

CODEN : BTEEEC

TECHNO NEWS

〈生 研 機 構〉

ブレインテクノニュース

第 68 号

BRAIN
Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

JULY 15, 1998



イオンビーム照射により遺伝子導入された花粉でのGUS遺伝子の発現（左上）およびイオン打込みによって生じた漏出花粉（右下）
（本文1ページ参照）

総 説

渡辺 宏

イオンビーム照射によるタバコ花粉への遺伝子導入系の開発…………… 1

国内情報

早川敏雄・金原和秀・片山義博

有害物質分解遺伝子の植物への導入と環境浄化への応用…………… 4

成澤才彦・羽柴輝良

根部エンドファイト *Heteroconium chaetospora* の土壌病害防除への利用…………… 8

関谷敬三

細胞分化を促進し脂肪細胞を活性化する食品成分……………12

濱田浩正

ラドン濃度を指標とした地表水と地下水の交流現象の解析……………16

地域の先端研究

大泉利勝

巻きひげの無いアールスメロン新品種「千葉TL」の育成……………20

後藤美津夫

ブタ胚のガラス化保存とその再現性について……………23

文献情報

Aspergillus nidulans 由来の組換え抗原 ASPN 1 r は、とりわけアスペルギルス腫の患者の血清と反応性がある……………26

ソバを用いたアルミニウム解毒作用……………26

海産微細藻類の捕食に対する化学的防御……………28

テロメラーゼ欠損による精巢内細胞のアポトーシス増加……………29

海外便り

河村知彦

アワビの初期生態に関する研究

—ニュージーランド コースロン研究所での1年—……………30

イオンビーム照射によるタバコ花粉への 遺伝子導入系の開発

日本原子力研究所高崎研究所環境・資源利用研究部

渡辺 宏

照射深度を制御したイオンビームでタバコ花粉を照射すると、水溶液に浸漬した時に花粉外殻が開裂するという現象を発見した。これは γ 線や電子線照射では起こりにくいイオン照射に特異的な現象である。また、この深度制御照射した花粉を標識遺伝子を含む溶液に浸漬することにより、花粉での標識遺伝子の発現が顕著に増加することが分かった。新規の遺伝子導入法として開発を進めている。

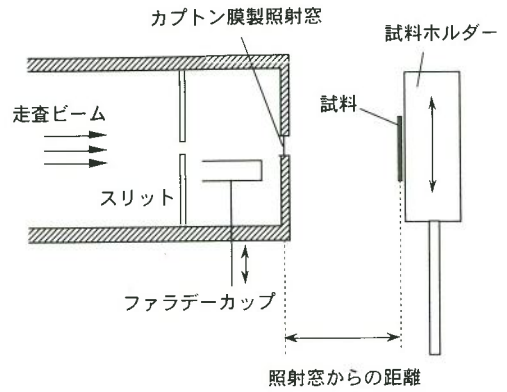
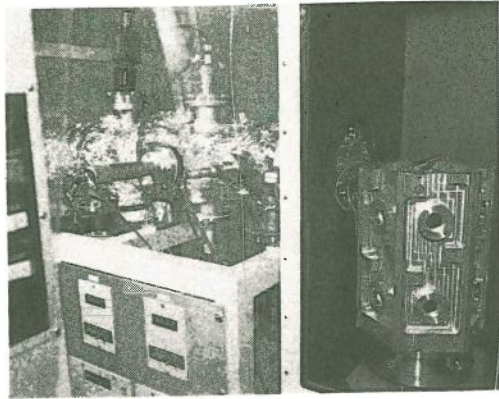
1. はじめに

イオンビームは放射線治療の手段としてこれまで世界中で研究開発が行われてきた。放射線医学総合研究所に治療専用の加速器が世界で始めて設置され、臨床試験が進められているが、それに呼応して米国や欧州でも実用化に向けての機運が高まってきている。しかし、このイオンビームを植物育種に積極的に利用しようという研究はこれまで無かった。その理由は植物研究に適した加速器施設が世界的に存在しなかったからである。従って、原研に設置されたイオン照射研究施設（TIARA：Takasaki Ion Accelerators for Advanced Radiation Application）は、世界最初の材料・バイオ研究のための専用施設と言っても過言ではない。この施設が平成5年に完成したことによってイオンビームの植物育種への利用研究が可能となり、世界に先駆けて日本独自の研究が開始された。これまでイオンビームの特徴をどの様に植物育種に利用できるかを調べるために、原研が大学や国公立研究機関や民間などと協力して進めてきた研究の概要については、すでに他に紹介してきたので^{1,2)}、ここでは、花粉をイオンビームで深度制御照射することによって効率

良く標識遺伝子を花粉に取り込ませる方法についての研究状況を紹介する。

2. イオンビームの生物影響

イオンビームとは各種元素のイオン（例えば、水素イオンとか酸素イオンのようなもの）を加速器を使って高速に加速したものである。同じような高速のイオンは自然界にも存在し、地球上ではラドンなどから放出される α 線（ヘリウムイオン）が知られているが、宇宙に行くと宇宙線と言われる各種のイオン（水素、炭素、酸素、ニッケル、鉄ほか）が高速で飛び交っている。放射線としてのイオンビームの特徴は、物質中を通り抜ける時に単位長さ当たりに与えるエネルギー量（線エネルギー付与／LET：linear energy transfer と言い、単位はkeV/ μ m）が γ 線やX線などよりも大きいことである。このLETの違いによって、「LETが増大すると細胞の致死や突然変異誘発などの生物効果が増大する」ということが知られている。生物効果が増大する原因は、修復しにくい傷がDNAに生じるためである³⁾。物質中をイオンビームが突き抜けると物質中の構成元素にエネルギーを与え、電子を弾き飛ばすことによってイオン化を起こし、弾き飛ばさないまでも電子を励起して不安定な状態にする。これがnm \sim μ m範囲の非常に狭い領域で起こ



照射部の模式図

図1 深度制御細胞照射装置の概要

るから、細胞や DNA に大きな損傷を与えることになる。それでは物質中を突き抜けるほどエネルギーが高くない場合、即ち物質中をフラフラしながら進んで行って、最後は止まってしまうような状態ではどんな生物効果が起こるのだろうか。これはまだ良く分かっておらず、この低速イオンの生物影響を調べるのが我々の初期の目的であった。

3. 低速イオンビームの生物効果

物質中で止まってしまうほどの低エネルギーのイオンビームで生物試料を照射しようとすると、試料へのイオンの打ち込み深度を正確に制御して照射する特殊の装置が必要となる。そこで大気中で試料を照射できる深度制

御細胞照射装置を設計・製作した。その模式図と外観の写真を図1に示した。この装置を使うと加速器からのビームのエネルギーは一定にしておいて、真空中を飛んできたイオンが照射窓から大気中に飛び出したあと、照射される生物試料までの距離を変えることによって、イオンの打ち込み深度を調節することができる。なぜなら大気中に出てきたイオンは空気分子と衝突しながらエネルギーを失っていくからである。実験で確かめた結果、イオンの打ち込み深度と照射窓からの距離との間には直線的な相関関係があって、6MeVヘリウムイオンの場合には34 μm までの深度を1 μm の精度で制御できることが分かった。そこで京都府立大学の井上雅好教授と協力してタバコの完熟花粉(直径約25 μm)を用い

