

CODEN : BTEEEC

TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

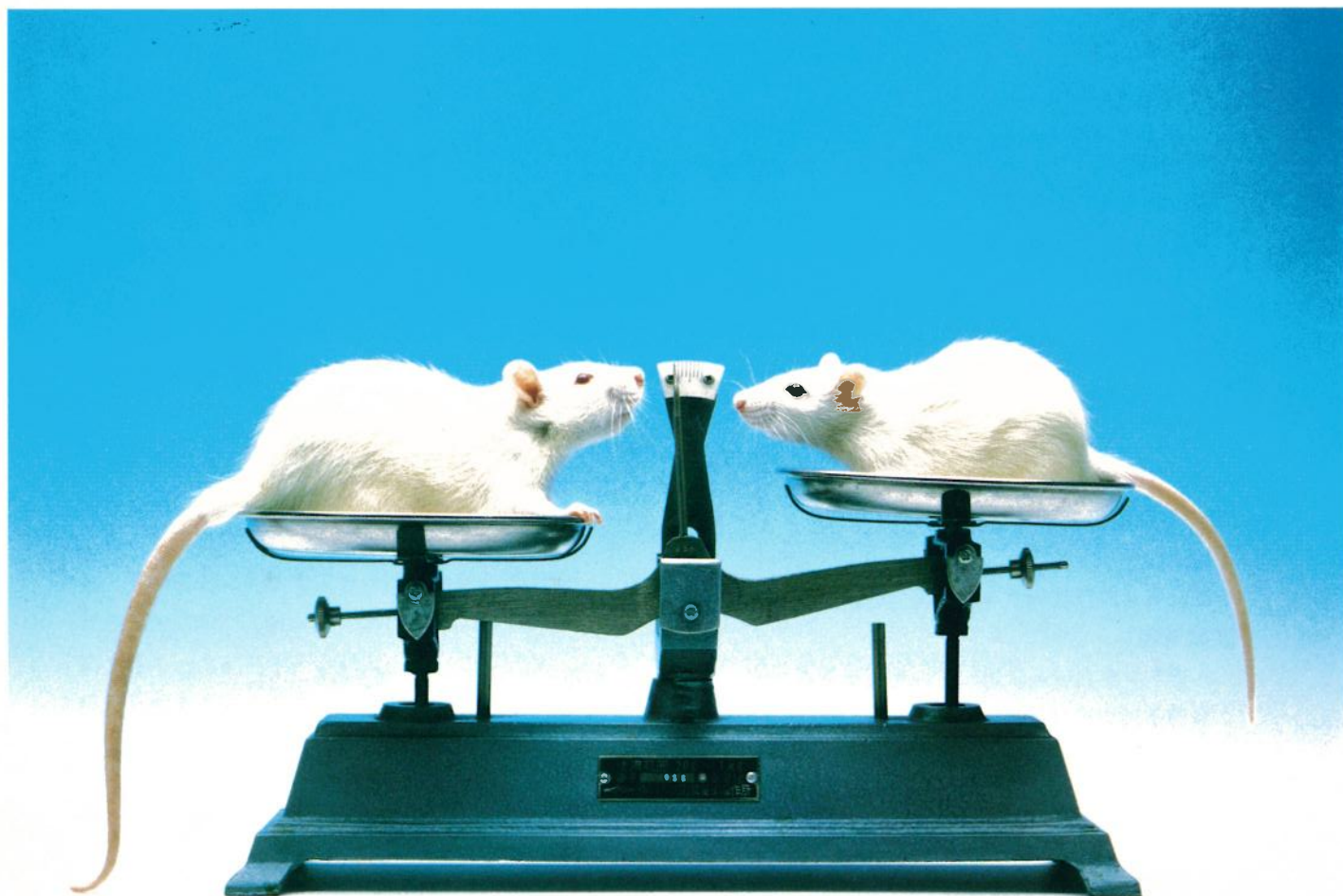
ブレインテクノニュース

第 64 号

NOVEMBER 15, 1997

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution



アンチセンス遺伝子導入トランスジェニックラット——Miniラット（右）

（本文13ページ参照）

発行＝生物系特定産業技術研究推進機構

総 説

角田幸雄・加藤容子

クローン家畜の作出技術について…………… 1

国内情報

渡部終五

ミオシンを作る遺伝子，水温で変わる…………… 3

林 徹

ソフトエレクトロンを用いた穀物の殺菌…………… 7

武田幸雄

紫外線・光触媒による畜舎脱臭法の開発……………10

上田 進

アンチセンス遺伝子導入トランスジェニックラット——Mini ラット——の作製……………13

地域の先端研究

坂田雅史

高品質系統豚「トウキョウX」の系統造成……………17

文献情報

エチレン生合成系統遺伝子の発現からみたカーネーション切花の老化のメカニズム……………21

各種茶抽出物の抗酸化および酸化作用……………22

口に入った菌のゆくえ，消化管型培養器の活用……………22

植物の防御反応におけるレセプターを介した MAPkinase の活用……………23

海外便り

徳永智之

ES 細胞を利用したアルツハイマー病モデル動物の作出に関する研究

——アラバマ大学での1年——……………25

特別情報

柴垣 真

生研機構インターネットホームページの紹介……………28

クローン家畜の作出技術について

近畿大学農学部 動物発生工学研究所
角田幸雄・加藤容子

本年2月成体の体細胞の核移植によって子羊が得られたことが報道されて以来、多くのマスメディアにとりあげられ、社会的に大きな話題となっている。クローン家畜作出技術は、家畜の育種・改良・増殖のために実施されてきた受精卵移植技術の効率を一層高めるための技術であるが、本稿ではその現状と将来展望について述べてみたい。

1. はじめに

英国ロスリン研究所の Wilmut¹⁾らが、羊乳腺細胞の核移植によって子羊を得たことを本年2月27日付の Nature 誌に発表して以来、クローン研究は社会的に大きな話題をよんでいる。同氏らの報告の詳しい内容はすでに本誌61号に文献情報として紹介されているので、本稿では割愛する。成体の体細胞でも少なくとも一部の核は個体への発生能力を保有していることを証明した同氏らの報告は、生命科学と倫理問題に関する大きな議論を世界各国でひきおこした。我が国においても、科学技術会議や、文部省学術審議会において討議が行われてきた。その結果、クローン個体作出技術は学術的、実用的にきわめて重要であることから、家畜や実験動物における研究は推進すること、ヒトにおけるクローン個体作出に関する研究は当分の間禁止するという答申が、先日科学技術会議からだされている。本稿では、クローン家畜作出の現状と将来展望に焦点をしばって紹介してみたい。なお、詳しい文献についてはすでに発表している総説²⁾を参照していただきたい。

2. 哺乳動物における核移植とは どういう技術か

核移植とは、分離した核（ドナー核とよばれる）を染色体を除去した卵細胞質（レシピエント卵細胞質とよばれる）へ注入して核移植卵をつくり、受胚雌へ移植して産子を得る技術である。用いるドナー核は実際には少量の細胞質を含む細胞あるいは初期胚の割球が用いられており、またレシピエント卵細胞質へは直接注入するよりも細胞融合法を用いてとりこませる場合が多い。

3. 哺乳動物における核移植の現状

核移植は、用いるドナー核の違いによって便宜的に3つのタイプに分けることができる。また、ドナー細胞を培養するかそのまま使用するかによってさらにそれぞれ2つのグループに区分できる（表1）。これまで世界各国で行われてきた核移植で用いられているドナー核は、大部分が8細胞期～桑実期の胚の割球である。1986年に羊で、1987年に牛で初めて成功例が報告された。我が国では1991年に核移植による子牛が得られて以来、1996年9月までに合計155頭の子牛が生産されている。1個の初期胚（例えば8細胞期胚）の割球をばらばらにして核移植後、ある程度発育した時期（例えば8細胞期）にすべての胚の割球

表1 核移植の現状

ドナー細胞	培養の有無	動物種	最初の成功例	国内	
初期胚	無	マウス	McGrath & Solter (1983)	角田ら (1985)	個体
		牛	Prather <i>et al.</i> (1987)	Ushijima, Eto & Tsunoda (1991)	個体, 多数報告
	有	マウス	Tsunoda & Kato (1993)		胚盤胞へ発生
		羊	Campbell <i>et al.</i> (1996)		個体
胎子期生植細胞	無	マウス	Tsunoda <i>at al.</i> (1989)		胚盤胞へ発生
	有				報告なし
体細胞	無	マウス	Tsunoda & Kato (1997)		栄養外胚葉細胞から個体
	有	羊	Wilmur <i>et al.</i> (1997)		成体乳腺細胞から個体 胎子繊維芽細胞から個体

をもう一度ばらばらにして(計算上は $8 \times 8 = 64$ 個の割球になる)再度核移植するといった継代核移植法を用いることによって, 1個の牛胚を40~50個程度の胚に複製できるようになっている。しかしながら, 核移植胚を受胎雌に移植した場合の受胎率や産子生産率は低く, 40~50頭のクローン牛が得られる水準には達していない。我が国でこれまでに得られている最大クローン子牛数は6頭であり, 2~3頭の場合が多い。

初期胚を体外で培養することによって細胞株を樹立し, その細胞を核移植に用いて子羊が得られているが, まだ他の研究グループからの確実な成功例は報告されていない。

将来精子や卵子といった生殖細胞に分化する細胞である胎子期生殖細胞は, 1頭の胎子から数万のオーダーで採取できるので, この核移植で産子が得られると多数のクローン個体を得られることになる。しかしながら, これまで個体を得られたという報告はみられない。

Wilmurらは, 今回6才の雌羊の乳腺細胞を培養することによって得た細胞の核移植によって子羊の作出に成功した。同氏らのグループ³⁾では, すでに昨年胎子から採取した繊維芽細胞を培養して樹立した細胞の核移植によっても子羊を得ており, 今回の報告でも再度それを確認している。また最近, 同氏らはヒトの遺伝子を導入した胎子繊維芽細胞を核

移植のドナー核として用いることによって, トランスジェニック羊を作出したことも報道されている。注) 繊維芽細胞とは, 繊維性結合組織の重要な成分をなす細胞である。動物の細胞を組織培養すると, その起源のいかんを問わずしばしば出現する(岩波生物学辞典より)。

4. クローン作出技術の家畜生産上の問題点と将来展望

体細胞である乳腺細胞の核移植で子羊が生まれたことが大きくとりあげられているが, 初期胚の割球をドナー核として用いた核移植もまだ安定した技術とはなっていない。特に, 核移植卵を受胎雌へ移植する前に一定のステージまで培養する必要があるが, 体外での胚盤胞への発生率は20~30%と低い。また, 核移植卵を受胎雌へ移植後の受胎率も低く, 受胎後の流産や過大子による分娩時の難産が多いこと, 分娩後の事故率が高いことなどの問題点があることがあげられる。しかしながら, これまで開発されてきた牛における非外科的受精卵移植技術(1965), 受精卵の凍結保存技術(1973)や体外受精技術(1982)なども, 開発された当初は成功率も低く, 今日のように実際の繁殖技術として使用されるようになるまでに10~20年の年月を要している。

初期胚割球をドナー核として用いる核移植, 特に継代核移植技術は, おそらく10年後には

1個の胚から少なくとも10頭程度のクローン牛が確実に生産できる水準に達しており、生産性向上のための技術として普及しはじめているものと思われる。

今後の研究の進展にもよるが、初期胚由来の培養細胞をドナー核として用いる核移植も10年後には大きく進展しているものと思われる。体細胞を用いた核移植は、今回の Wilmut らの報告が追試され再現性あることが認められれば、家畜生産の現場や有用生理活性物質を生産する家畜の増殖に使用される日が思いがけず早く来る可能性もあるが、現時点での予測は困難である。幸い平成9年度の生研機構の「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」として筆者らの申請していた課題「継代培養細胞を用いた家畜繁殖技術の開発に関する基礎的研究」が採択されたので、今後これらの点を追求していきたいと考えている。

核移植は、本来クローン動物を作出することを目的に開発された技術ではなく、発生過程における核と細胞質の相互作用の解明や、

細胞や核の分化機構の解明にきわめて有効な手段として用いられてきた技術である。分化している核から個体への発生能力を引き出す“核の初期化因子”が同定されれば、老化や臓器の再生、がん細胞の正常化など基礎科学に貢献する基礎的知見が得られる可能性も考えられる。20年先、30年先の家畜の育種・改良や増殖に貢献することを目的とした哺乳動物の発生機構の解明に関する“戦略研究”で得られた知見が、野生動物の保護や、倫理という社会的なフィルターを通したうえで医療にとり入れられることがあるとすれば、それは研究者として存外の喜びである。

文 献

- 1) Wilmut, I. *et al.* (1997) *Nature*, 385 : 810
- 2) 角田幸雄・加藤容子 (1997) 日畜会報, 68 : 596
- 3) Campbell, K.H.S. *et al.* (1996) *Nature*, 380 : 64

国内情報

ミオシンを作る遺伝子，水温で変わる

東京大学 大学院農学生命科学研究科
渡部 終五

コイは各水温に適した働きをもついろいろなミオシンを遺伝子を変えて作り出し、季節的に変動する大きな水温変化にも耐えて平気で泳ぎ続ける。cDNA クローニングにより3種類のミオシン遺伝子が得られた。さらに、ゲノム解析により、計32個のミオシン遺伝子が見つかった。温度変化に依存した遺伝子の使い分けは、それ自体で生物育種に役立つ可能性があるだけでなく、この発見は未知の遺伝形質の探索の夢を切り開くものである。

1. はじめに一魚の温度適応のふしぎ

魚は体温が変化する変温動物である。化学反応は温度が高くなればなるほど、反応が速く進む。逆に温度が下がると反応速度は低下

する。当り前のことであるが、変温動物はこのような変化をもたらす環境温度の変動にあっても平気で生き存えている。魚で最も極端な例は沼や池にすむコイで、夏場は30°C以上、冬は0°C近くまで水温が変化するが、いつでもすいすいと泳いでいる。魚は私たち哺乳類と同じように、ATP と呼ばれる物質を分解

