオン輸送を中心に、その輸送機構並びにそれらに関与する H^+ -ATPase の構造および Ca^{++} チャンネルなどについて、詳細な発表があった。特に今回は Ca^{++} の生理的作用の役割が従来になく議論され、動物細胞でみられると同様、外界からの刺激伝達に重要な役割を演じることも明らかにされた。これらの発表は、今後植物細胞における環境情報の受容伝達の研究方向を示すものとして注目された。また、 H^+ 輸送に関与する H^+ -ATPase の遺伝子が、タバコ、アラビドプシスそれにトマトから単離同定された。そして今後はこの遺伝子を用いた実験が可能になりつつあり、今後の進むべき方向を示すものと

して注目された。

なお、これらの発表内容は、今年中に Proceeding として Elsevier 社から出版される予定である。

ただ残念なことは、世界各国からの 400 余名が参加したにもかかわらず、日本からの参加はわずか 10 名だったことである。いかに日本における膜研究者の層が薄いかを思いしらされた感じがした。日本においては、膜に興味を持つ研究者は決して少なくない。今後、これからも、こうした学会に日本の若い研究者が積極的に参加し、発表する機会を得て欲しいと思った。

今回は、1992 年、アメリカ・カルフォルニア大で開催されることに決定した。

今回開催されたエヴァンジェリスタ会議場は、水の都ベニスで 2 番目に大きかったギルドの中央礼拝堂で、13 世紀に建てられた古い建物であった。内部は冷房なしでも常に一定の温度に保たれており、またその中央部の祭壇には大理石の素晴らしい彫刻があり、また周囲と天井は、14 世紀かから 15 世紀に描かれたという素晴らしい壁面で覆われていた。そのなかでなんの抵抗もなく無造作に開催されている学会は、とうてい日本では考えられない情景であり、イタリアの古い文化がいかに盛んであり優れていたか、また当時ベニスの商人がいかに裕福であったかをつくづく実感した次第であった。

編集後記

本年 4 月以降購読会員数が 16 増えて 267 となりました。投稿原稿も順調に増え、紙面の都合上 2, 3 点次号送りにせざるを得ないほどになりました。これも皆様の御理解と本誌に対する関心の深さの現れと喜んでいます。本年もバイテク関連企業、国公立

試験研究機関および大学の方々から本誌の編集に対する御意見や御要望をうかがうため編集懇談会を予定していますが、これに関係なく本誌に対する御意見・御要望がありましたら、いつでも当情報協会までお寄せいただきますようお願いいたします。

(大畑記)

ブレイン テクノニュース (第15号)

平成元年 9 月 15 日発行

発行者 渡邊 五郎

発行所 生物系特定産業技術研究推進機構

〒160 東京都新宿区新宿6丁目24-16 日本生命新宿6丁目ビル3F
TEL. 03-205-6565 FAX. 03-205-6566

編集 (社) 農林水産技術情報協会

〒103 東京都中央区日本橋兜町15-6 製粉会館6F
TEL. 03-667-8931 FAX. 03-667-8933

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 1989