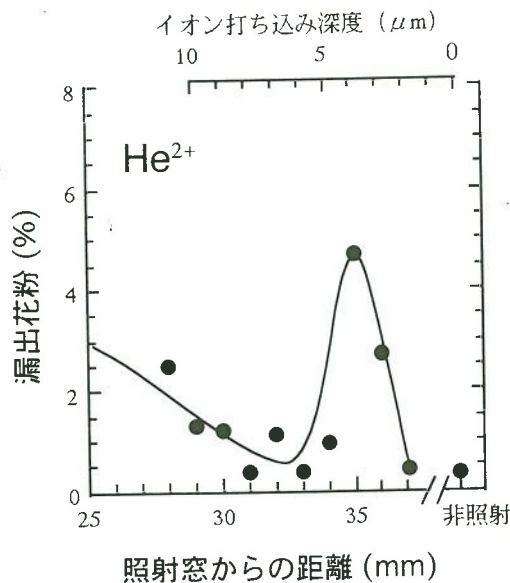


図2 イオン打ち込み深度と漏出花粉の生成頻度



た実験を開始した。花粉を用いた理由は、制御できる範囲とサイズが合っていること、安定して使えること、そして花粉をベクターとして使えないかという育種上の興味があったからである。結果は図2に示すように、4 μm の深さまで照射するとイオンビームに特異的に漏出花粉が生成するという現象が見出された。漏出花粉とは、照射後の花粉を顕微鏡観察するためにアセトカーミン溶液に浸漬すると、外殻が開裂して、花粉細胞が膨張して溶液中に出てくるものである。なぜ4 μm の深さで最も開裂しやすくなるのかをイオンビームのエネルギー付与の特徴から解析した結果、核阻止能が関係することが分かってきた。即ち高エネルギーのイオンビームが物質中を突き抜けるときは、イオンのエネルギーの大部分が構成元素の電子に与えられ、元素とイオンが直接衝突することはまれである。しかし、イオンのエネルギーが低くフラフラの状態では、構成元素とイオンが衝突する頻度が増え、その衝突の結果、構成元素があるべき位置から転移してしまうために構造が破壊されることになる。このように低エネルギーのイオンビームは高エネルギーでは起こりそうもない作用を持っていることが初めて明らかになった⁴⁾。

4. 照射花粉での GUS 発現

γ 線照射では起こりにくい漏出花粉の生成が、イオンビームでは特定の深さの照射で効率良く起こる。これはイオンビーム照射で花粉の外殻に大きな損傷が生じ、花粉細胞の膨潤により外殻が開裂することによる。漏出花粉の生成頻度は線量に依存するから、適度の線量を選べば、開裂させないまでも外殻に大きな損傷を与えることができる。そして外殻に損傷が生じていれば、外部から花粉内部への物質の透過性も増大すると考えられる。そこでCMVの下流にGUS遺伝子をつないだDNAを作り、50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の溶液中に室温で1

表1 深度制御イオン照射した花粉での GUS 遺伝子の発現

イオン種	フルエンス (p/cm ²)	GUS 遺伝子発現率 (%)			
		非照射	イオン打ち込み深度(μm)		
			2	3	4
	0	31.3 \pm 1.9	—	—	—
He	4 \times 10 ⁹	—	37.7 \pm 2.7	36.8 \pm 3.2	55.1 \pm 3.2
	4 \times 10 ¹⁰	—	35.2 \pm 7.5	49.6 \pm 6.6	35.2 \pm 4.2

時間、照射花粉を浸漬してから花粉でのGUS活性を測定した。その結果、表1に示すように非照射花粉に比べて2倍弱の効率で取り込まれることが分かった⁵⁾。

5. おわりに

現有の深度制御細胞照射装置は大気中にイオンビームを取り出して照射できるというメリットはあるが、1 μm 以下の精度で照射できないこと、また線量を十分に高くしようとすると照射窓が破壊されて一定線量以上は照射できないことなどの欠点がある。従って、装置を改造して、深度と線量を更に広範囲に変えて実験すれば、最適な照射条件を決定することができ、遺伝子導入系の開発が可能になると考えられる。また、種々の標識遺伝子の取り込みや花粉での発現、更には次世代での発現などについても今後調べる計画である。この手法を実用的に使える技術として確立するためには、まだまだ解決しなければならない課題が山積している。

文 献

- 1) 渡辺 宏 (1991) 放射線と産業, 52 : 43-48
- 2) 渡辺 宏 (1995) Radioisotopes, 44 (11) : 56-60
- 3) Goodhead D.T. (1994) Int. J. Radiat. Biol., 65 : 7-17
- 4) Tanaka A. *et al.* (1997) Nucl. Inst. Meth. Phys. Res. B, 129 : 42-48
- 5) Tanaka A. *et al.* (1997) JAERI-Review 97-015 : 21-23

国内情報

有害物質分解遺伝子の植物への 導入と環境浄化への応用

(財)鉄道総合技術研究所, *東京農工大学大学院 BASE

早川 敏雄・金原 和秀・*片山 義博

植物の遺伝子操作は食料の増産や付加価値の向上を目的とするものであったが、環境を保全し、浄化するという目的にも応用可能と考えられる。土壌の浄化を目的とした難分解性化合物分解遺伝子を持つ遺伝子組換え植物の事例のうちいくつかを紹介するとともに、PCB 汚染土壌の浄化に関する植物の利用について考察する。

1. はじめに

化学工業の発達にともない除草剤や殺虫剤が普及した結果、農業生産量は飛躍的に増加した。しかし、これらの合成有機化合物がもつ生物毒性和難分解性のために、土壌や地下水の汚染が大きな問題となっている。土壌汚染の場合、表土の交換が行われることが多いが、撤去された土壌中の汚染物質の問題は解決されない。また、ガラス固化処理やSVE (Soil Vapor Extraction) などの原位置処理技術も開発されているが、すべての汚染サイトに適用されるとはコストの面から考えにくい。これらの技術を補うものとして、生物が持つ多様な代謝系を環境浄化に利用する生物的環境浄化法 (バイオレメディエーション) は将来性が期待される技術である。通常、有機化合物分解能力をもつ微生物が利用されるが、近年では植物を利用するファイトレメディエーションも注目を集め、米国では専門の国際会議も開催されている。植物が環境浄化に関連して期待される理由は、重金属汚染の除去のように植物を利用する方が有利な汚染が存在することにあるが、他方、土壌中において難分解性物質の分解細菌を優先的に生育させ、長期間にわたって分解活性を維持す

ることが困難であることも一因であろう。微生物を利用する場合、栄養源の添加や微生物散布を繰り返す必要があるが、これらはコストの増加や環境への影響という問題につながるものである。植物には有害有機化合物の代謝系は存在しないと考えられるが、遺伝子工学によりこれを付与することができれば、太陽光をエネルギー源とするクリーンかつ低コストな環境浄化装置として機能させることができるだろう。

2. 遺伝子操作による代謝系遺伝子の植物への導入例

植物に導入する分解遺伝子は現在のところ2つに大別できる。その一つとして動物における解毒反応系の酵素遺伝子を植物で発現させることが挙げられる。動物において対外異物の代謝は通常2段階の反応で進むことが知られているが、チトクロム P450はこのうち第1段階反応である一原子酸素添加反応を触媒している酵素である。薬剤代謝型 P450は P450種の中でも基質特異性が広いといわれており、様々な有機化合物に対応可能である。すでにヒトのチトクロム P450分子種を用いた形質転換タバコやバレイショが作出され、除草剤クロロトルロンに対して抵抗性を示すことから有効性が確認されている¹⁾。