し生じたエネルギーを使って筋肉を動かす。この運動はミオシンを主成分とする太いフィラメントが、アクチンを主成分とする細いフィラメントと、ミオシンがATPを分解するときのエネルギーを使って互いに滑り合うことによって行なわれる。このエネルギーを獲得するためのATPを分解する反応も一つの化学反応である。魚の体にも普通の化学反応が当てはまるなら、コイは水温が低くなったらATPの分解が進まなくなり、泳げなくなるはずではないだろうか。逆に水温が高くなったら分解が急激に進み、新幹線の「のぞみ」のように、猛スピードで泳ぎ続けてすぐに疲れ果ててしまうのではないだろうか。年中、適度な速さで泳ぐための隠された秘密は何であろうか。

2. 魚は水温が変わると死後変化が異なる

実は私たちは最初からこの問題に取り組んだのではない。魚肉は野菜や畜肉にくらべて鮮度低下が速く、低温に保管しておかないとすぐに食べられなくなる。そこでこの原因を探るためいろいろの魚の死後の変化を調べていたら、コイでは飼育した温度によって死後変化の進み方が変わることをみつけた¹⁾。高い水温で飼ったコイを氷の中につけて貯蔵すると、低い水温で飼ったものに比べ死後硬直と呼ばれる体が硬くなる現象が著しく早くみられた。死後硬直は筋肉がATPを消費しつくした結果おこる現象で、生きているときに筋肉を動かす重要なタンパク質であるミオシンが死後のATP消費にも働く。つまり、動物が生きているときでも死んだときでも、筋肉はミオシンが同じようにATPを分解し生じたエネルギーを利用して運動したり、硬くなったりするのである。

その後の詳しい調べで、上で述べた死後硬直の変化は、筋小胞体とよばれる筋細胞内のCa²⁺濃度を調節する細胞小器官がコイを高温に飼うとこの温度に適応した構造に変化し、コイを死後に低温に移すとこの筋小胞体が働かなくなるためにおこることが明らかとなっ

た¹⁾。

3. 水温が変わると異なったミオシンが作られる

ところでこの研究の過程でいろいろ調べているうちに、ミオシンも変化しているらしいことがわかった。すでにイギリスのあるグループが、コイや魚について、前述の太いフィラメントと細いフィラメントから成り立つ筋原線維とよばれる筋細胞内の組織がATPを分解する能力を調べ、キンギョを飼う温度でその能力が変化することを発表していた²⁾。筋原線維のATPを分解する能力はミオシンに依存していることから、魚の飼育温度を変えるとミオシンも当然、変化するものと信じて、この研究を始めた。

実際に高温で飼ったコイからミオシンを取り出してATPを分解する活性を試験管内で調べ、低温で飼ったコイのミオシンのものと比べてみた。すると同じ温度で反応を比べると、0~35°Cのいずれの温度でも低温で飼ったコイのミオシンの方が高温のものより数倍高かった³⁾。この結果は、コイを低温で飼うと低温でも活性の高いミオシンを作り出し、逆にコイを高温で飼うと活性が抑えられるミオシンを作り出しATPの分解が高温ではあまりおこらないようしていることを示唆している。

4. ミオシンを作る遺伝子は水温で変化する

そこでさらにこのような変化が遺伝子レベルで調節されているのかどうかを調べた。まず高温および低温で飼ったコイからミオシンを取り出し、アミノ酸配列の違いを調べることにした。高温および低温のコイのミオシンともATPを分解して得たエネルギーを筋肉の運動に変換する働きについては基本的に同じであることから、分子の構造は非常によく似ている。したがってアミノ酸配列もよく似る。前節で述べた2つのミオシンの性質の違いは、わずかなアミノ酸配列の違いから生じ

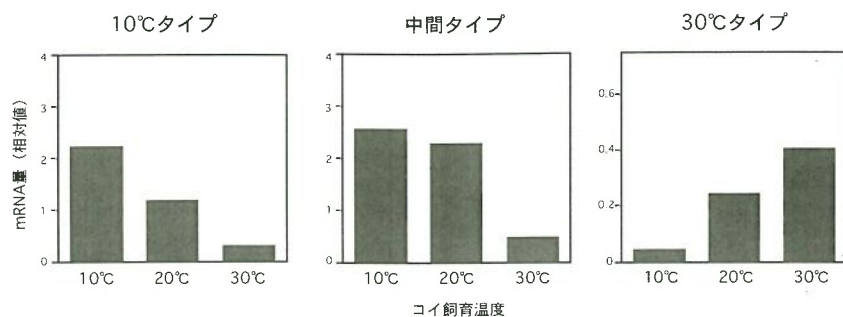


図1 コイのミオシン遺伝子の種々の温度における mRNA 蓄積量⁵⁾

ているものと考えられる。事実、アミノ酸配列の一部を解読したところ、高温型および低温型のコイのミオシンともよく似たが、一部異なる箇所がみられた⁴⁾。このアミノ酸配列の違いを利用し遺伝子を探索することにした。実際、私たちが違いを読み取った場所は、ミオシン分子のほぼ真ん中であつた。現在、遺伝子工学の技術が進んで、一部でもアミノ酸配列がわかると、この配列に対応する DNA を合成し、この DNA をプローブにして遺伝子をクローン化することが容易になってきた。このような方法を用いてコイの筋肉から10°C型、30°C型、およびその中間型の計3種のミオシン遺伝子を見つけることができた⁵⁾。ミオシンは分子量が約50万で、1種類の分子量約20万の重鎖2本と分子量が約2万で2種類の軽鎖4本の、計6本のサブユニットからなる。みつけた遺伝子は正確にはミオシンの重鎖を作り出すものである。

3種類のコイのミオシン遺伝子について、魚を飼う温度を10、20、30°Cと変えて発現の様子を調べてみたところ、図1のように10°C型遺伝子は10°Cの魚で、30°C型遺伝子は30°Cで飼った魚で最も多く発現していた⁵⁾。中間型は20°Cで飼った魚のほか、10°Cでもよく発現していることがわかった。これは魚が棲む温度で最も適した働きをもつミオシンを、遺伝子を変えることによって作り出していることを示唆している。そこで、各遺伝子によって作り出されるミオシンがどのような特徴をもっているのかが問題となる。

5. 各水温に適したミオシン

遺伝子の塩基配列からアミノ酸の配列を知

ることができるので、3種類のミオシンのアミノ酸配列を解読し比較してみた。アミノ酸の違いは6%以下で、きわめてよく似ていることがわかった⁶⁾。ヒトのミオシンとは22~24%も異なることから、コイのミオシン同士がいかに似ているかがわかる。ちなみに、同じ哺乳類のヒトとラットのミオシンを比べると、アミノ酸の違いはわずか2%程度である。ミオシン分子のC末端側の半分は α らせんの線維状の分子が2本絡まり合ってcoiled-coil状態となっている。そこで3種類のミオシン遺伝子を使って微生物にタンパク質を作らせ、その α らせんのほどける温度を測定したところ、表1に示すように10°C型は30°C型に比べてより低い温度でほどけることがわかった⁷⁾。この結果は、10°C型ミオシンが低温でも働くことができるように、より柔らかい構造をもつことを示唆している。ATPを分解するN末端側の半分については、既に低温のコイからとったミオシンの方が高い活性を示すことを述べた。10°C型と30°C型のアミノ酸の違いを、ほかのミオシンで解かれているN末端側の部分の立体構造の上に記すと、図2のようになる⁸⁾。いろいろな場所にアミノ酸の変異がみられる。どの変異がどのような働きの違いに結びつくのか、今後の大きな課題である。

表1 コイのミオシン線維状部の α らせん崩壊温度⁷⁾

ミオシン	崩壊温度 (°C)
10°C型	35
中間型	35, 40
30°C型	40



図2 10℃および30℃型ミオシンの ATP およびアクチン結合部位を含むN末端側球状部のアミノ酸変異⁶⁾黒く塗りつぶした場所がアミノ酸変異を表わす。

6. ミオシンを作る遺伝子が32個もある

今回みつけた3種類のみオシン遺伝子をもとに、さらにほかのみオシン遺伝子がコイにはないのかと探してみたところ、計32個がみつかった⁸⁾。いずれもコイの泳ぎに関係するものである。これらの遺伝子の中には実際にはミオシンを作り出さない偽遺伝子も含まれていると思われるが、その多さに驚きを感じる。変温動物が環境温度で体質あるいは代謝を変化させることはよく聞くことであるが、今回このような変化が始めて遺伝子のレベルから明らかになった。働きの違いをもつミオシンが水温の変化にしたがって、筋細胞内でどのように入れ換わってゆくのか。ミオシンを作る遺伝子が水温の変化によって変わるとき、その情報を伝えるものは何か。まだまだ未知の問題が多く残されている。

コイは極端な例かもしれないが、変温動物は一般にこの手の体質変化をもっていること

が考えられる。恒温動物はこのような変化を調節する遺伝子を偽遺伝子として未だもっているのかも知れない。同じ働きをもつ遺伝子でもより環境に適した遺伝子をうまく使うことができれば、コイのように大きな温度変化の中でも適応できる生物を育てることができるとも知れない。また、低温でしか棲むことのできない魚を高温でも飼うことができるであろう。

7. 未知の遺伝形質の発掘の夢

近年、任意のアミノ酸配列をもつタンパク質を人工的に作るようになってきたが、細胞の中に実際に存在しているようなタンパク質の構造になる確率はきわめて低いことがわかっている。このとき、コイのみオシンのように同じような働きをもちながら、少しずつ異なった特徴をもつタンパク質のアミノ酸配列の情報が大切になる。ある働きをもつ酵素でも、より低温やより高温に適した働きをもつ酵素に変えるための構造や仕組みが魚の遺伝子を調べることで明らかとなり、その特徴ある構造を微生物に作らせることにより、新しい機能をもつタンパク質を作ることが可能となるかも知れない。

ヒトは35~40億年をまかして試行錯誤の突然変異を繰り返して進化した生物の頂点にたっているとする考えがあるが、温度適応に関しては私たち恒温動物が捨て去った遺伝子の方がよほど機能的に優れているように思われる。今日、生物の多様性と種の保存が叫ばれているが、本研究のような高等生物にはみられない遺伝子の働きを発掘もその大切な仕事のひとつのように思われる。

文 献

- 1) Watabe, S. *et al.* (1990) *Agric. Biol. Chem.*, 54 : 219-221
- 2) Johnston, I. A. *et al.* (1975) *FEBS Lett.*, 50 : 293-295
- 3) Watabe, S. *et al.* (1992) *J. Biochem.*, 111 : 113-122
- 4) Watabe, S. *et al.* (1995) *Biochem. Bio-*

- phys. Res. Commun.*, 208 : 118-125
- 5) Imai, J. *et al.* (1997) *J. Exp. Biol.*, 200 : 27-34
- 6) Hirayama, Y. and S. Watabe (1977) *Eur. J. Biochem.*, 246 : 380-387
- 7) 柿沼誠ら (1997) 平成9年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 169
- 8) 村松麻衣子ら (1997) 平成9年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 169

国内情報

ソフトエレクトロンを用いた穀物の殺菌

農林水産省 食品総合研究所
林 徹

エネルギーが30万電子ボルト (300keV) 以下の電子, すなわちソフトエレクトロンを用いることにより, 玄米, 小麦, 殻付ソバなどの穀物を品質変化をほとんど起こさずに殺菌することができる。さらに, 脱穀や搗精することにより, ソフトエレクトロンの当たった部分は殻, 糠, ふすまと共に除去されるので, 得られた白米, 小麦粉などは無処理のものと同じ特性を有する。また, ソフトエレクトロンは香辛料, 豆, 種子などの殺菌にも利用可能である。

1. はじめに

近年の加工米飯, 包装餅, コンビニエンスストアの弁当などの普及により, 米の殺菌技術が求められるようになってきている。また, 生麺, パン, ケーキ, 冷凍食品など多くの加工食品の原料となっている小麦(粉)の殺菌に対するニーズも高い。ところで, 世界各国で香辛料や乾燥野菜のような乾燥食品原材料の殺菌に放射線が用いられているが, 殺菌に必要な線量のガンマ線や高エネルギー電子線を照射すると澱粉の切断や脂質の酸化が起これ, このような放射線は穀物の殺菌には利用できない。ところで, 穀物, 香辛料, 豆などの食品を汚染している微生物はこれらの食品の表面に付着しており, 食品表面のみを殺菌すれば, 品質変化を起こさずに, 病原菌や腐敗菌を除去することができる。このような表面のみの殺菌を可能にするのが低エネルギーの電子「ソフトエレクトロン」である。

著者はエネルギーが30万電子ボルト (300 keV) 以下の低エネルギーの電子線を「ソフ

トエレクトロン」と定義した。電子線の物体に対する透過力はエネルギーに依存し, エネルギーが小さいほど透過力は小さくなる。ソフトエレクトロンの透過力はガンマ線や電子線よりはるかに小さく(図1), 紫外線よりは大きい。ソフトエレクトロンが物質を透過する深さは一般に50~150 μ mである。

ソフトエレクトロンは透過力がないので, 食品を完全に殺菌するためには, 食品を回転させながらソフトエレクトロンを食品表面に均一に当てる必要がある。そこで横振動と縦振動を同時に与えて穀物を回転させる穀物回転装置を開発し^{1,2)}, それを用いてバッチ式

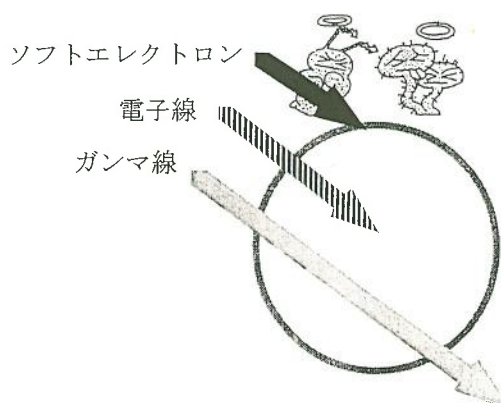


図1 ソフトエレクトロンの透過力

表1 ソフトエレクトロン処理した穀物の生菌数と粘度

	玄米		粳		小麦		ソバ	
	生菌数 個/g	粘度 mpa.s	生菌数 個/g	粘度 mpa.s	生菌数 個/g	粘度 mpa.s	生菌数 個/g	粘度 mpa.s
無処理	4.1×10^6	211.1	4.7×10^7	149.7	2.7×10^4	287.4	1.4×10^6	211.3
75keV電子	<10	206.0	…	…	<10	293.6	…	…
100keV電子	<10	185.9	6.3×10^3	147.3	<10	246.6	3.3×10^2	199.9
130keV電子	<10	136.2	<100	137.3	<10	206.4	<10	192.5
ガンマ線10kGy	<10	21.1	6.3×10^2	31.9	<10	34.6	<10	26.8