動物以上に有用なもう一つの遺伝子資源に微生物がある。微生物の難分解性物質の分解機構は幅広く研究されており、多くの分解関

HAYAKAWA Toshio, KIMBARA Kazuhide,
KATAYAMA Yoshihiro

連遺伝子がクローニングされている。このため有機塩素系化合物の代謝系遺伝子を中心として多くの細菌遺伝子が植物に導入されている。例えば Wilbert らは, *Alcaligenes eutrophus* の chlorophenol hydroxylase および catechol 1,2-dioxygenase をコードする *tfd B* および *tfd C* を交雑ポプラに導入することを試みている。これらの遺伝子はクロロフェノールの分解に関与しているが, 同時に trichloroethylene (TCE) の代謝にも関与することが知られている。彼らはこの形質転換ポプラによる水耕液中の TCE の除去能力を検証し, ^{14}C ラベルされた TCE のうち 85% が水中から除去されるとしている²⁾。また, 浅野³⁾ は木材防腐剤として世界中で大量に使用されていた環境汚染物質 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-T) を植物に代謝させることを目的として, 2,4,6-T 分解菌である *Burkholderia pickettii* が有する代謝系酵素遺伝子をタバコに組み込むことを試みている。導入された遺伝子は *B. pickettii* の 2,4,6-T 代謝系の初期に機能する *had A* および *had B* であり, これらの遺伝子がコードする chlorophenol hydroxylase は 2,4,6-T

から 6-chlorohydroxyquinol への脱塩素反応を触媒する酵素であり, 作出された形質転換タバコは培地中の 2,4,6-T を減少させることが確認されている。同様に殺虫剤として使われていた γ -hexachlorocyclohexane (γ -HCH) の初発分解反応を触媒する γ -HCH dehydrochlorinase 遺伝子 (*lin A*) を *Sphingomonas pausimobilis* からクローニングし, タバコを形質転換することも行われている。この場合も形質転換タバコは野生株に比べて γ -HCH に対する耐性が向上し, 植物体内で γ -HCH の代謝系が機能しているものと考えられる⁴⁾。また除草剤 bromoxinil (3,5-dibromo-4-hydroxybenzoxynitrile) の場合, 特異的なニトリラーゼをコードする *bxn* 遺伝子を導入により薬剤耐性が付与されることが報告されている⁵⁾。

3. PCB 分解酵素遺伝子導入植物の作出の試み

polychlorinated biphenyl (PCB) はビフェニルの水素が塩素に置換された化合物の総称であり, 置換塩素数と位置により理論上 209 種類の単体が存在する。市販された PCB

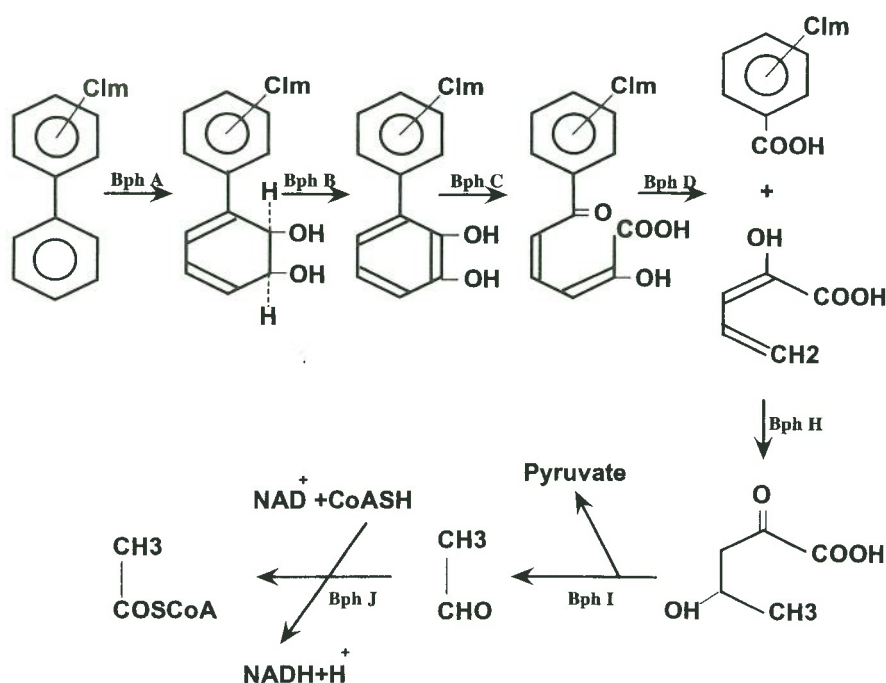


図1 微生物によるPCBの代謝経路

はこれらの単体の混合物であり、その種類により含まれる単体も異なる。PCBは電気絶縁性や不燃性などの優れた性質からコンデンサーやトランスの絶縁油や熱媒体として世界中で広く使用されていたが、カネミ油症事件を引き起こすなど生物に有毒であることが指摘された結果、世界各国で輸入・製造・使用が規制されている。しかし、製造・消費地から遠く離れた北極海の動物からも高濃度で検出されるなどPCBによる環境汚染は地球規模で広がっているものと考えられている。我々はこのPCBを一つのモデルとして植物を用いる土壌中の難分解性有機化合物の無害化システムの構築を試みている。

PCBは難分解性物質であるが、細菌や担子菌類の中にはPCBを分解するものが存在し、動物でも肝臓においてチトクロムP450の作用で代謝されることが判明している。一方、植物には基本的にはPCBの代謝・無害化活性は存在しないと考えられる。したがって動物・細菌・担子菌などが有するPCB代謝

関連遺伝子の導入によりPCB代謝系を人為的に植物細胞内に構築する必要がある。薬物代謝型P450は、基質特異性が広いことからPCBの代謝に適すと考えられたが、P450による一原子酸素添加反応で生じるPCB水酸化物は、もとのPCBよりも急性毒性が高くなる可能性が指摘されている⁶⁾。一方、細菌によるPCBの代謝機構は図1に示すように多くの酵素が関与する複雑な反応であるが、初めの3つの反応により芳香環の一つが破壊される。したがってBph A, Bph B, Bph Cという3つの酵素を植物細胞内で機能させることにより、PCBの無害化が期待できる。この手始めとして環開裂酵素をコードする**bph C**をタバコに導入することを試みている。目的とする**bph C**をPCB分解細菌である*Pseudomonas sp* KKS株から単離し、CaMV 35Sプロモーター下流に連結して植物細胞に導入した。現在これらの形質転換植物の解析をするとともに、代謝系の上流に位置する**bph A1A2**, **bph B**の導入を準備して

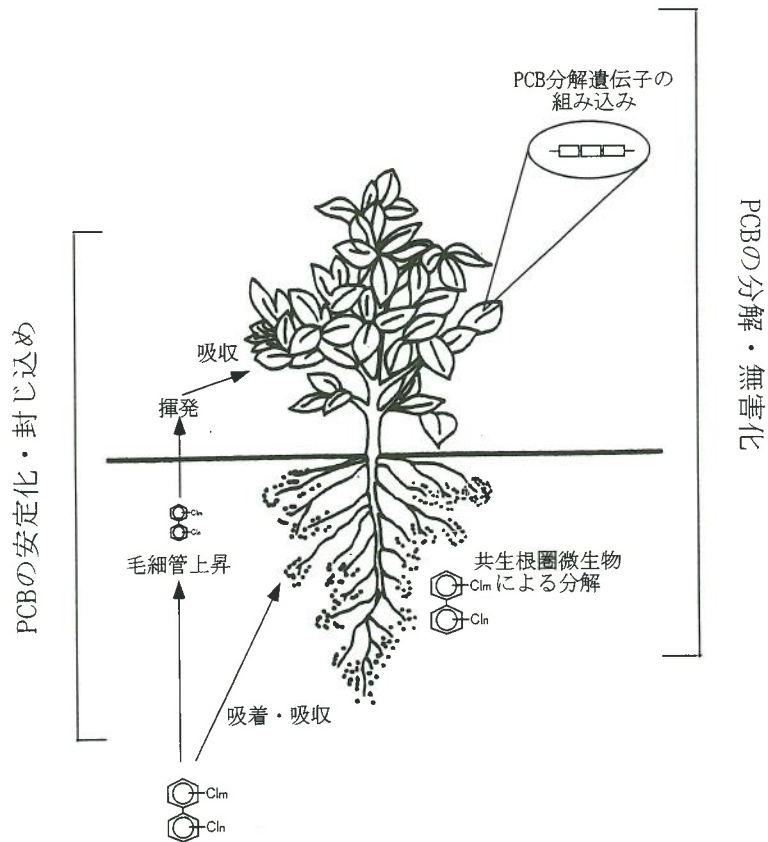


図2 植物と微生物による土壌汚染PCBの無害化

いる。

また、白色腐朽菌と呼ばれる担子菌類が生産する菌体外ペルオキシダーゼ類は、多様な難分解性有機化合物に対して広く有効であるといわれ、*bph* 遺伝子とは異なり単一遺伝子の導入により難分解性化合物の分解ができるという利点がある。このペルオキシダーゼ遺伝子を導入した形質転換タバコの作製を並行して行なっている。