で穀物にソフトエレクトロンを当てて以下に述べる実験を行った。なお、連続的に穀物を回転させながらソフトエレクトロンを当てるには振動フィーダーを用いればよい。

2. ソフトエレクトロンの穀物に対する殺菌効果と品質への影響

穀物の成分のうち電子線やガンマ線の影響を最も強く受けるのは澱粉である。そこで、ソフトエレクトロンの穀物に対する殺菌効果を調べるとともに、ソフトエレクトロン処理した穀物を粉砕して得られた粉末の懸濁液の糊化粘度(澱粉の分解の指標)を測定した。玄米は7.5万電子ボルト(75keV)、粳は13万電子ボルト(130keV)、小麦は7.5万電子ボルト(75keV)、穀付ソバは13万電子ボルト(130keV)のソフトエレクトロンで殺菌することができた。しかも殺菌に必要なエネルギーのソフトエレクトロンで処理しても穀物の粘度はほとんど変化しなかった(表1)¹⁾。一方、ガンマ線でこれらの穀物を殺菌すると粘度は非常に低下した。すなわち、ガンマ線や電子線を用いて穀物を殺菌すると穀物の澱粉が著しく分解するが、殺菌に必要な最低のエネルギーのソフトエレクトロンで処理しても澱粉はほとんど分解しない。これは、ソフトエレクトロンが穀、糠、ふすまで止まり内部には当たっていないことを示すものである。

玄米の殺菌について詳しく調べると、このことがより明らかになった。エネルギーが6万電子ボルト(60keV)のソフトエレクトロンで「コシヒカリ」「日本晴」いずれの品種の玄米もほぼ無菌にできた(表2)²⁾。ソフトエレクトロンは糠層に当たるので、ソフト

表2 ソフトエレクトロン処理した米の微生物数(個/g)

	コシヒカリ	日本晴
無処理	2.8×10^5	1.8×10^5
60keV, 4 μ A, 15min	2.8×10^3	3.4×10^3
60keV, 4 μ A, 30min	<100	2.1×10^2
60keV, 4 μ A, 45min	<10	<10
75keV, 8 μ A, 10min	1.1×10^2	1.2×10^3
75keV, 8 μ A, 20min	<100	<100
75keV, 8 μ A, 30min	<10	<10
90keV, 10 μ A, 10min	2.6×10^2	3.5×10^2
90keV, 10 μ A, 20min	<100	<10
90keV, 10 μ A, 25min	<10	<10
100keV, 14 μ A, 5min	4.5×10^2	6.0×10^2
100keV, 14 μ A, 10min	<100	<100
100keV, 14 μ A, 15min	<10	<10
ガンマ線 2.5kGy	1.0×10^4	7.9×10^3
ガンマ線 5.0kGy	2.5×10^2	2.8×10^2
ガンマ線 7.5kGy	<10	<10

エレクトロン処理により糠層の脂質の酸化が起り玄米のTBA値(脂質酸化の指標)は上昇した(表3)²⁾。しかし、処理後に搗精して白米にすると酸化された糠の部分が除去されるので、60keVのソフトエレクトロンで処理した玄米を90%あるいは88%の歩留まりで搗精して得られた白米のTBA値は無処理のものと同じになった。また75keVで処理した玄米を歩留まり88%で得られた白米のTBA値も無処理のものと同値を示した。ソフトエレクトロンのエネルギーが高くなると玄米の内部も酸化されるので、搗精してもTBA値は無処理のものと同じにはならなかった。また、ガンマ線では玄米全体が酸化されているので、搗精してもTBA値はほとんど低下しなかった。なお60keVのソフトエレクトロンで殺菌した後に調製した白米の米飯のテクスチャーも無処理のもの

同じであった²⁾。

小麦は品種によりソフトエレクトロン殺菌に適したものとそうでないものがあり、オーストラリア・スタンダード・ホワイト (ASW), ウェスタン・ホワイト (WW) のようにソフトエレクトロン殺菌に適した品種の小麦は6万電子ボルト (60keV) で殺菌できた。この品種による違いは小麦の構造によるものである。溝に堅く微生物を巻き込んだ構造をしている品種はソフトエレクトロン殺菌に適していない。言い換えると、適切な品種を選べば、無菌の小麦あるいは小麦粉を調製することが可能である。

3. ソフトエレクトロン殺菌の特徴

ソフトエレクトロンは品質変化をほとんど起こさずに穀物を殺菌できるという以外にもいくつかの特長を有している。放射線殺菌では、透過力の大きい放射線を遮蔽するためにコンクリートと迷路に囲まれた照射室の中で食品を殺菌する。このために、放射線殺菌は、施設の大型化を余儀なくされ、施設の建設経費も高額である。しかし、ソフトエレクトロン殺菌では、電子のエネルギーが低いために遮蔽は金属板で十分であり、食品工場内の工程に組み込むことが可能である。わかりやすく例えれば、電子顕微鏡の電子の最高エネルギーが50~200keVであり、ソフトエレクトロンの遮蔽も電子顕微鏡程度でよい。したがって、遮蔽のための施設の建設経費も非常に少ない。ソフトエレクトロンでは電子の加速電圧が低いので装置の価格も低い。したがって、ソフトエレクトロン殺菌はガンマ線や高エネルギー電子線を用いた放射線殺菌と比べて非常に安価な技術となる。

放射線は放射線障害防止法により厳しく管理されている。法律のうえでは、電子線の場合、1 MeV 以上のものを放射線として定義している。したがって、ソフトエレクトロンは放射線障害防止法 (原子力基本法) という放射線には当てはまらないので、放射線管理に係わる法律上の義務が免除される。すなわち、ソフトエレクトロンの使用に際しては、

表3 ソフトエレクトロン処理した玄米を歩留まりを変えて搗精した白米の TBA 値

処理の方法	玄米	92%	90%	88%
無処理	17.69	4.95	4.75	4.23
60keV, 4 μ A, 45min	26.68	7.98	5.18	4.75
75keV, 8 μ A, 30min	34.21	9.05	8.37	5.43
90keV, 10 μ A, 25min	41.45	15.55	9.47	9.43
100keV, 14 μ A, 15min	57.66	19.74	14.33	13.70
ガンマ線 2.5kGy	60.59	46.59	43.83	43.23

科学技術庁の許可を得る必要はなく、放射線取扱主任者を任命したり科学技術庁の立ち入り検査を受ける必要もない。ソフトエレクトロンの取扱は技術的にも法律的にも電子顕微鏡と同じ扱いでよい。すなわち、ソフトエレクトロン殺菌は技術的にも経済的にも法律的にも、従来の放射線殺菌にはない特長を有していると言える。

4. おわりに

ソフトエレクトロンは米や小麦などの穀物だけでなく、豆、香辛料、種子などの殺菌に利用できる³⁾。例えば、ソフトエレクトロンは発芽力を落とすことなく種子を殺菌できる。ソフトエレクトロン殺菌は私が約2年前に思いついて研究を開始したものであり、大量の食品のすべての表面に均一にソフトエレクトロンを短時間に当てることのできるシステムの構築など、解決すべき課題も多いが、テレビのブラウン管の中を走っている電子の数倍のエネルギーの電子を用いたソフトエレクトロン殺菌は手軽に多様な乾燥食品原材料の殺菌に利用でき、多くの可能性を秘めている。

文 献

- 1) Hayashi, T., Y. Takahashi and S. Todoriki (1997) *J. Food Sci.* 62(4) 858-860
- 2) Hayashi, T., H. Toyoshima, H. Okadome, S. Todoriki and K. Ohtsubo (1997) *J. Food Protect.* (in press)
- 3) Hayashi, T., Y. Takahashi and S. Todoriki (1997) *Radiat. Phys. Chem.* (in press)

紫外線・光触媒による畜舎脱臭法の開発

岩崎電気株式会社

武田 幸雄

畜舎をはじめとする畜舎産業関連施設の臭気軽減のため、低コストでメンテナンスフリーな脱臭装置の開発を目的として、畜舎悪臭成分に対する紫外線及び光触媒・吸着剤の脱臭基本性能を検討した。そして、その性能の解析を基にした高効率な脱臭装置を開発研究を行い、実用化への成果を得ることが出来た。

1. はじめに

一般に、悪臭と称されている物質は、酸性ガスでは硫化水素、メチルメルカプタンなど、塩基性ガスではアンモニア、トリメチルアミンなど、そして中性ガスには硫化メチル、アセトアルデヒド及びスチレン等がある。

従来の脱臭技術は、活性炭を代表とする吸着剤吸着方式、酸・アルカリを吸着剤とする薬液洗浄法、オゾン・次亜塩素酸ナトリウム等酸化剤を反応液とする薬液酸化方式及び土壌層を通気することにより吸着分解する土壌脱臭法等がある。しかし、各種悪臭成分に対して単独方式では対処出来ず、高価、薬液剤の調整が難しい、吸着剤の交換が複雑、広い敷地が必要であったりして、これらの脱臭技術には一長一短があった。

筆者らは紫外線・光触媒技術を脱臭装置として検討し、畜舎関連悪臭成分に対して利用可能であることを見出し、さらに実畜舎臭気の脱臭装置としての実用化実験を試みた。

なお、本研究は、1995～1997の3カ年にわたり実施された生研機構委託研究開発「大課題名：低コスト・高品質・環境保全的畜舎に関する研究開発」「中課題名：紫外線・光触媒による畜舎脱臭装置の研究開発」として実施中のテーマである。

2. 紫外線・光触媒脱臭機構原理

1) 紫外線のエネルギー

光（電磁波）の持つエネルギーは以下の式にて試算できる。

$$E = h\nu = h(c/\lambda) \quad \text{Na (J/mol)}$$

$$h : \text{プランクの定数} \quad 6.63 \times 10^{-34} \text{ (J}\cdot\text{s)}$$

$$c : \text{光速} \quad 3 \times 10^8 \text{ (m/s)}$$

$$\lambda : \text{波長} \quad \text{(nm)}$$

$$\text{Na} : \text{アボガドロ数} \quad 6.02 \times 10^{23}$$

本式から、波長360nmの紫外線は、エネルギーは以下の通りとなる。

$$E = 6.63 \times 10^{-34} \times (3 \times 10^8 / 360 \times 10^{-9}) \times 6.02 \times 10^{23}$$

$$= 332.6 \text{ kJ/mol}$$

$$e = 332.6 \times 10^3 \times 6.29 \times 10^{18} \text{ eV} / 6.02 \times 10^{23} = 3.32 \text{ eV} \quad \dots\dots\dots \textcircled{1}$$

2) 紫外線・光触媒による有機物分解機構 図1の模式図に示すように、

①酸化チタンは禁制帯巾以上のエネルギーを有する光を吸収すると、価電子帯の電子が伝導帯に励起される。すなわち、結晶内の結合に関与していた電子がエネルギーを得て結合に関与しない自由電子として結晶内を動き得る。

②脱電子の所は結合に関与していた価電子が不足するので正の電荷を帯びる（正孔）。

③生成した正孔は隣の結合から電子を奪うので結晶内を次々に正孔の位置が動く。

TAKEDA Yukio

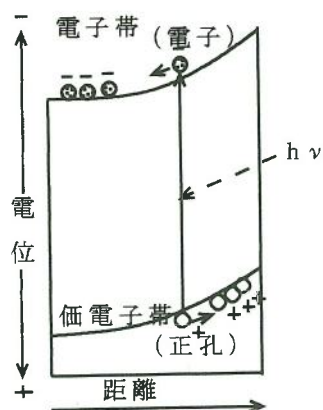


図1 半導体表面の空間電荷層と光励起による電子と正孔の生成

⑩結晶内に正孔と電子の対が生成すると、反応系内にある被還元性物質と被酸化性物質は結晶表面においてそれぞれ電子による還元と正孔による酸化を受ける。

⑪酸化チタン（アナタース型）の禁制帯巾は、3.2eVであり、また、式①の計算より、紫外線（ブラックライト）の約360nmの波長は3.26eVであるので、約360nmより短波長であれば光触媒反応が起こり得ることを示す。

3. 紫外線ランプの開発

紫外線ランプには、内部水銀充填ガスの蒸気圧の高低により、高圧水銀ランプ、中圧水銀ランプおよび低圧水銀ランプに区別される。ランプ内部において水銀蒸気に放電される電子に励起されて、水銀特性に準じた各波長分布に発光するが、入力に対して低圧水銀ランプが前述した360nm以下の短波長を効率よく発光することから本研究では低圧水銀ランプを使用した。

また、最終的に安価な紫外線ランプの開発を目指し、ランプ管の各材料の選定するために各種材料による波長の透過特性を検討した。

低圧水銀ランプの発光分布とランプガラス材料の各波長における透過率から、脱臭装置を密閉型として使用する場合は石英ガラスと殺菌用特殊ガラスを、紫外線が外部に漏れる形式では、紫外線出力が低下するが軟質ソーダガラスとブラックライト用ガラスを使用するものとした。

4. 光触媒の開発及び脱臭試験

1) 光触媒の材料選定

光触媒は多種の材料が使用されているが、本研究では畜舎における悪臭成分に対する最適な材料を選定し、その性能等を調査した。その結果を表1に示す。

表1から、悪臭成分に対しては酸化チタンTiO₂単独よりも水酸化亜鉛Zn(OH)₂を混合した光触媒EYE-A31がすべてについて効率がよいことが分かった。

表1 各材料の比表面積と悪臭除去率

サンプル	SSA****		除去率 (%)		
	(m ² /g)	MM	H ₂ S	NH ₃	TMA
Zn(OH) ₂ /TiO ₂ *	235	99	100	92	80
TiO ₂ **	290	0	10	77	87
Zn(OH) ₂	26	32	100	29	15
活性炭***	1,055	86	59	16	94

* EYE-A31 相当 ** EYE-01 *** 武田薬品工業 白鷺A

**** SSA 単位重量当たりの表面積

試験条件 1時間反応

サンプル 0.1g MM:メチルメルカプタン

悪臭ガス 1000ppm TMA:トリメチルアミン

容積 1000l

2) 試験装置（回分式、連続式）による脱臭性能試験

(1) 小型光触媒評価試験

下記小型光触媒評価試験フローにより回分的・連続的に紫外線効果、触媒効果及び基本性能を把握するものとした。

(アンモニアの脱臭処理試験)

光触媒EYE-A31、活性炭及び無機白色吸着剤Zn(OH)₂によるアンモニア処理試験を行った結果を図2に示す。

試験結果は活性炭は通気即座に飽和に達し、処理不可能となり、Zn(OH)₂は約30時間で飽和に達した後、以後処理が不可能となった。光触媒EYE-A31は、紫外線照射なしで約8時間までにアンモニア濃度が20ppmから約2ppmまで吸着処理でき、その後15時間通気なしで紫外線照射してアンモニアを分解して回復した。(繰り返し回数; 6回)

(実験条件)

アンモニア入口濃度; 20ppm

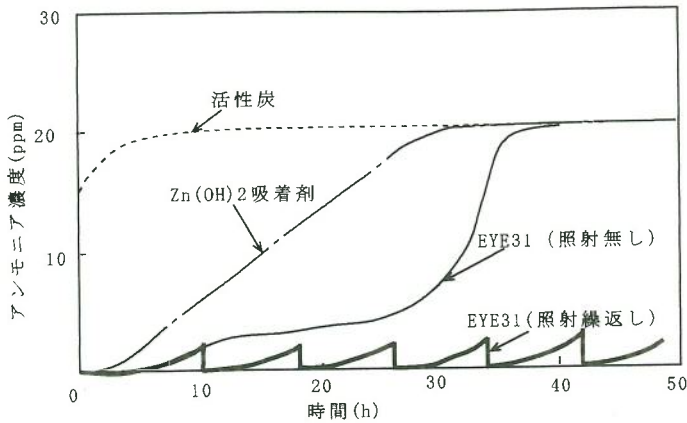


図2 小型光触媒評価試験 (アンモニア)

充填部; 15mmφ×60mm
 サンプル形状; EYE-A31造粒体 2mmφ
 9.4g
 光照射強度; 4mW/cm² black light
 光照射面積; 28.27 cm²
 LV; 23cm/sec
 通過時間; 0.26sec
 SV; 14000l/h
 再生時間; 15h
 (量子収率の調査)

吸着したNH₃の酸化量; NH₃+2O₂=
 HNO₃+H₂O (吸着; 8h 再生; 15h)
 1 cycle でのNH₃の酸化量; 2.5l/
 min×19ppm×60min×8h=0.0228l/
 cycle (17.3mg/cycle)

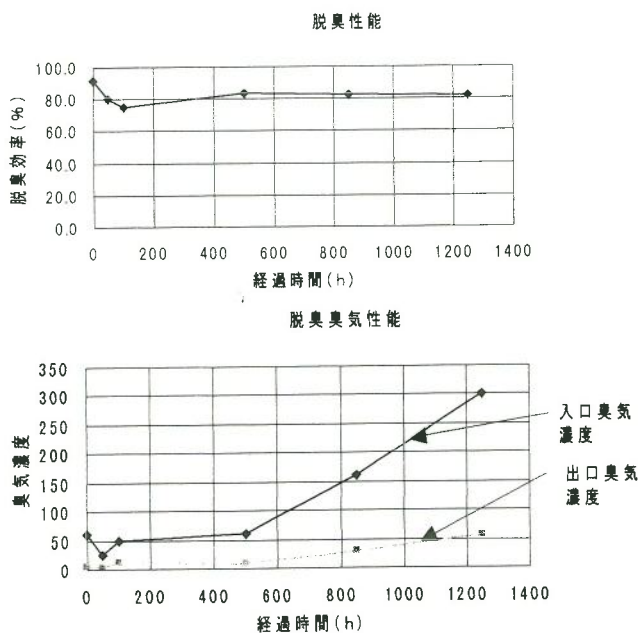


図3 紫外線光触媒脱臭試験装置による脱臭処理試験結果

NH₃酸化 (再生) 速度; 17.3(mg/cycle)/
 28.27cm²/15h×10⁴cm²/m²=408mg/
 m²/h

量子収率 100 % のとき

$$\frac{4 \times 1.761 \times 10^{15} \times 17 \times 3600 \times 10^4}{8 \times 6.022 \times 10^{23}}$$

$$= 0.895 \text{ g/m}^2 \text{ h}$$

ゆえに, 量子収率は $\eta = 408 \text{ mg/m}^2 \text{ h} / 895 \text{ mg/m}^2 \text{ h} = 0.45$ となった。

(参考)

Black light (4 mW/cm²) のエネルギー
 $1 \text{ mW/cm}^2 = 1 \text{ mJ/s} = n \times h\nu \times 10^{-3} / \text{s}$
 $= n \times 6.6262 \times 10^{-34} \times 3 \times 10^8 / (\lambda \times 10^{-9})$
 $= n \times 1.988 \times 10^{-16} / \lambda$
 1 mW/cm^2 の光子数 $\lambda = 350 \text{ nm}$
 $n = 10^{-8} \times \lambda / 1.988 \times 10^{-16} = 0.350 /$
 $1.988 \times 10^{-16} = 1.761 \times 10^{15} (\text{個/cm}^2)$

(2) 紫外線光触媒脱臭試験装置による脱臭処理試験

光触媒 EYE-31, 微粉活性炭を充填した
 光触媒カートリッジ (EYE-PST) とブラッ
 クライトを利用した脱臭装置 (写真1) で以
 下の処理試験を行った。結果を図3に示す。

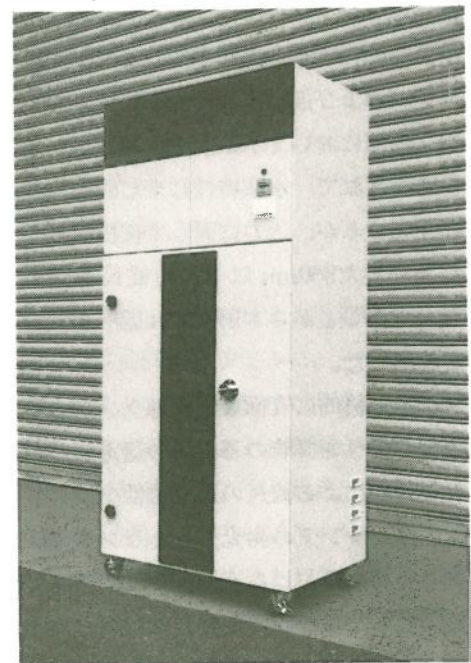


写真1 紫外線光触媒脱臭試験装置 (実験条件)

アンモニア入口濃度; 20ppm
 充填層; 450×700×15×2枚

サンプル形状；EYE-PST カートリッジ

光照射強度；Black L 20W×4本

LV；約0.4 m/sec

SV；95,000l/h

試験結果は、臭気成分のアンモニアと硫化水素が、約1300時間を経て、臭気強度3.5～4.0の入口ガスに対して、約3以下で推移した。臭気濃度は約300に対して約50まで脱臭処理できた。臭気濃度は約80%の脱臭効率が得られた。

5. おわりに

代表的悪臭成分（アンモニア、硫化水素、

メチルメルカプタン、トリメチルアミン、アセトアルデヒド）について、基礎試験を行い、それぞれの臭気成分に対して、光触媒の吸着性・光酸化分解性に対して有効であることが分かった。

畜舎等の実態調査を継続中であるが、個々に臭気成分及び臭気濃度が異なっており、それぞれに対応可能にするべく、吸着性に優れ、かつ光触媒と相乗効果のある光触媒担持着材のハイブリッド材を開発し、それらを用いた脱臭装置で試験中であり、また、簡易型の脱臭装置も開発中であるが、今後はそれらが本格的に実施に対応可能になるものと確信している。

国内情報

アンチセンス遺伝子導入トランスジェニック ラット—Mini—ラットの作製

株式会社エヌティーサイエンス

上田 進

ラットはマウスについて生化学、毒性学、薬理学、生理学など多くの研究分野で実験動物として利用されている。しかしながら、外来遺伝子の導入といった発生工学、遺伝子工学を用いてトランスジェニックラットを作製し、遺伝子機能の解析や新たな形質を付与して疾患モデルラットを作製する研究は遅れている。ラットは医薬品、農薬、食品添加物の安全性試験に多数使用されている。ところが、長期間にわたる試験では、体重も増加してその取扱いがむずかしくなっている。そこで、アンチセンス遺伝子を導入することによって、ラット成長ホルモン遺伝子の発現を抑制して小型化することを試み、元のウイスターラットに比較して約半分の体重しかない Mini ラットを作製することができた。本研究は昭和63年3月に生研機構、(社)畜産技術協会、日生研株式会社、東ソー株式会社で設立された株式会社エヌティーサイエンスで行われた成果である。

1. はじめに

ラットは生化学、毒性学、生理学、薬理学など多くの分野で実験動物として使用されている。マウスに比較して血液も多く、臓器重量も多いところから、実験に十分な試料を確保でき、血液も反復採取できる利点があるが、長期間に亘る実験、例えば慢性毒性試験では、系統によって異なるが、平均して800gを超

える体重を有するようになり、その取扱いが難しくなり、また使用被験物質の量を多く必要とするため、貴重なサンプルの浪費や経費の面で不都合となっている。ラットの系統の中でもF344は、比較的小型ということで注目されたが、精巣腫瘍の自然発症が著しく高いという欠点がある。

従来、特異的な形質をもったラットを作製する方法として、その形質に注目して選抜育種する方法がとられてきた。この方法でラットの小型化を計ることも可能ではあるが、相当長期間にわたって選抜育種を行う必要があ

る。そこで、発生工学ならびに遺伝子工学の手法を利用して、小型のミニラットを作製することを試みた。

特定遺伝子の機能を抑制させる方法として、主として2つの方法が使用されている。1つは、胚性幹細胞（ES細胞）を使って、相同組換えによって標的遺伝子に変異を導入し、その機能を不活化する方法¹⁾であり、他はアンチセンスDNAを用いる方法^{2,3)}である。後者の方法は、標的とする遺伝子のmRNAに対して相補的な配列をもつアンチセンスRNAを転写するアンチセンスDNAを染色体に導入することによって、標的遺伝子のタンパク質への翻訳の過程を阻害することを基本原理とする方法である。

ラットでは標的遺伝子組換えが可能なES細胞が樹立されていないことから、アンチセンスDNAによる内在性成長ホルモン（GH）遺伝子の抑制によるラットの小型化が、可能かどうか実験を試みた。

2. 遺伝子の構築とトランスジェニックラットの作製

アンチセンスDNAの導入により内在性遺伝子の発現抑制を行うには、標的遺伝子のmRNAが発現している細胞中でアンチセンスRNAの共存が必要であるところから、アンチセンス遺伝子の転写調節領域には、時期特異的ならびに組織特異的な発現をする標的遺

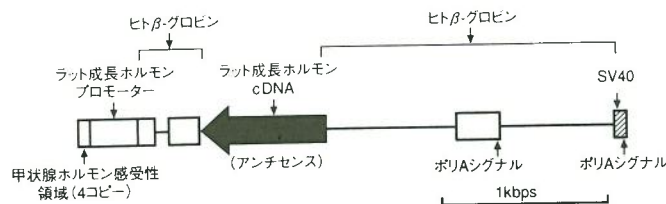


図1 導入遺伝子の構造

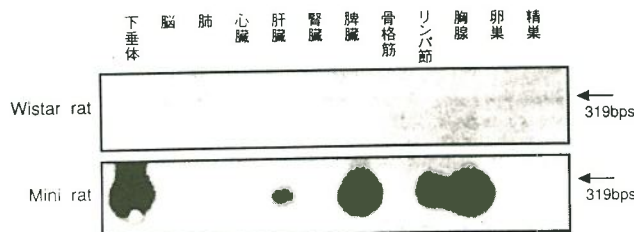


図2 ラット個体の各組織における導入遺伝子の発現

伝子と同じ転写調節領域が通常選ばれる。そこで、ラットの内在性GH遺伝子と同様に下垂体前葉細胞で特異的に発現するように、アンチセンス遺伝子の転写調節領域にはラットGHのプロモーター調節領域を使用した。そして、ラットGH遺伝子の5'側非翻訳領域から5つのエクソンを含み3'側非翻訳領域のポリA付加シグナルを含むほぼ全領域を、アンチセンスとしてヒトβ-グロビンの第2エクソンに組み込んだアンチセンス遺伝子を構築した。さらに、ラットGHのプロモーター転写制御領域には、甲状腺ホルモン感受性領域（TRE）の存在が知られており、このモチーフ配列は甲状腺ホルモンの存在下で高いエンハンサー活性をもつことが確認されている^{4,5)}。そこで、アンチセンス遺伝子の転写活性を向上させ、アンチセンスRNAによるGH遺伝子の発現制御を高めるために、上流に4コピーのTREのパリンドローム配列をタンデムに結合させた図1の遺伝子を構築した⁶⁾。

ラットの初期胚は物理的傷害に弱いとの知見を得ていたため、ラット前核期卵へマイクロインジェクションを行うにあたり、過排卵卵子ではなく自然排卵卵子を用いた。なお、ラットはウイスター系ラットを使用した。その結果、214個の前核期卵に遺伝子注入後移植した結果、51匹の産仔が得られ、サザンブロット解析から4匹にアンチセンス遺伝子の導入が確認された。

3. ラットGH遺伝子の発現制御

4匹のトランスジェニックラットのうち、子孫へ導入遺伝子の伝達を確認された2系統のラット由来の子孫について、GH遺伝子の発現制御を解析した。まず、導入遺伝子がどのような臓器で発現しているかをみるために、RT-PCRで解析したところ、いずれの系統でも脳下垂体でアンチセンスRNAの発現がみられたが、同時に脾臓、胸腺、リンパ節でもアンチセンスRNAが検出された（図2）。下垂体中のGH遺伝子mRNA量をRNase

プロテクションアッセイで定量したところ、雌雄ともに約40%の発現抑制がみられた⁷⁾。また、血漿中のGH量も雄で約40%、雌で約30%の減少が認められた(図3)。ついで、1系統についてホモ化を進めた結果、ホモ接合体の雌雄で、元のウイスターラットと比較して約50%の体重減少が認められた(図4)。