4. 植物を用いたPCB 汚染土壌浄化系

上に述べたように遺伝子組換植物によるPCB 汚染除去の試みを始めているが、実際に土壌の処理を行なうには遺伝子組換植物だけではなく、図2のような土壌微生物を利用した総合的浄化系が必要であろう。土壌中のPCBのうち、植物に吸収されたものは導入された分解遺伝子産物により代謝・無害化し、吸収されないものは根圏に生息する微生物群により分解させることが考えられる。このため根圏で安定に保持され、PCB 分解活性を示す土壌菌を自然界から単離または人為

的に作出することが求められる。また、PCBのうち一部は地表から拡散していくと予想されるが、これは地上部を覆う葉によって二酸化炭素とともに捕獲し代謝させることが考えられる。置換塩素数が多いPCBは生物分解は困難であるため、物理的作用等による脱塩素で生物分解可能な状態になることを待つべきであろう。このように植物を利用することにより、PCB 汚染によるリスクを総合的に管理するシステムを構築していきたい。

文 献

- 1) N. Shiota *et al.*, (1995) *Pestic. Sci.*, 44, 83-84
- 2) A.M. Stomp *et al.*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (1994) 481-491
- 3) 浅野ら, 日本農芸化学会講演要旨集 (1998), 164
- 4) 永田ら, 日本農芸化学会講演要旨集 (1997), 89
- 5) D. M. Stalker *et al.*, (1988) *Science*, 242, 419-422
- 6) PCB 日本化学会編 丸善1980

国内情報

根部エンドファイト *Heteroconium chaetospira* の 土壌病害防除への利用

茨城県生物工学研究所・*東北大学大学院 農学研究科
成澤 才彦, *羽柴 輝良

土壌病原菌との相互作用の場を植物根内に求め、根部エンドファイトを利用し、ハクサイ根こぶ病および黄化病の難防除病害を抑制することに成功した。本エンドファイトは、ハクサイ根内、特に根端部に移動・定着する事により、根こぶ病菌や黄化病菌等の病原菌の侵入を防いだ。病害抑制能力に変化を生じた突然変異体を利用して病害防除機能の解明を行っている。

1. 根部エンドファイトとは

エンドファイト (endophyte) は、植物体の表面で生活する菌類であるエピファイト (epiphyte) に対して、植物体の組織や細胞内に侵入して生活する菌類を示し、“生きた植物体内に共生的もしくは害を与えずに生活している菌類” という意味で定義されている。

また、エンドファイトと言え、植物の地上部である茎葉部体内に定着する菌類を連想する人が多いと思われるが、地上部と同様に根部に定着している菌類も存在している。この根部エンドファイトは、広義には菌根菌、特に内生型の VA 菌根菌やランおよびツツジの菌根菌等も含められるが、ここでは菌根構造を形成せずに植物と共生関係にある菌類を根部エンドファイトと定義し、菌根菌は除く。

2. 根部エンドファイトの研究例

根部エンドファイトを使ってどのような研究が行われ、何が明らかにされているのかについて主な研究例を以下に示す。

高山帯に自生するスゲ属植物の健全な側根には根部エンドファイトが定着していること

が報告されている¹⁾。分離した根部エンドファイト 2 菌株を無菌的に育てた宿主植物に接種し、乾物重を測定したところ、地上部および地下部の両方で生育促進効果が認められ、根部エンドファイトを接種することにより宿主植物のリン酸含有量が増加すると報告されている²⁾。また、根部エンドファイト *Cladorrhinum foecundissimum* がワタの根内に共生し、開花期には草丈を 2 倍以上に伸長させ、植物体中のリン酸含有量も倍加させることも報告されている³⁾。2 種の根部エンドファイト *Leptodontidium orchidicola* および *Phialocephala fortinii* を 4 種類の高山・亜高山帯植物、キンロバイ、チョウノスケソウ、ヤナギ属植物のサリックスグラウカおよびカナダトウヒに接種し、宿主特異性を調べたところ、2 種のエンドファイトとも宿主特異的であることが報告されている⁴⁾。

いずれも、生態的あるいは生理的基礎研究であり、農業への適用の報告は認められない。

3. 根部エンドファイトの土壌病害防除への利用

茨城県をはじめ古くからのハクサイ生産地では、連作に伴い根こぶ病、黄化病などの土壌病害が多発しており、中には産地が崩壊状態にある地域も認められる。これら土壌病害の防除対策としては、PCNB 剤、臭化メチル、クロルピクリン剤等を用いた土壌消毒が広く行われてきたが、土壌消毒剤の使用は消

NARISAWA Kazuhiko, HASHIBA Teruyosi

費者、生産者、そして自然生態系を含めた環境に対する悪影響が懸念されており、使用量は減少傾向にある。これに変わる新たな防除法として生物防除が注目されている。

土壌病害に対する生物防除は、主に植物の根圏に生育、定着する *Trichoderma* spp., *Gliocladium virens*, *Fusarium oxysporum* (nonpathogenic) 等の菌類, *Pseudomonas cepacia*, *P. fluorescens*, *Bacillus subtilis* 等の細菌類, *Streptomyces griseoviridis* 等の放線菌類が効果を示すことが報告されているが、一部を除くと安定した防除効果が得られず、農家に広く普及するまでには至っていない。

本研究では、土壌病原菌との相互作用の場を植物根内に移し、ハクサイ根内に共生できる菌類を探索し、ハクサイ根こぶ病 (*Plasmodiophora brassicae*) および黄化病 (*Verticillium dahliae*) の防除を試み、効果的に抑制することに成功した⁵⁾。

(a) 根部エンドファイトの探索

茨城県下館市 (コムギおよびダイズ)、八千代町 (ハクサイ)、千葉県館山市 (菜花)、小笠原諸島父島 (牧草地)、沖縄県石垣市 (ネピアグラス) より栽培土壌 (無土壌消毒) を採取し、その土壌でハクサイ苗を生育させ、根内に共生しているエンドファイトの分離を試みた。

根部エンドファイトを得るためには、宿主とする植物根部から菌類を分離し、形態観察を行い同定する必要がある。植物組織内にある根部エンドファイトを分離する一般的な方法は、1) 次亜塩素酸ナトリウム水溶液やさらし粉等で根片等の表面殺菌を行う。2) 表面殺菌された根片を寒天培地上に静置し、一定条件下で培養を行う。3) 培地上の根片を観察し、組織内から伸展してくる菌糸を根片から切り離し、新しい培地上に継代し、菌株として確立するものである。我々も当初、この表面殺菌法によりハクサイ根部よりエンドファイトの分離を試みたが、ほとんど分離出来なかった。そこで、表面殺菌は行わず、根片を界面活性剤を含んだ洗浄液に入れ、強く攪拌し、

洗浄を行なう、いわゆる洗浄法で分離を行なったところ、多くのエンドファイトの分離に成功した。特に、細根等のダメージを受けやすい部位からの分離には好適であった。1327根片から20種 (2グループ) 666菌株を得た。