これらの結果から、作製されたトランスジェニックラットでは導入遺伝子由来のアンチセンスRNAによって、内在性ラットGH遺伝子の発現が特異的に抑制されていることが明らかとなった。そして、アンチセンス遺伝子導入によって標的とする内在性遺伝子の発現を制御する方法が、ラットでも応用可能であることを明かにした。この作製されたトランスジェニックラットのホモ接合体をMiniラットとよび、系統名をJcl: Wistar-TgN (ARGHGEN) 1 Ntsとした(表紙)。

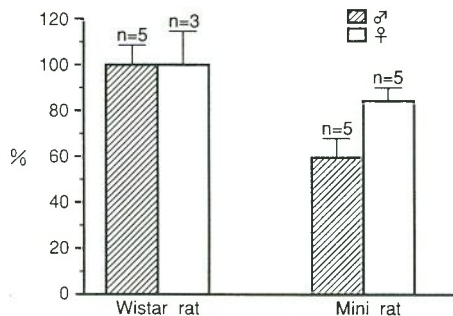


図3 血漿中成長ホルモン量の比較

4. Mini ラットの特徵

Mini ラットの臓器重量を調べ、体重比の形で示すと、脳を除く全ての臓器は元のウイスターラットと同様の体重比であった。脳だけは体重ならびに体型の小型化にともなう重量の減少はみられないようである(図5)。血漿中の酵素活性、糖脂質、電解質等を調べウイスターラットと比較したところ、Mini ラットにおいてアルカリ性ホスファターゼの活性が異常に高い値を示したが、それ以外についてはウイスターラットとほぼ同様の値を示した(図6)。しかしながら、Mini ラットの産仔数は、ウイスターラットに比較して約半分、この原因の一つとして自然排卵卵数

の減少が認められた。

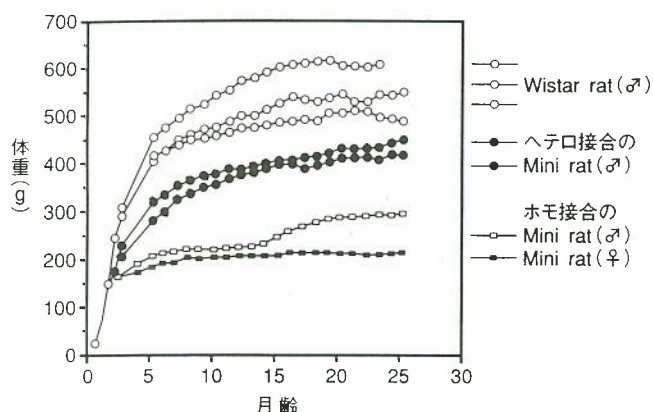


図4 体重曲線(Wistar rat との比較)

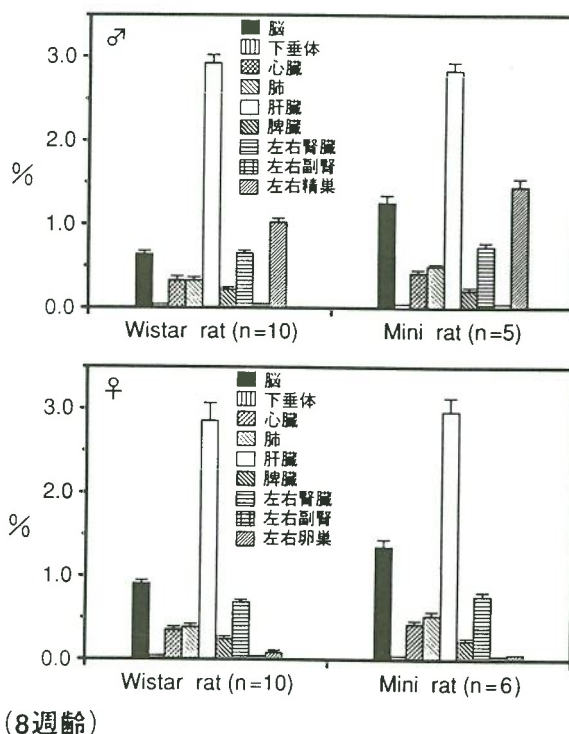


図5 臓器重量(体重比)のWistar rat との比較 (8週齢)

5. おわりに

アンチセンス遺伝子をラットに導入することによって、ラットGH遺伝子のGH生産が抑制されMiniラットを作製することができた。このようにラットにおいても、適切なプロモーター転写調節領域を選択し、組織特異的ならびに時期特異的にアンチセンスRNAを生体の各組織で転写させることによって、内在性遺伝子の発現を多様なレベルで制御することが可能である。

作製されたMiniラットはバックグランド

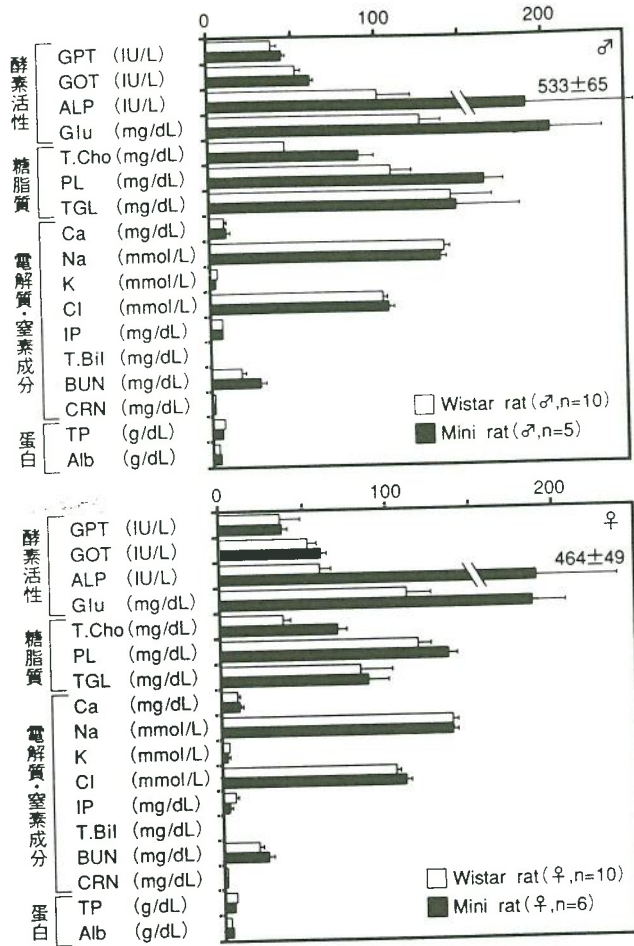


図6 血漿生化学値の Wistar rat との比較

データが豊富にあるウイスターラットと遺伝子背景が同じであることから、毒性試験をはじめとして多くの分野で使用できるものと

思われる。現在毒性試験で使用されているラットは大型化しているが、この Mini ラットはウイスターラットに比較して約半分の体重であることから、飼育や薬物投与の際の取扱いが容易で、しかも被験物質が少量ですむという利点がある。

実験動物は種々の実験に使用されてはじめてその存在意義がある。Mini ラットも大いに利用していただければ幸いです。

文 献

- 1) Zijlstra, M. *et al.* (1990) *Nature*, 344 : 742-746
- 2) Simons, R. W. *et al.* (1988) *Gene*, 72 : 35-44
- 3) Eguchi, Y. (1991) *Ann. Rev. Biochem.*, 60 : 631-652
- 4) Glass, C. K., *et al.* (1988) *Cell*, 54 : 313-323
- 5) Damm, K. *et al.* (1989) *Nature*, 339 : 593-597
- 6) Matsumoto, K., *et al.* (1993) *Mol. Reprod. Dev.*, 36 : 53-58
- 7) Matsumoto, K., *et al.* (1995) *Dev. Genet.*, 16 : 273-277



高品質系統豚「トウキョウX」の系統造成

坂田 雅史

平成2年より地域特産の豚肉を開発する目的で、3品種の豚を用いた合成種としての系統造成を行った。3品種の豚は、北京黒豚種、パークシャー種、デュロック種である。これらを正逆交配で6通りの雑種第一代を作成、これより各世代BLUP法を用いて選抜を行い、雄10頭雌30頭を基準とした閉鎖群育種を実施した。選抜形質は、一日平均増体重(DG)、平均背脂肪厚(BF)、ロース断面積(EM)、筋肉内脂肪交雑率(IMF)である。このうち筋肉内脂肪交雑率は、肉の食味を高めるために導入された形質である。最終的にはDG791.9g、BF2.75cm、EM29.6cm²、IMF5.0%となった。

1. はじめに

高品質な食味を持つ豚肉を生産するには、特殊な品種を用いて、従来の豚肉と差別化する必要がある。すでに鹿児島県において明治時代に奨励品種指定されたパークシャーの系統を用いて、昭和46年から鹿児島黒豚を系統造成により作成し、全国にその味の良さで名前を轟かせた。東京都畜産試験場では、昭和63年に東京都の姉妹都市中国北京市よりの好意で北京黒豚種を導入する機会を得て、本品種が味がよいことから、高品質豚肉を作成する品種として利用できると考えた。ただし、この品種は脂肪が厚くなる傾向を示すことから、更に生産性を高め、筋肉の質を向上させるためデュロック種やパークシャー種も基礎豚として使用することにした。この3品種の肉の食味は別の試験「優良系統豚を利用した良食味豚肉生産技術の開発」により確かめられた。改良に当たっての選抜形質に豚肉の食味を決める形質を様々検討したが、すでに文献等に記載されている筋肉内脂肪含量(本報告では以下 筋肉内脂肪交雑率 IMF とする)を従来から一般の豚の系統造成に用いら

れてきた選抜形質、DG(1日当たり平均増体重)、BF(平均背脂肪厚)、EM(ロース断面積)の3形質に加え、計4選抜形質を改良形質とした系統造成を行った。

2. 材料と方法

基礎豚は北京市農林科学院畜牧獣医研究所より導入した北京黒豚種、鹿児島県及び英国から導入したパークシャー種、鹿児島県及び宮崎県から導入したデュロック種の3品種を用いた。導入頭数は北京黒豚種、雄2頭、雌5頭、パークシャー種は雄5頭、雌16頭、デュロック種は雄5頭、雌10頭を導入した。

育種手法は雄1頭、雌30頭規模を基準とした閉鎖群育種で、選抜形質は1日当たり増体重(DG)、平均背脂肪厚(BF)、ロース断面積(EM)、筋肉内脂肪交雑率(IMF)の4形質とした。

選抜方法は第一次選抜として子豚が体重20kgに達したときにハロセンテストを行いハロセン陽性豚を除去するとともに、乳頭数7対以上の個体を各腹雄2頭雌3頭発育の良好な個体を選抜した。なおこのうち各腹雄1頭は去勢し、雌1頭と合わせ屠体形質調査のための調査豚とした。筋肉内脂肪交雑率はこの個体を用いて測定した。その後体重90kgま

表1 遺伝パラメータ及び経済重要度

項目	改良目標値	経済重要度	改良量	遺伝率	表形相関 (上三角行列) 遺伝相関 (下三角行列)			
					DG	BF	EM	IMF
DG (g)	800	-0.617	6	0.176		0.26	-0.18	0.25
BF (cm)	2.6	-273.4	-0.25	0.558	0.34		-0.45	0.38
EM (cm ²)	27.0	-9.64	0.4	0.627	-0.04	-0.86		-0.28
IMF (%)	3.7	98.93	0.04	0.141	0.64	0.63	-0.41	

で育成された子豚をスキヤニングスコープ (超音波診断装置) にかけて、背脂肪厚、ロース断面積を測定した。調査豚は体重90kgで屠殺し、屠体調査に供した。

筋肉内脂肪交雑率は、ソックスレーを用いたエーテル抽出法で、最後胸椎部位のロース芯の脂肪含量を測定して筋肉内脂肪交雑率とした。

これらの測定で得られたデータを用い BLUP 法 (最良線形不偏予測法) で育種価を算出し第二次選抜の基準とした。BLUP 法による計算は農林水産省畜産試験場育種部計量遺伝育種研究室佐藤正寛氏開発のコンピュータプログラム MBLUP³⁾を用いて行った。BLUP 法に用いられたパラメータは表1に示す。

この中で育種の方向性を定める経済重要度は、改良目標値と遺伝分散共分散行列などの遺伝パラメータから相対希望達成型の選抜指数式、Hazel 型選抜指数式を作成し、これにより相対経済重要度を求めて、これを簡便的に BLUP 法の経済重要度として用いたものである。遺伝パラメータはこの時点で3品種の合成による育種報告が得られていないことから、基礎豚及び雑種第一代の豚の成績から算出したものを用いた。この結果算出された総合育種価に基づき、値の高いものから選抜し、血縁係数の低い組み合わせとなるように雄と雌の交配計画を作成し、次世代の生産を行った。系統の完成は血縁係数20%を超えた時点とした。

3. 成績

基礎豚のデータを得るためそれぞれ純粋交

配を行った。北京黒豚は野性的な性格を残し、分娩時に子豚を守ろうとして攻撃的な性格になること、子豚が環境に敏感で驚きやすいことなどの特徴があった。パークシャー種は神経質で、分娩時に子豚を噛んでしまう習性や、飼育者の長靴を上からいやというほど噛みつくものがあった。肉質では、北京黒豚種が背脂肪、腹脂肪で厚かった。官能検査では、一般パネラーではパークシャー種がもっともおいしいとの評価を得、当試験場の職員の官能検査では、北京黒豚種、パークシャー種、デュロック種の順においしいという結果となった⁴⁾。

雑種第一代での産肉成績は、全部で6通りの交配による F1 でパークシャー種 (B とする)、デュロック種 (D とする) の交配の場合 $D♀ \times B♂$ より $B♀ \times D♂$ のほうが産肉成績が優れていた。全体に雄側に脂肪の薄い D を用いたものが産肉成績が優れていた。B \times Pe (北京黒豚種) の組み合わせでは脂肪が厚くなった。毛色は B \times Pe では子豚の毛色はほとんどが黒、D \times Pe では茶褐色に黒色の斑が多く、黒色の斑紋は腹部に多く現れた。

系統造成はこの雑種第一代を事実上の基礎豚として、この選抜から BLUP 法を用いて選抜した。したがって、この世代を第一世代 (G1) とする。第2世代 (G2) では雄の選抜圧を高める目的で、去勢し出荷して行う屠体調査を雄に関しては行わなかった。第三世代 (G3)、第四世代 (G4) BLUP 法による通常の選抜を行った。第五世代では第一次選抜で体型を重視し、乳頭数などで厳しい選抜を行った。

各選抜形質値の世代による変化を図1~4に示した。1日当たり平均増体重はG2で増

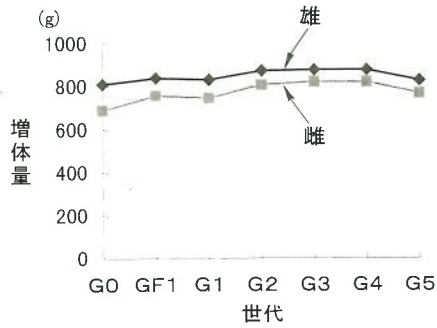


図1 1日当たり平均増体量(DG)の推移

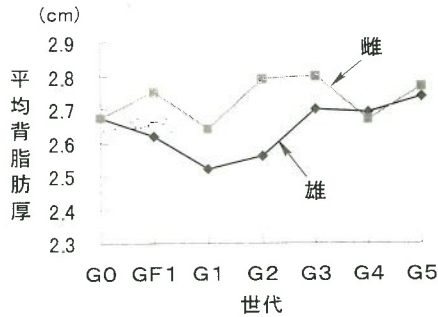


図2 平均背脂肪厚(BF)の世代推移

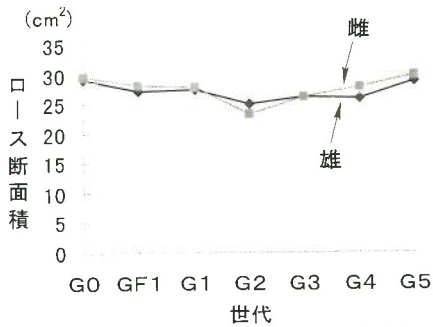


図3 ロース断面積(EM)の世代推移

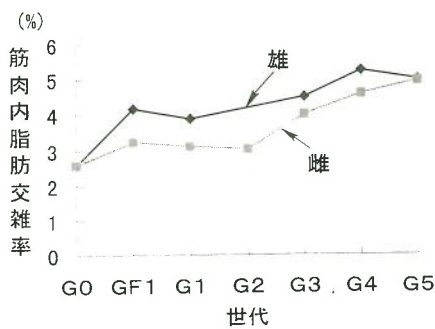


図4 筋肉内脂肪交雑率(IMF)の世代推移

加し、改良目標値を超えG4で最大に高まった。しかし最終世代(G5)では逆に減少した。これはG5世代の子豚の出生時期が4月以降になり最大成長期に暑熱感作を受けた影響と推測される。平均背脂肪厚(BF)は改良目標値2.6cmに沿って変化したが、最終世代ではDGの低下から出荷日令が伸び、や

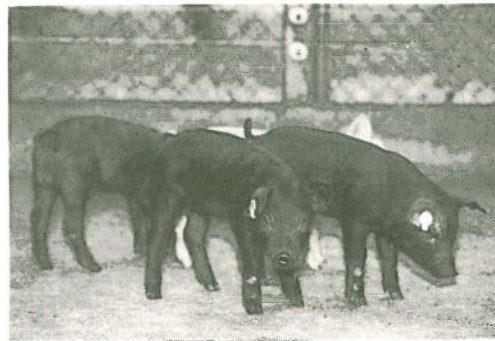


写真 「トウキョウX」3匹の子豚

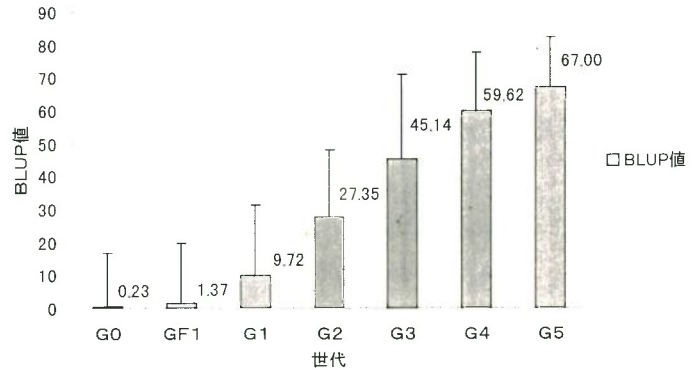


図5 BLUP値の世代変化

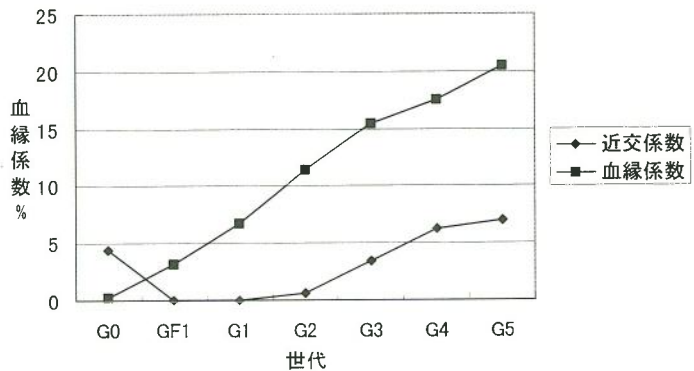


図6 近交係数、血縁係数の世代変化

や厚くなった。ロース断面積(EM)はDGが高まったことにより、通常の負の相関関係にあることから第2世代(G2)で低下したものと推測される。しかしその後次第にEM値は高まり最終世代では雄雌平均で29.6cm²となった。筋肉内脂肪交雑率(IMF)は基礎豚の平均が2.7%程度であったものが最終世代では約5%と高まった。しかし雄(去勢)では第五世代でやや減少した。また値のばらつきを示す変動係数は各世代46%~31%となり、ばらつきの大きいことを示した。

これらの形質値により計算されたBLUP値(総合育種価)は図5に示したように世代

を追うごとに順調に増加した。BLUP 値の標準偏差値は逆に減少した。

血縁係数及び近交係数の変化は図6に示した。最終世代で血縁係数が 20.47 ± 8.40 となり、本系統造成を終了した。

4. 考察とまとめ

現代の国内豚肉の流通は次第に質の向上を求める方向に変化してきている。この質の高い豚肉を開発するには肉質に関する物理性、化学性などの分析データに基づいた改良が行われなければならない。しかし、おいしい豚肉に関する定まった見解まだ得られていない。東京都畜産試験場では、このことから品種により豚肉の味が異なることを重視し、豚肉の品種について吟味して系統造成試験を行ってきた。また Sather²⁾らや Colin. T. Whittmore¹⁾の指摘にもあるように豚肉の筋肉内脂肪含量を向上させるとフレーバー、多汁性、なめらかさなどが向上し豚肉がおいしくなると報告されている。そこで、筋肉内脂肪交雑率を用いることによってこの点について改良を重ねた結果、筋肉内脂肪交雑率 (IMF) を当初の2倍近い5%まで高めることが出来た。しかし、一方では IMF の変動係数は依然として高い水準にあり、この点に関する均一な品質を提供できる品質の安定した豚肉を市場に供給するには、更に改良や生産方法に検討の余地がある。屠体型質の調査では本豚は部位別で腿がやや寂しく肩の部分の脂肪が厚くなる傾向があった。またロース断面積も一般の肉豚に比べて小さい傾向である。このため流通形態では、特殊な豚肉として扱う特別なルートが必要となる。そこで、この構築のため平成8年11月20日高品質系統豚生産出

表2 全世代のデータから算出した遺伝パラメータ

形質名	DG	BF	EM	IMF
DG	0.310	0.056	-0.03	-0.025
BF	0.306	0.601	-0.329	0.110
EM	-0.217	-0.586	0.520	-0.081
IME	0.287	0.539	-0.143	0.101

遺伝率は対角上、表形相関は上三角行列、遺伝相関は下三角行列、lsmlmwにて計算

荷組合を生産農家で結成し、流通ルートの構築に力を尽くしている。流通と生産、改良が今後輪のようになって展開することが必要となるだろう。

また、再度全データにより遺伝パラメータを計算すると表2のようになった。これによくと IMF を高めようとするすると背脂肪が厚くなり、ロース断面積も小さくなる傾向があることを示している。結果として本系統造成の難しさを表した数値となった。今後更に本系統豚を改良するにはこの点の考慮が必要となる。消費者の反応を待って、さらに改良する方向を定め更に良いものへ発展させていくことが重要と考えている。

文 献

- 1) Whittmore, Colin. T. (1992) ピッグサイエンス, チクサン出版社
- 2) Sather. A. et al. (1996) *Can. Animal Science*, 76: 55-62
- 3) 佐藤正寛 (1990) 農林水産研究計算センター報告, 26: 61-127
- 4) 群馬県, 山梨県, 東京都 (1995) 地域重要新技術開発促進事業研究成果, 平成2年~平成5年

文献情報

エチレン生合成系遺伝子の
発現からみたカーネーション
切花の老化のメカニズム

カーネーション切花の老化は、花の各器官におけるエチレン生成がきっかけとなって起こる。エチレンは、S-アデノシルメチオニンからエチレンの前駆物質である1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) を作り出す ACC 合成酵素と、ACC を酸化してエチレンを作り出す ACC 酸化酵素によって生合成される。ACC 合成酵素はエチレン生合成の rate-limiting factor になっている。Woodson らは1994年、エチレンの自己触媒的な生成を基本とした、花の各器官間での老化誘導の情報伝達のモデルを提示した。このモデルには、受粉した場合としていない場合で老化のパターンが示されている。受粉した花では、柱頭において受粉の刺激により生成したエチレンがきっかけとなって、カスケードのように、子房、花弁基部、花弁先端部の順に自己触媒的なエチレンの生成が起こり花弁の老化に至る。それに対し、自然条件の老化では、子房の成熟時に起こるホルモンバランスの変化によって誘導されたエチレンが自己触媒カスケードのきっかけとなっている。このモデルでは、エチレンと、同時に生成された ACC の2つが老化を引き起こす可動性の因子であるとされている。

カーネーションでは現在のところ、2つの ACC 合成酵素遺伝子 (CARACC3, CARAS1) と1つの ACC 酸化酵素遺伝子 (CARAO1) が単離されている。CARACC3 は自然条件での老化時の花弁において大量に発現し、CARAS1 は CARACC3 とアミノ酸レベルで66%の相同性をもち、花弁よりも花柱で大量に発現する。CARAO1 は花柱で恒常的に発現し、老化時にはすべての花の器官で発現することが知られている。

Ten Have and Woltering (1997) は、カーネーションの花の自然条件での老化時に3つの器官 (子房、花柱、花弁) の間に起きている相互作用を、既知のエチレン生合成系遺伝子の発現パターンから説明することを試みた。

カーネーション切花について、自然条件での老化時の各器官のエチレン生成量とエチレン生合成系遺伝子の発現量の時間的な変化を

測定した。エチレン生成は子房 (実験開始後6日目)、花柱 (7日目)、花弁 (8日目) の順で開始し、各花器官で時間的なずれがあることを示し、この時間的なずれは ACC 合成酵素遺伝子と ACC 酸化酵素遺伝子により調節されていることを示唆した。2つの ACC 合成酵素遺伝子は発現にそれぞれ器官特異性があり、CARACC3 は花弁で、CARAS1 は花柱で優勢に発現していた。ACC 酸化酵素遺伝子 (CARAO1) は花柱でのみ恒常的に発現していた。

各器官のエチレンに対する反応性を比較するために、外部からエチレン (10ppm) を処理したときのエチレン生成量とエチレン生合成系遺伝子の発現量の時間的な変化を測定した。エチレンに対する反応性は各器官で異なり、子房、花柱、花弁の順に反応性が高いことが分かった。また、各エチレン生合成系遺伝子は、エチレン処理によってすべての器官で発現し、2つの ACC 合成酵素遺伝子については、自然条件の老化時に見られた発現の器官特異性が失われた。エチレン生合成系遺伝子の発現は、各器官でエチレン生成の開始する3~6時間前に観察されたが、花柱での CARAS1 遺伝子の発現は、花柱でエチレン生成が開始する9時間前から発現が観察された。このことから、花柱の CARAS1 遺伝子は転写後、翻訳段階での調節を受けているか、あるいは、CARAS1 翻訳産物が機能するためには何らかのファクターが必要である可能性が示唆された。

切花の各老化段階で切除した花弁のエチレン生成量とエチレン生合成系遺伝子の発現量を測定した。花弁からのエチレン生成が始まる7日目に切除した花弁は、生成し始めていたエチレンが停止するとともに、エチレン生合成系遺伝子の発現も停止した。花弁からのエチレン生成が増加した8日目に切除した花弁では、無切除の場合と同じエチレン生成とエチレン生合成系遺伝子の発現を示した。このことから、花弁でエチレン生合成系遺伝子が発現するためのトリガーは花弁以外の器官に存在することが示唆された。

以上の結果から、自然状態の老化時に花の各器官で起こる相互作用の開始点は子房の中にあることを裏付けた。さらに、可動性の老化因子は、花弁においてエチレン生合成系遺伝子の発現を強力に誘導するエチレンであって、ACC は可動性の老化因子でないことを示した。

なぜエチレンを処理した花の器官では2つのACC合成酵素遺伝子発現の器官特異性がなくなるのか、花柱においてCARASI遺伝子は実際に転写後の制御を受けているのか、また、ACC酸化酵素は花柱でしか恒常的に発現しないのか、既知の3つのエチレン合成系遺伝子の発現パターンについて、より具体的な性格づけをするための情報が必要であると思われる。

(抄訳 小杉 祐介—東北大農)
(KOSUGI Yusuke)

Ethylene biosynthetic genes are differentially expressed during carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flower senescence

Ten Have, A. and Woltering, E. J.
Plant Molecular Biology, 34: 89-97 (1997)

文献情報

各種茶抽出物の
抗酸化および酸化作用

フリーラジカルや活性酸素、またはそれにより生ずる過酸化脂質が発ガン、老化等の原因となっている可能性が指摘されている。それゆえにフリーラジカルスカベンジャーとして、あるいは脂質の過酸化防止策として抗酸化剤、特に天然の抗酸化剤に関心が持たれている。

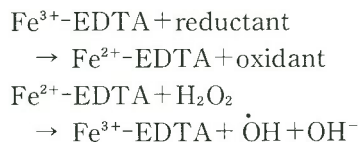
フラボノイドは、植物に存在するポリフェノール化合物であり、我々が日常的に飲用しているお茶には、多くのポリフェノールが含まれている。このフラボノイドには過酸化脂質生成の抑制効果、あるいはフリーラジカルや活性酸素の消去作用のあることが知られている。