分離菌株の一次スクリーニングは、ハクサイ根こぶ病のポット試験で行った。PDA平板上で生育させた供試菌のコロニー上に表面殺菌したハクサイ種子を播種し、室温で2-3日間生育させた。その後、苗を殺菌土壌200mlを入れたプラスチックポットに移植し、移植1ヶ月後に本菌休眠胞子を 4×10^6 個/g (乾土) を接種した。移植2ヶ月後発病を調査した。供試した666菌株中18菌株が発病指数20以下を示し、根こぶの形成を抑制した。同様の方法で無殺菌土1000mlに休眠胞子を接種し、ポット試験を行ったところ、2菌株が発病指数15および23を示し、根こぶ形成を効果的に抑制した。これら2菌株 (いずれも下館市のコムギ栽培土壌より分離) は、ハクサイ根部の皮層細胞内に広範囲に定着しており、また、いずれも67%と高い割合で再分離された。両菌株は形態的特徴から *Heteroconium chaetospora* と同定した。

(b) 根部エンドファイト *Heteroconium chaetospora* のハクサイ根こぶ病および黄化病に対する効果

ポット試験で効果を示した根部エンドファイト *H. chaetospora* を供試して圃場試験を行った。ピートモスを圧縮、固化したペレット (Jiffy-7, 直径4.5cm) をME培地 (Malt extract 10g/l, Yeast extract 2g/l) に浸漬後 (50ml/1ペレット)、蒸気滅菌を行った。その後、ペレットの中心部に供試菌を植え付け、25°C、暗黒条件下で1カ月間培養をした後、それぞれのペレットにハクサイを播種し、20-25°Cの温室内で約3週間苗を育成し、供試菌の接種を行った。

茨城県農業総合センターに所属する研究所のハクサイ根こぶ病汚染圃場3カ所 (茨城県岩間町2カ所および那珂町)、現地ハクサイ黄化病発生圃場2カ所 (茨城県八千代町および千代川村) に上記苗を移植し、約2カ月後

に調査を行った。根こぶ病3圃場では、97, 94, 86の防除価を示し、黄化病2圃場では、地上部91および地下部59, 地下部76の防除価を示し、全ての圃場において両病害を抑制した(図1,2)。

試験終了後、ハクサイ根部を回収し、再分離によって定着率を求めたところ、平均47%の高定着率を示した。接種した根部エンドファイトは、約3週間の育苗期間に苗床培養土からハクサイ根内に侵入し、圃場定植後、2

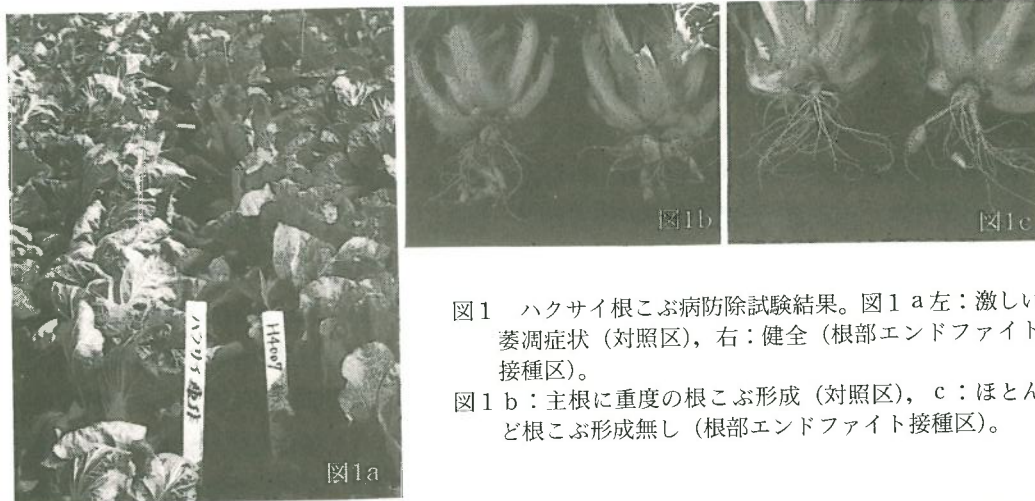


図1 ハクサイ根こぶ病防除試験結果。図1 a左：激しい萎凋症状(対照区)、右：健全(根部エンドファイト接種区)。
図1 b：主根に重度の根こぶ形成(対照区)、c：ほとんど根こぶ形成無し(根部エンドファイト接種区)。

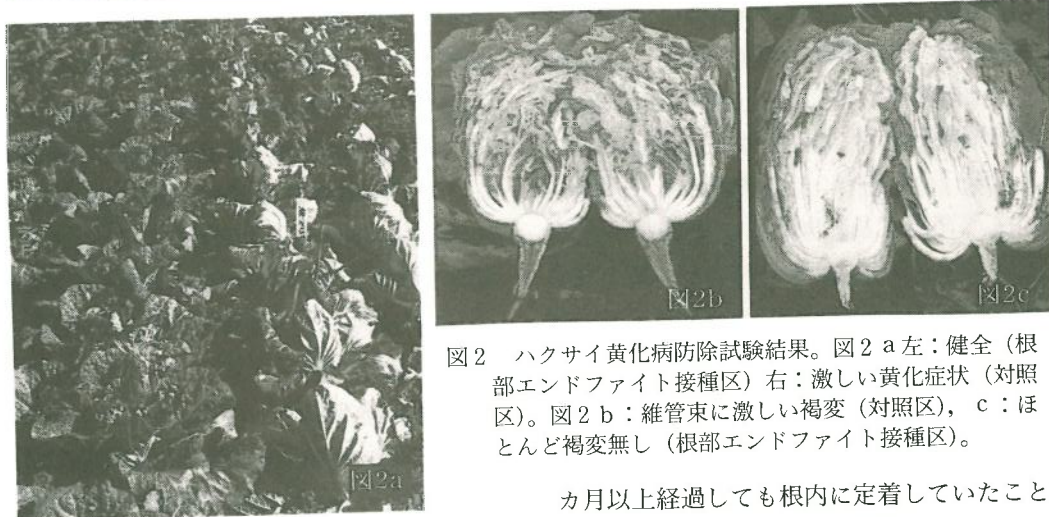


図2 ハクサイ黄化病防除試験結果。図2 a左：健全(根部エンドファイト接種区) 右：激しい黄化症状(対照区)。
図2 b：維管束に激しい褐変(対照区)、c：ほとんど褐変無し(根部エンドファイト接種区)。

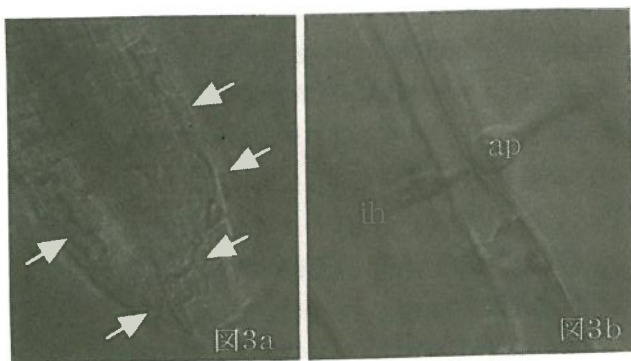


図3 ハクサイ根内(皮層細胞内)に定着している根部エンドファイト。a：根端に認められた根部エンドファイトの菌糸(→)、b：根部エンドファイトのハクサイ細胞内への侵入過程(ap;付着器、ih;細胞内菌糸)。