ここでは、デオキシリボース、DNAの酸化的損傷に対する茶抽出物の効果、2'-デオキシグアノジンから8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノジンへの酸化に対する茶抽出物の効果について検討した論文を紹介したい。

少量の茶抽出物の添加 (0.5mg 以下) では、過酸化水素 (3mM)、塩化鉄 (III) (50 μM) の存在下でデオキシリボース (3 mM) の酸化は促進され、さらにアスコルビン酸の添加 (100 μM) により酸化は促進された。同様にDNAの酸化的崩壊の割合も少量の茶抽出物の添加 (0.125mg 以下) で促進され、反応系へのアスコルビン酸の添加

(240 μM) により促進された。

しかし、いずれの場合も茶抽出物の添加量を増やすことにより酸化は抑制された。その機構としてYenらは、次式のようにアスコルビン酸の添加により鉄 (III) が鉄 (II) へ還元され、過酸化水素と反応し、その結果ヒドロキシラジカルが生成するが、茶抽出物の添加量を増やすことにより、茶抽出物がラジカルスカベンジャーとして働いてヒドロキシラジカルを消去し、酸化を抑制したと考えている。



2'-デオキシグアノジンから8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノジンへの酸化に対しても茶抽出物は同様な効果を示した。

以上より、茶抽出物は鉄を還元する作用とラジカル消去作用を持ち合わせており、それにより酸化促進と抗酸化の両作用を持ち合わせていることがわかった。

茶には、抗酸化作用の他にも、血圧上昇抑制作用、抗菌作用、抗コレステロール作用等多くの効果が報告されているが、まだまだ未知の物質、作用も多く、今後の研究の進展に期待する。

(抄訳 馬場 貴司—マルハ中研)
(BABA Takashi)

Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts

Gow-Chin Yen, Hui-Yin Chen and Hui-Hsuan Peng
J. Agric. Food. Chem., 45: 30-34 (1997)

文献情報

口に入った菌のゆくえ、
消化管型培養器の活用

ここ数年、腸管出血性大腸菌 O157:H7 株による食中毒が全国的に発生している。O157:H7 株による食中毒は他の食中毒原因菌に比べて、経口摂取した菌数が数百個/g 程度の低い菌数でも感染・発症する可能性があるという点で脅威である。対処法として加熱の徹底等が勧められているが、すべての食材を加熱調理してしまうことには抵抗があるだろう。

そうした中で、食材中の病原菌の増殖を阻止する、いろいろな成分の抗菌活性が調べられている。しかしながら、こうした抗菌作用の実験法は基本的に試験管内での評価であるため、効果があると発表されているものでも、実際に経口摂取した場合に体内で抗菌作用を示すかどうか定かではない。

本論文では菌数の変化を調べる試験管内の評価系を発展させ、消化器を再現する4つの連続した培養器を使用している。各培養器は胃、十二指腸、空腸、回腸を再現し、蠕動しながらその内容物をポンプで移動する。各所に設けられたバルブが胃液や胆汁などを再現した溶液を注入して内容物を異なった環境にさらしている。筆者らはこの装置に *Bifidobacterium bifidum* と *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* の4菌種からなるヨーグルトを投入し、各培養装置における生残性を検討している。その結果はボランティアの人々で行った糞便中の生残数とよく似た傾向を示しているので、この装置がほぼ体内での生菌数の変化を示しているものと結論付けている。また、筆者らは、こうした評価系を probiotic な微生物のスクリーニングに利用できると述べている。probiotic な微生物とは前述の乳酸菌類のように生きて腸内に達して、そこで宿主である人間にとって有益な作用をもたらす微生物群のことである。一般的には腸内でこれら微生物が作り出す短鎖脂肪酸類が有益な作用をもたらしているといわれている。このほかにも発生する炭酸ガスが腸管を刺激して排便を促し、便秘にも良いとされている。こうした微生物は胃酸や胆汁酸に耐えて腸に届かねばならない。このような微生物のスクリーニングに利用しようというものである。

さらに、このような評価系を積極的に利用することを考えると、probiotic な微生物の食中毒菌への作用を調べる系に利用してはどうだろうか。このような評価はこれまで臨床的な評価から推測より方法がないが、臨床例を統計的に十分なほど集めることは困難かもしれない。前述のような評価法を用いた場合、少なくとも生理的に似た環境で経口的に入った食中毒菌がどのように増殖するか、また probiotic な微生物の存在でどのような影響があるかを評価することができるだろう。

(抄訳 篠田 直一カルピス食品基盤技研)
(SHINODA Tadashi)

Survival of lactic acid Bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: Validation and the effects of bile

Marteau P., M. Minekus, R. Havenaar and J. H.J. Huis In't Veld
J. dairy Science, 80 : 1031-1037 (1997)

文献情報

植物の防御反応における レセプターを介した MAP kinase の活性

植物は病原体の感染に対して様々な防御反応を示す。パセリ葉に非親和性病原体である *Phytophthora sojae* を接種した場合、過敏反応による病斑形成・細胞壁でのカロースとフェノール化合物の蓄積が起り、局部そして全身的な抵抗性遺伝子の誘導とファイトアレキシンである fouranocoumarin の分泌へとつながる。これら一連の反応のほとんどは、パセリ懸濁培養細胞にエリシター処理を行った場合にも観察されることから、この懸濁培養細胞を用いた系は病原体と植物の間で起こる interaction を解析する際のモデルシステムとして用いられている。パセリ懸濁培養細胞に一連の抵抗性反応を引き起こすエリシターは *P. sojae* の生産する42kDa の細胞外糖タンパク質であるが、その配列中の13個のアミノ酸からなるペプチド (Pep13) を処理した場合にも同様な抵抗性反応が観察される。すなわち、Pep13は細胞膜上のレセプターと特異的に結合し、一連の抵抗性遺伝子と fouranocoumarin 生合成に関与する遺伝子の発現を活性化するためのシグナル伝達経路を ON にすると考えられる。

パセリ懸濁培養細胞におけるエリシターによるシグナル伝達は、Ca²⁺に依存した急激なタンパク質のリン酸化を伴うことから、protein kinase の関与が示唆されていた。そこで筆者らは、Pep13よりも培養液中で安定な25アミノ酸からなる Pep25でパセリ懸濁培養細胞を処理した場合、myelin basic protein (MBP) をリン酸化する分子量約45 kDa のタンパク質が5分以内で活性化されることを見いだした。アルファルファで見いだされた MAP kinase である MMK4, MMK2, MMK3それぞれのC末側10アミノ酸に対する抗体, M7, M11, M14を用いて

免疫沈降を行ったところ、M7を用いた場合にのみ45kDaのタンパク質が沈殿した。またMMK4をプローブとしてパセリのcDNAをスクリーニングしたところ、1113ヌクレオチドからなるORFが存在する1.6kbのcDNAが見いだされ、そこにコードされたアミノ酸配列からタンパク質の分子量は上述の結果とほぼ一致する43kDaと推測された。このタンパク質はアラビドプシスのMPK、アルファルファのMMK、タバコのMMKなどの既知のMAP kinaseといずれも80%以上の相同性を示し、リン酸化部位も保存されていた。さらに本配列はゲノム上に1コピーのみ存在し、エリシター処理後30分以内にRNAの転写量が数倍に上昇した。本タンパク質をグルタチオン-S-トランスフェラーゼとの融合タンパク質にして発現させた場合、融合タンパク質は自己リン酸化とMBPのリン酸化を引き起こし、パセリ懸濁培養細胞から得られた45kDaのタンパク質の場合と同様、M7抗体に反応した。このことから、筆者らはこのcDNAから見いだされたタンパク質をERM (elicitor-responsive MAP kinase) として以下の解析を行った。

Pep13のアミノ酸配列の2番目・5番目・12番目のアミノ酸をアラニンに置換したPep13A₂・Pep13A₅・Pep13A₁₂を用いてERMの活性化について検討を行ったところ、Pep13A₁₂を処理した場合のみ活性化がひきおこされた。Pep13A₁₂はエリシター活性を示し、Pep13の結合と競合したが、Pep13A₂やPep13A₅ではこれらの反応が見られなかった。よって、Pep13による植物の防御反応の発現にはレセプターを介したERMの活性化が関与していると考えられた。

レセプターを介したPep13の認識は植物の防御反応の活性化につながるが、これらの反応が起こるためにはイオンの細胞内への流入が必須である。パセリ懸濁培養細胞をイオンチャンネルブロッカーであるanthracene-9-carboxylate (A9C) で前処理した場合、Pep13によるERMの活性化は完全に阻害された。また時間的な遅れはあるが、エリシター処理を行った場合と同様なイオンの流入を引き起こし、その後の防御反応を活性化するamphotericinで処理した場合、エリシター処理の場合よりも遅れを示したが、ERMは活性化された。しかし、これらのことからERMの活性化にはイオンの流入が必須であ

ることが示唆された。

パセリ懸濁培養細胞にPep13を処理する前に、活性酸素を生成する酵素のNADHまたはNADPH oxidaseを阻害するdiphenylene iodium (DPI) で処理した場合、イオンの流入が起こるにもかかわらず、活性酸素の生成は阻害され、その後の抵抗性反応も起こらなくなる。しかしながら、DPI処理を行ってもERMのエリシターによる活性化は何ら影響を受けなかったことから、パセリの抵抗反応系路でERMの活性化は活性酸素生成よりもさらに上流に位置していると考えられた。

一般的にMAP kinaseは活性化された後に核に移行し、そこで転写制御因子のリン酸化を行うことで、遺伝子の転写調節を行う。パセリ懸濁培養細胞をPep25処理後、3~10分で核にERMが存在しているのが観察された。ERMは推定アミノ酸配列上に核に局在するようなシグナルを保持していなかったため、活性化後に核へ移行した後、他のタンパク質、すなわち転写制御因子のリン酸化を行っていることが推定された。すなわちERMは細胞膜上のレセプターに、エリシターが結合したことを、細胞質中を通過して核にまで伝えるシグナル分子として機能していることが推測された。

以上のことより、植物には外部環境によるストレスやホルモン以外にも、病原体からのシグナル伝達を行うMAP kinase経路が存在していることが考えられた。パセリからはエリシター処理によって転写が活性化される遺伝子が見いだされており、そのcys-acting elementの解析から、そこに機能するtranscription factorが存在していると考えられるが、これらのリン酸化がERMによって引き起こされ、更に防御反応遺伝子の発現に直接つながっているのか早急な解析が待たれる。

(抄訳 佐々木 厚子—東北大農)

(SASAKI Atsuko)

Receptor-mediated activation of a MAP kinase in pathogen defense of plants

Ligterink W., T. Kroj, U. zur Nieden, H. Hirt, and D. Scheel

Science, 276 : 2054-2057 (1997)

海外だより

ES細胞を利用したアルツハイマー病モデル動物の作出

—アラバマ大学での1年間—

農林水産省 畜産試験場

徳永 智之

1. はじめに

ここ数年来、胚性幹細胞 (embryonic stem cell; ES cell) などの多能性未分化細胞株の樹立や利用技術の開発に関する研究に携わってきた。ES細胞とは胚盤胞期と呼ばれる発生段階の哺乳動物胚の内側にあつて、将来胎子を形成する内部細胞塊を適切な条件下で継代培養を反復して樹立された未分化細胞株である。ES細胞を宿主となる胚に注入したり凝集して仮親へ胚移植すると、様々な組織に分化し双方の形質が混じり合ったキメラ動物が得られる。このうち、ES細胞由来の機能的な生殖細胞を持つものは生殖系列キメラと呼ばれ、交配によりES細胞の遺伝形質を持つ子孫が得られる。この性質を利用すると、培養下でES細胞に対して施した遺伝子改変を個体レベルに導入することができ、ジーンターゲットングなどに応用されている。出来のよい細胞株が樹立できると、それを通して様々な分野の研究者と繋がりができるのもこの研究の面白さの一つである。そもそも、神経系には馴染みがないのに neuroscience の研究室に赴くことになったのもそれがきっかけであった。

University of Alabama at Birmingham (UAB) はアメリカ南部アラバマ州の北部に位置する地方都市バーミングハムにあり、この地域のアラバマ州立大学の中核である。バーミングハムは1996年のオリンピックが開催されたアトランタからインターステイトハイウェイ20号線を真西に150マイルほどのと

ころにある。レッドマウンテンと呼ばれる鉾山があり、昔は鉄鉍業で栄えていたが閉山となり、現在の最大雇用主はUABである。ポスの福地研一郎博士 (Ken) は9年ほど前にポスドクとしてシアトルのワシントン州立大学に渡り、以来アルツハイマー病の研究に従事してこられ、1995年3月にKen自身の研究室を設立するためにUABに移られた。新しい研究室にES細胞の培養とキメラ作出などの胚操作の実験系を持ちたいということで、私は1995年から1年間ポスドクとして滞在し、それらのセットアップと幾つかの実験に参加した。

2. アルツハイマー病とそのモデルマウス

アルツハイマー病は老年痴呆のなかで神経細胞の変性が原因となる痴呆症の代表的な疾患である。アルツハイマー病患者の脳では老人斑や神経原線維変化の出現、神経細胞の死滅などの特徴的な病変が見られる。特に老人斑は正常な加齢脳でも見られるが、アルツハイマー病の脳では出現が著しい。老人斑の主要成分は amyloid β -protein ($A\beta$) という分子量約4000のポリペプチドである。特定の家系で発症する家族性アルツハイマー病のなかに $A\beta$ の前駆体の遺伝子で、21番染色体に位置する amyloid precursor protein (APP) 遺伝子に突然変異を持つものが見いだされた。また、21番染色体が3本あるダウン症候群の患者のほとんどは、早期にアルツハイマー病を発症する。さらに、この遺伝子変異を導入した細胞では $A\beta$ の産生に質的あるいは量的異常が見られることや、 $A\beta$ の

TOKUNAGA Tomoyuki

一部が神経細胞に対し毒性を示すことが明らかにされ、Aβの蓄積機構の解明がアルツハイマー病研究の鍵の一つと考えられている。APPはレセプター様の膜タンパク質で、同じ遺伝子から選択的スプライシングによって、アミノ酸の数の異なる3種類（APP695, APP751, APP770）が生産される。これらがセクレターゼによって切断されてAβが生産される（図1）。