カ月以上経過しても根内に定着していたことが判明した。また、顕微鏡観察により、以下に示す感染過程が明らかとなった。土壤中に存在する分生子が発芽し、ハクサイ根の表面に付着器を形成する。次に付着器から侵入菌糸がのび、皮層細胞内に達し、細胞内菌糸を形成する。この細胞内菌糸は皮層細胞壁面に再び付着器を形成し、侵入を繰り返し、皮層細胞内を移動し、感染部位を拡大していく(図3)。本根部エンドファイトは、上記の感染過程によりハクサイ根部に定着するが、感染したハクサイには、異常は全く認められず、苗の生育は促進され(対照区に比べ約2倍)、ハクサイと共生関係にあることが明らかとな

った。

4. 根部エンドファイトの安全性

根部エンドファイトは、エンドファイトという用語を使用しているが、地上部のグラスエンドファイトとは、分類的に全く異なるグループである。本根部エンドファイトは、家畜および他の生物に対する毒性の報告もなく、生物農薬登録の予備試験として、各種毒性試験を行ったところ、植物毒性、抗細菌活性、マイコトキシンおよびマウスに対し経口急性毒性を示さなかった。

土壌中には植物と共生関係にある菌類、例えば野菜類の大部分に共生するVA菌根菌、ランやツツジの菌根菌、マツ等の外生菌根菌などが存在することが古くから知られており、毒性で問題になったことは全くない。本根部エンドファイトも、土壌中に存在する共生菌と言う意味では、むしろこれらの菌類と同じグループに近いと考えられる。根部エンドファイトの研究進展に伴い、菌根菌との類縁関係も次第に明らかになるであろう。

5. 根部エンドファイトによる土壌病害防除の実用化に向けて

土壌病害の防除は、化学農薬による土壌消毒に依存しているのが現実である。特に、2005年までに全廃となる臭化メチルは、北米

(41%)、欧州(26%)、アジア・中東(24%)、南米・アフリカ(9%)の割合で世界全体で年間に76,000トン使用されていると推定されている。これら土壌消毒剤に代わる防除法として根部エンドファイトを用いた防除法を広く普及させるためには、共生微生物、宿主植物、および病原微生物間の複雑な相互作用を明確に把握する必要がある。現在、エンドファイトと宿主植物との初期相互作用に焦点を絞り、共生能力に変化が生じた変異体を用いて、エンドファイトの共生能力増強を試みている。近い将来、定着性、耐病性が増強されたエンドファイト(スーパーエンドファイト)の改良が行われ、本来共生することの出来ない植物にも共生を誘導し、宿主範囲を拡大し、多くの病害防除もを可能とする新しい発想の防除法が確立されることをめざしている。

文 献

- 1) Davis, J. *et al.* (1973) *New Phytol.*, 72 : 167
- 2) Haselwandter, K. and D. J. Read (1982) *Oecologia*, 53 : 352
- 3) Gasoni, L. and B. S. Gurfinkel (1997) *Mycol. Res.*, 101 : 867
- 4) Fernando, A. A. and R. S. Currah (1996) *Can. J. Bot.*, 74 : 1071
- 5) Narisawa, K. *et al.* (1998) *Plant Pathol.*, 47 : 206

国内情報

細胞分化を促進し脂肪細胞を 活性化する食品成分

農林水産省 四国農業試験場
関谷 敬三

脂肪細胞は単に脂肪を貯蔵するだけでなく、糖・脂質代謝を活発に行い体内のエネルギーバランスの維持に積極的に関与している。それゆえ、脂肪細胞の機能不全は糖尿病、高脂血症、高血圧など多くの生活習慣病の原因になることが明らかにされている。最近、細胞分化を促進し活発な脂肪細胞を新たに作り出す作用を食品に見いだした。このことは毎日の食事によって、脂肪細胞を活性化し、糖尿病などの生活習慣病に対して抵抗力を持つような体質に改善ができることを示唆する。

1. はじめに

日本は世界で最も平均寿命の長い国の一つになっているが、一方では生活習慣病などによって健康的な人生を送れない人が増えてきており、今や日本は単なる長生きから人生の「質」を問題にする時代になってきている。人生の「質」を高めるには生活習慣病を予防することであり、このためには毎日の食生活が非常に重要であることはいうまでもない。最近、食品には栄養素以外に体調を整えたり病気を予防したりする非栄養成分が含まれていることが明らかにされつつある。私たちは農作物の持つ健康機能性を評価、解析することで、農作物の消費の拡大、生産地の活性化に貢献できればと研究を行っている。

食品は毎日毎日一生食べ続けるものである。体に対して長期にわたる影響を及ぼす可能性が大きい。そこで、病気に対して抵抗力のある体質を食品によって作ることができないかと考え、培養細胞を用いて脂肪細胞分化に影響を与える食品成分を調べることにした。

2. 脂肪細胞の性質

脂肪細胞は糖・脂質代謝を活発に行い糖尿

病や高脂血症などを防いでいる(図1)。一方、食べ過ぎ・運動不足などで体内のエネルギーが過剰になると細胞内にエネルギーを脂肪としてどんどん貯め込み、細胞は拡大して肥満となる。拡大した脂肪細胞は本来の機能を失い糖尿病など多くの生活習慣病の原因にもなり体にとってマイナス要因となる。このように脂肪細胞は体のなかで変化し体質に大きな影響を与えている。大人になった私たちの体の中でも細胞分化は起こっている。

本研究で用いた培養細胞は分化すると細胞の性質を大きく変え脂肪細胞になる特徴を持っている。

3. 分化促進作用

私たちは以前、糖尿病などに有効である漢方薬の薬用ニンジンに脂肪細胞への分化を促進する作用のあることを見いだした¹⁾。分化した脂肪細胞は糖・脂質代謝が非常に活発になり、図1に示すように血液中からグルコースを取り去り、さらに血液中の中性脂肪を分解する酵素(リポプロテインリパーゼ)を分泌し中性脂肪の分解を促進する作用がある。このような脂肪細胞の働きで糖尿病や高脂血症が予防されていることになる。したがって薬用ニンジンの服用により体内での脂肪細胞分化が促進され、それにとまなう体質変化で糖尿病に抵抗性のある体質となり、糖尿病が

SEKIYA Keizo

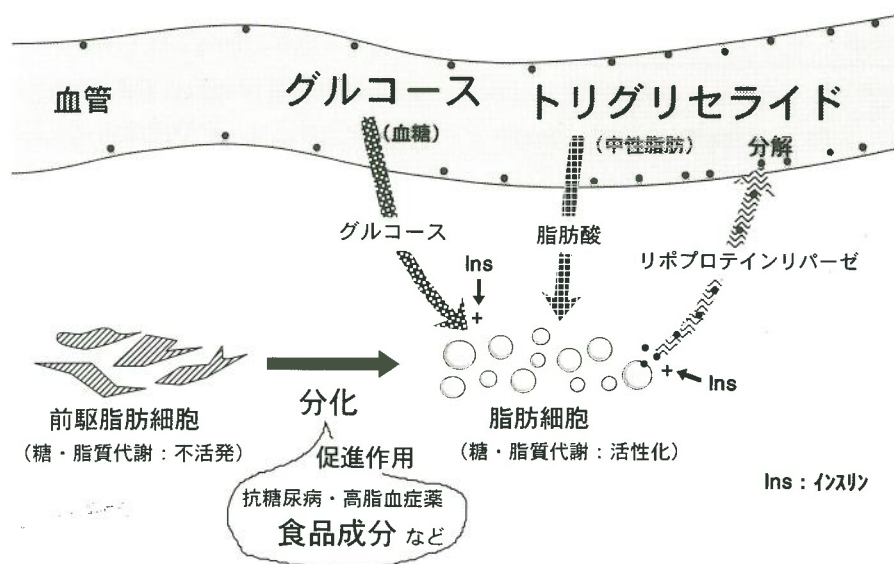


図1 脂肪細胞への分化による糖・脂質代謝の活性化

改善すると考えられる。古くからいわれている薬用ニンジンの抗糖尿病作用には脂肪細胞分化による代謝促進という体質の改善が関与していると考えられる。また最近、糖尿病薬のチアゾリジン誘導体や高脂血症治療薬のフィブラート化合物が前駆脂肪細胞の脂肪細胞への分化を促進することが示され薬用ニンジンと同様な体質改善作用で薬効を発揮していると考えられている^{2,3)}。

そこで、生体における糖・脂質代謝には食品の栄養素、エネルギーだけでなく食品に含まれる微量成分による脂肪細胞の分化調節作用も重要な要因のひとつとして関わっていると考えられる(図1)。このような観点での食品の研究は今までにないことから検討を加えることにした。

前駆脂肪細胞である3T3-L1細胞は培養可能な線維芽細胞であり、この細胞を培養皿中で密集するまで増殖させた後、分化促進処理を行うと1週間位で脂肪細胞へと分化する^{4,5)}。この分化の過程に食品抽出物を添加し影響を検討した。

食品成分は有機溶媒で抽出・処理しいくつかの画分に分けたものを培地添加用サンプルとした。前駆脂肪細胞を10%牛胎児血清を含むダルベッコ変法イーグル培地を用い5%炭酸ガス下で培養した。細胞が密集した後の培

地交換時から農作物抽出サンプルを添加した。また、分化の強力な促進剤として知られているデキサメタゾン、メチルイソブチルキサンチン、インスリンの3種類の混合試薬(DMI)を常法により密集後2日間のみ加えた。1~2週間のち分化の指標として、脂肪細胞に分化すると活性の著しい上昇が認められるグリセロール-3-リン酸脱水素酵素(GPDH)と細胞内油滴(トリグリセライド, TG)を定量した。また、インスリン感受性を検討するためにインスリン添加時と無添加時におけるグルコース取り込みを測定した。リポプロテインリパーゼ(LPL)活性についても検討した。

いくつかの食品抽出物の中でもニンジン、パセリなどは疎水性の強い画分に脂肪細胞への分化促進作用が認められ、一方、ダイズ、コンニャクなどは疎水性の比較的弱い画分に促進作用が認められた(表1)。活性を示す物質は食品により性質が異なる可能性が示された。逆に、分化を阻害する食品としてはサツマイモ、ナス、クリ、シメジなどがあった。

分化促進活性の強かった野菜のニンジンから活性成分を精製単離したところβ-カロテン(β-カロチン)であった。また、トマトやスイカの赤い色素であるリコピン、ミカンの黄色い色素であるβ-クリプトキサンチン

表1 前駆脂肪細胞の分化に及ぼす食品抽出物の影響

食品抽出物 (100μg/ml)	GPDH 活性 (% of control)
ニンジン	2,274
パセリ	1,607
大豆	1,055
コンニャク	713
ダイコン	172
ソラマメ	124
サツマイモ	80
ナス	43
クリ	41
シメジ	2

など他のカロテノイドについても検討したところ同様な作用があった。

β-カロテンは体内でビタミンAとなり重要な役割を果たしていることはもちろんであるが、カロテノイドには抗酸化、発ガン抑制などの機能性もあることが報告されている。今回、このような既知の作用に加え、細胞の分化を促進し糖・脂質代謝に影響を与える新しい機能性がβ-カロテンなどカロテノイドにあることがわかった。

次に活性画分の性質がニンジンとは異なる大豆について検討した。大豆は栄養的に優れた価値を持つだけでなく、最近では多くの機

能性のあることが明らかにされ健康を維持するうえでも重要な食品として注目されている。

大豆抽出物は10μg/mlの濃度からGPDH活性を上昇させ、細胞内油滴(TG)を増加させた。このことは生化学的にも形態学的にも脂肪細胞への分化を大豆抽出物は促進させることを示している。さらに、大豆抽出物で処理した細胞はインスリン感受性グルコース取り込みが増加しており、インスリンに対する感受性が上昇していた。また、LPL活性も上昇していた。このことは大豆抽出物で処理した細胞では糖・脂質の代謝が活発になっていることを示している。大豆抽出物中の分化促進作用を示す活性成分を各種クロマトグラフィーで精製単離したところダイゼインなど数種のイソフラボンであった。各イソフラボンは同様な作用を示し、抽出物と同じように分化促進作用が認められた。ダイゼインで処理した細胞においてはダイゼインの濃度に依存してインスリン存在下におけるグルコースの取り込みが上昇した。100μMの濃度では既知の強力な分化促進剤であるDMIと同程度まで上昇し、インスリンに対する反応性(感受性)が著しく高まっていた(図2)。このようなインスリン感受性やLPL活性の

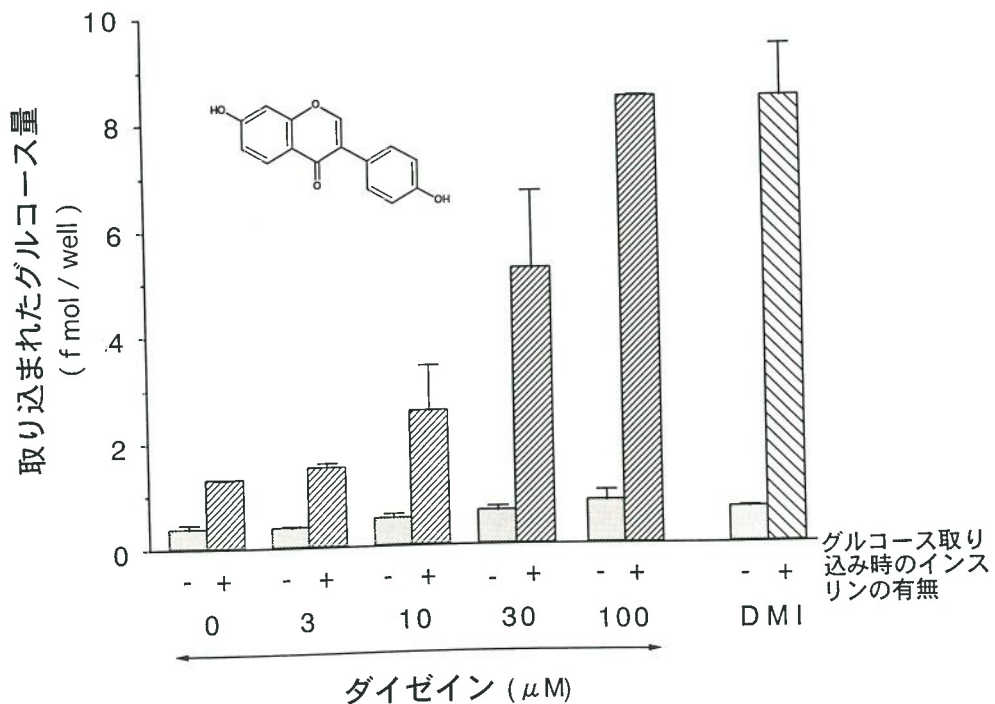


図2 ダイゼインで処理した3T3-L1細胞におけるグルコース取り込み

上昇には関与するタンパクと mRNA の上昇が認められ、食品成分が細胞の遺伝子レベルから変化を引き起こしていることが明らかになりつつある。

以上の結果より、細胞分化を促進しインスリンに感受性を持つ新しい脂肪細胞を作り出す作用が食品成分にあることが分かった。大人になってからの糖尿病はインスリンに対する反応性の低下（インスリン抵抗性）が大きな原因であることから、これらの食品による体質改善が期待される。現在、さらに多くの食品について検討を加えているところである。

4. おわりに

日本では、ご飯に季節感あふれる野菜や海産物・魚介類、大豆等の豆類、きのこ、畜肉製品、果物などを加えて変化に富んだ食材を摂取している。これが「日本型食生活」と呼ばれるものであり食品のバランスが非常に良いものである。そこで、肥満や糖尿病、心疾患など食品バランスの乱れが原因と考えられる病気（生活習慣病）が、日本では欧米に比べて少なくなっている。このことから、米（コメ）を中心とした「日本型食生活」は、