昨今、様々な疾病の病因解明、診断法や治療法の確立には病態モデル動物の開発は不可欠である。アルツハイマー病の場合も、種々

の変異を導入したAPP遺伝子をマウスに導入して、病態モデルを作る研究がなされてきた。しかし、ヒトと違いマウスではもともと老化によって脳にアミロイドが沈着することはないようなので、並の発現量ではマウスの脳に病変を作ることは難しいらしい¹⁾。渡航の3カ月前にカリフォルニアにある企業によって、変異APP (Val717→Phe) 遺伝子を導入して、ヒトの老人斑と同じアミロイド沈着が認められるマウスが作出された²⁾。しかし、このモデルでは神経原線維変化が認められず、神経細胞の死滅も明らかでなく、病態モデルとしては必ずしも十分ではないことがわかった。一方、2重変異APP695 (Lys670→Asn; Met671→Leu) を導入したマウスではアミロイド沈着のほか学習記憶能力低下が認められた³⁾。最近、カナダのマクギル大学のグループはAPPのC-末端側のアミノ酸104個からなる断片を過剰発現させたマウスでは、加齢に伴いアルツハイマー病の徴候を数多く示し、海馬の細胞が消失し空間学習能力や記憶に障害が現れることを報告している。このモデルマウスはこれまでで最もヒトの病態に近く、APP代謝異常がアルツハイマー病の主因として妥当であることを実験的に示した（表1）⁴⁾。

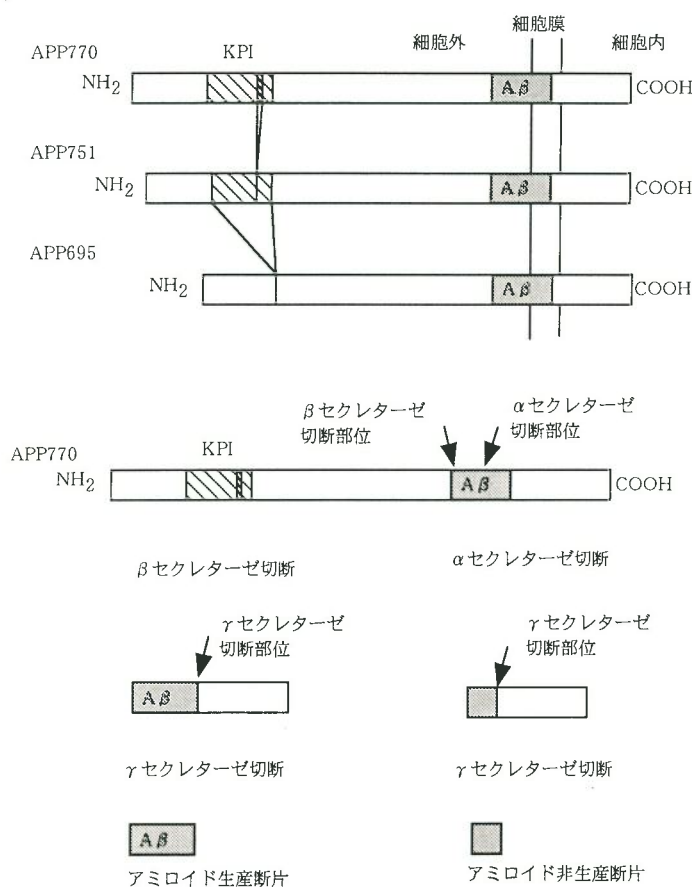


図1 アミロイド前駆体タンパク質の構造とAβの生産

3. 疾患モデル動物の今後

多分、他の多くの疾病がそうであるように、アルツハイマー病も原因が1つに収められる訳ではない。アルツハイマー病の発症にはバックグラウンドとしてApolipoprotein Eの遺伝子型が影響することが明らかとなってい

表1 アルツハイマー病モデルマウスの性質

導入した APP 遺伝子変異	アミロイド沈着	神経細胞の死滅	行動異常		文献
			空間学習能力	学習記憶能力	
APP751(wild type)	±	ND	+	-	1)
APP(Val717→Phe)	+	ND	ND	ND	2)
APP695(Lys670→Asn; Met671→Leu)	+	ND	+	ND	3)
APP(C104)	+	+	+	-	4)

ND; not determined

る。このような危険因子として、他にも複数の遺伝子の多型や変化が報告されているほか、生活習慣や環境汚染などの環境因子の重要性も指摘されている。その意味では、単一の遺伝子を操作した程度のモデル動物では病態のある一面を表現しているにすぎない。だからといってモデル動物の有用性が疑われるものではないが、複雑な病態を表現するためには、異なる変異マウス同士を交配するなどして異なる変異遺伝子を重複して導入したり、環境因子を制御したモデル動物の作出が求められるようになると思われる。

4. その他雑感

1年の滞在期間は短かったが、そのわずかな間に新しいアルツハイマー原因遺伝子として新たに14番染色体上のS182と1番染色体上のSTM2が相次いで同定され注目を浴びた。この2つのタンパクは類似した構造を持ちプレセニリンと名付けられている。構造的にシグナル伝達に関与すると見られているが、 $A\beta$ との接点は今後の問題となっている。また、アルツハイマー病とは直接関係はないが、遺伝的に早期老化を示すウエルナー症候群の原因遺伝子がクローニングされ注目されるなど、この分野の活性の高さ、競争の激しさを体感した。

アメリカ南部は少し危険であるという先入観があった。表面は繕っていても確かに人種差別あるいは分離の匂いは拭えない。20-30

年前は黒人教会の焼き打ちなどは日常茶飯事だったらしい。このあたりの南部の事情は“ミシシッピーバーニング”という映画を一度見ていただきたい。一方、白人の間でも東部や西海岸の都市部の人々にとっては南部は辺境という差別感覚が今でもある。南部は内戦に破れ、投資、開発が遅れた被差別地域であり、人々は素朴、頑固、保守的、信仰心が厚い、少タラズそして訛りが強いなど日本の東北地方と微妙なアナロジーが見られ、むしろ東北生まれ私にとってはささやかな共感さえ感じられる土地柄であった。

単身赴任の気楽さで、学生時代のように好きな時間に好きなだけ仕事に集中でき、ある意味では楽しい経験であった。また、異分野での研究経験は非常に貴重であった。今後、自分の専門分野に新たな観点や方法論を見だしていくうえで役立つと思う。最後に Ken とそのご家族、また、この在外研究の実施にお骨折りをいただいた多くの方々に感謝いたします。

文 献

- 1) Quon, D. *et al.*, (1991) *Nature*, 352 : 239-241
- 2) Games, D. *et al.*, (1995) *Nature*, 373 : 523-527
- 3) Hsiao, K. *et al.*, (1996) *Science*, 274 : 99-103
- 4) Nalbantoglu, J. *et al.*, (1997) *Nature*, 387 : 500-505

生研機構インターネットホームページの紹介

生研機構
柴垣 真

1. はじめに

生研機構は、民間研究促進業務、農業機械化促進業務、研究開発業務、基礎的研究業務の4種の業務を行っています。生研機構のホームページ (<http://www.brain.go.jp/>) では、生研機構の概要、組織の紹介を行っておりますが、業務内容に関しては大宮本部（農業機械化促進業務）ならびに東京事務所（他3業務）がそれぞれホームページを開設し、情報提供を行っています。

生研機構がホームページを開設したのは、平成8年9月ですが、本年6月東京事務所に関するページを抜本的にリニューアルしました。ここに、掲載内容の紹介をさせていただきます。

2. BRAIN テクノニュース

東京事務所のホームページ (<http://www.tokyo.brain.go.jp/>) には、What's New、事務所の地図等と共に、民間研究促進業務、研究開発業務、基礎的研究業務の内容紹介を行っています（図参照）。現在ご覧のBRAINテクノニュースは、民間研究促進業務の一環として発行されており、ホームページ—業務内容—情報提供事業の中で紹介しております。

<アドレスは、http://www.tokyo.brain.go.jp/kikaku/techno_index.html です>

SHIBAGAKI Makoto, 現 日本たばこ産業株式会社

テクノニュースのホームページでは、本誌の概要、最新のニュース、ニュースの内容、申し込み方法を紹介しています。中でもニュースの内容の項では、今までに発行したテクノニュースの内容（要旨または項目）を全て紹介しています。現在、キーワード等による検索システムを準備しておりますが、完成しましたら、本誌あるいはインターネット上で紹介いたします。

現在提供しているニュースの内容は、各巻ごと、あるいは各内容ごと（総説、国内情報など）、各分野ごと（植物、畜産など）にファイルしてあります。是非一度ご覧下さい。

また、新たに購読されたい方のために、申し込み方法のページも設けてあります。ここでは、E-mailまたはFAXでの申し込みができるよう設定してあります。

3. 研究支援事業

生研機構では、テクノニュースの発行の他に、共同研究あっせん事業、遺伝資源配布あっせん事業、海外研究者招へい事業、情報提供事業、調査事業等の研究支援事業を行っています。

共同研究あっせん事業では、民間企業等、国以外の機関が、国立の試験研究機関と共同で研究ができるよう、そのあっせんを行っています。その手続きの方法、国の研究機関の紹介等を、ホームページに紹介しています。

遺伝資源配布あっせん事業では、農林水産遺伝資源バンク等が保有する植物、微生物の遺伝資源を企業等が必要な際、そのあっせんを行っています。ホームページでは、国の遺伝資源配布制度の紹介、配布可能な遺伝資源に



生物系特定産業技術研究推進機構

東京事務所

English version is here.

生物系特定産業技術研究推進機構(略称:生研機構)東京事務所は、生研機構の4つの課題の中の、農業機械化促進業務を除く3つの課題の業務を行っています。

◆ What's New 97.8.22現在

- ・BRAIN国際テクノフォーラムのご案内(10月7日開催)
- ・BRAINテクノフォーラムのご案内(10月2日開催)

◆ 生研機構について

◆ 業務内容

- ・民間研究促進業務
- ・研究開発業務
- ・基礎的研究業務

◆ 生研機構ホームページ

◆ ご案内

関係機関

- ・ 農林水産技術会議事務局
- ・ 農林水産省研究ネットワーク

東京事務所

〒105 東京都港区虎ノ門3丁目18番19号
虎ノ門マリンビル10階

TEL. 03-3459-6565(代表)
FAX. 03-3459-6566
E-mail:kikaku@tokyo.brain.go.jp

ついでの情報提供、国に対する配布申請手続きの方法等を紹介しています。

海外研究者招へい事業、情報提供事業では、BRAIN国際テクノフォーラム、BRAINテクノフォーラムの開催などのお知らせ、ビデオ(バイオテクノロジーマニュアルシリーズ)の紹介を行っています。ビデオのページでは、第1巻から6巻までのビデオの一部をムービーファイルとして提供しております。フォーラム等は、開催が決定された時点で募集の案内等を掲示します。また、参加登録もE-mail上でできるようにしてあります。

調査事業では、各種セミナーの開催、地域バイテク懇談会、各種研究会の開催のお知らせ、バイテク抄録集の提供、BRAIN畜産先端技術海外情報の提供などを行っています。

畜産先端技術海外情報のページでは、過去3年間に提供した情報の項目全てを紹介しています。

4. その他

生研機構東京事務所のホームページには、以上の他に出資事業、融資事業、研究開発業務、基礎的研究業務に関する情報を提供しております。

出資事業、融資事業に関しては、制度の概要、昭和61年度より現在までの出融資案件、手続きの方法等を紹介しております。

研究開発業務は、ガット・ウルグアイラウンド農業合意の関連対策として生産現場に直結する農業新技術の開発を行うため、平成7

年度より開始されました。ホームページの中では、業務の仕組み、研究開発課題、最新成果情報、検討会のご案内等を提供しています。また、採択された13課題87テーマの全てについてその内容紹介しています。

基礎的研究業務は、生物の持つ多様な機能を活用することにより新技術・新分野を創出し、それを通じて農林水産業の発展、地球規模での人口、食料、環境問題の解決等に資するため、将来の産業技術のシーズとなる基礎的な試験研究を、大学等への委託研究または国立試験研究機関との共同研究により行うため、平成8年度より開始されました。ホームページの中では、事業の概要、平成8年度ならびに平成9年度に採択された課題等を紹介しています。中でも採択課題については、研究課題名、研究の趣旨・概要などイメージ図を含め詳細に全ての課題の内容を紹介しています。

大宮本部のホームページでは、農業機械化研究所について、刊行物、検査鑑定、研究成果などの紹介を行っています。中でも、農業

機械等緊急開発事業による開発機の全てについて、その詳細を紹介しています。

5. おわりに

生研機構が現在インターネットを通じて提供している情報を紹介させていただきましたが、インターネットが持つ特徴（タイムリー、双方向）をもっと活かした情報提供ができればと考えています。

情報の更新は、新しい情報が発生するごとに行っています。フォーラム、セミナーの開催、各種募集、テクノニュース等新たに発行したもの等、その時点で更新しておりますので、日々ご覧いただければと思います。また、「こんな情報が欲しい」などのご意見お待ちしております。

Mail Address は、<kikaku@tokyo.brain.go.jp>です。

BRAIN テクノニュースに関するご意見、ご質問も併せてお待ちしております。



編集後記

本号の「ソフトエレクトロンを用いた穀物の殺菌」に興味深く読みました。その中で「ソフトエレクトロンは種子の発芽力を落とすことなく種子を殺菌できる」とのくだりに出合ったとき、ふと思ったのがソフトエレクトロンを種子消毒に使えないかということでした。種子は多くの植物病原菌によって汚染されていて、畑に播かれたときこれが第一次

伝染源になります。現在、汚染種子の消毒には農薬が広く使われていますが、ほかに乾熱処理法や温湯処理法も行われています。最近では拮抗微生物を利用した方法も研究されています。ソフトエレクトロンで種子消毒ができるようになれば、環境にやさしい技術として貢献するところが大きいように思われます。

(大畑記)

ブレインテクノニュース (第64号)

平成9年11月15日発行

発行者 眞木 秀郎

発行所 生物系特定産業技術研究推進機構

〒105 東京都港区虎ノ門3丁目18番19号 虎ノ門マリビル10F
TEL. 03-3459-6565 FAX. 03-3459-6566

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. 03-3667-8931 FAX. 03-3667-8933