世界各国からも注目を集めている。

しかし、現代の特に若年層には欧米以上に生活習慣病の兆しが見られ、これは食生活が「日本型食生活」を逸脱し、過度に欧米型に移行しているためと考えられている。

このような現状を背景に、生活習慣病を予防することを目的とした機能性成分を活用した食品開発がますます活発になるとと思われる。しかし、健康機能性はまだまだ解明途上であることを考えあわせると、多種多様な食品を摂取することのできる「日本型食生活」を見直し、多種多様な機能性成分を体内に取り込むことが健康によいと考えられる。

文 献

- 1) Sekiya, K. *et al.*, *Phytotherapy Res.* 1 58-60 (1987)
- 2) Sandouk, T. *et al.*, *Am. J. Physiol.* 33 C1600-C1608 (1993)
- 3) Brandes, R. *et al.*, *Life Sci.* 40 935-941 (1987)
- 4) 関谷敬三, 奥田拓道, *実験医学* 4 482-488 (1986)
- 5) 関谷敬三, 奥田拓道, *代謝* 28 83-93 (1992)

国内情報

ラドン濃度を指標とした地表水と地下水の交流現象の解析

農林水産省 農業工学研究所
濱田 浩正

地表水と地下水の交流現象を解析することは、水資源の有効利用だけでなく、水質の予測にも必要不可欠である。従来の調査法は、流量観測を実施するのみであった。得られる結果は地下水の河川への浸出と河川水の地下への浸透量の差で、両者を定量することはできなかった。その問題を解決するために、水に含まれるラドンを指標とした調査・解析法を提示し、現地調査によって有効性を確認した。

1. はじめに

日本の水資源利用の約6割を占める水田かんがい水は地下に浸透し、その大部分は河川に浸出する。

このため、水資源の有効利用のためには、河川への地下水の流入区間とその量を把握することが必要不可欠である。また、これらのデータは、河川水の水質を予測するうえで、大いに役立つ。

河川への地下水の浸出を把握する従来の方法は、流量を測定するだけであった。例えば、ある河川で、上流の流量が $4\text{ m}^3/\text{s}$ 、下流の流量が $3\text{ m}^3/\text{s}$ の時、その区間では地下水の浸出はなく、 $1\text{ m}^3/\text{s}$ の河川水の浸透があるとされる。しかし、地下水の浸出が $2\text{ m}^3/\text{s}$ 、河川水の浸透が $3\text{ m}^3/\text{s}$ の時でも、河川の流量は上流で $4\text{ m}^3/\text{s}$ 、下流で $3\text{ m}^3/\text{s}$ となる。このように、従来の方法では、地下水の浸出と河川水の地下浸透を定量的に解析することはできなかった。

この問題を解決するため、筆者らは水に含まれるラドンを指標とした地表水と地下水の交流現象の解析法を提示し、現地調査によってその有効性を確認した^{1,2,3)}。以下、その概要について述べる。

2. 原理

地中の岩石や土壌は、必ずラジウムを含んでいる。ラジウムは、 α 崩壊をしてラドンになる。ラドンは半減期3.8日の放射性のガスで水に溶解するが、その一方で放射性崩壊によってポロニウムになる。放射性崩壊をする原子の数は存在する原子の数に比例するので、地下水のラドン濃度は最終的には供給と崩壊が等しい平衡状態になる。この濃度は地層のラジウム含有率や比表面積に支配される。このように、ラドンの起源は地層中のラジウムであるので、地下水のラドン濃度は地表水よりも高い。また、地表に湧出した水のラドン濃度は、大気中への飛散と放射性崩壊によって流下とともに低下する。従って、地表水のラドン濃度を流下方向に測定すれば、ラドン濃度の上昇から地下水の浸出区間が明らかになる(図1)。また、河川のある区間での水収支とラドン収支を明らかにすれば、それらの式を解くことにより、地下水の浸出量と河川水の地下への浸透量を求めることができる。

3. 地下水の湧出区間の特定

地表水のラドン濃度を測定して、地下水の湧出区間を特定する調査を千葉県の下谷地地帯で実施した。この地区の末端には溪流が存

HAMADA Hiromasa

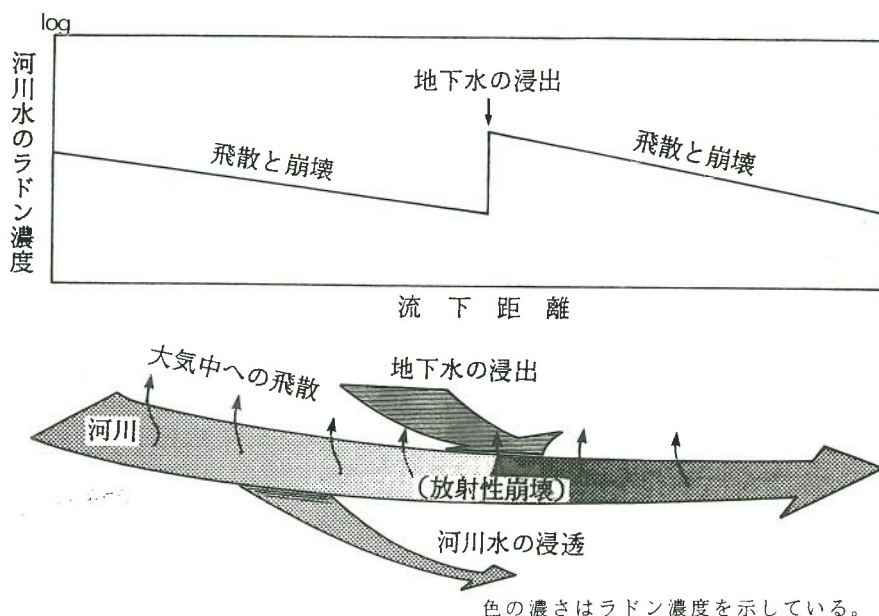


図1 河川水のラドン濃度変化

在し、地すべり地を流下してきた地下水の湧出が想定された。

調査は20m 間隔で渓流水のラドン濃度や流量などを測定した。ラドン濃度は、現地で10ℓの試水に150mlのトルエンを加え100mlをテフロンバイアルに回収した後、研究室に持ち帰って液体シンチレーションカウンタで定量した。

調査結果を図2に示す。渓流水のラドン濃度が14-15区間で急激に上昇していることから、この区間で地下水の浸出があることがわかる。流量もこの区間で増加している。しかし、流量観測には誤差が伴いやすい。その例が地点15から下流の区間である。流量観測の結果は増減を繰り返して地下水の浸出が想定されるが、ラドン濃度が指数関数的に低下していることから地下水の浸出は認められない。このように、ラドン濃度を測定することによって、地下水の浸出区間を今まで以上に明らかにすることができる。

4. 地下水の浸出と河川水の浸透の定量解析

河川のある区間で、地下水の浸出量と河川水の浸透量を求める場合、未知数が2つである。このため、水収支式とラドン収支式をた

て、これらの式を解くことによって地下水の浸出量と河川水の浸透量を求めることができる。

水収支式は、

下流地点の流量 = 上流地点の流量
+ 地下水の浸出量 - 河川水の浸透量
となる。

ラドン収支式の基本的な考え方は次のようになる。

$$A = B + C - D - E - F$$

ここで、

- A：下流地点でのラドン量
- B：上流地点のラドン量
- C：地下水によって運ばれたラドン量
- D：大気中へ飛散したラドン量
- E：放射性崩壊によって失ったラドン量
- F：河川水の浸透によって失ったラドン量

である。このうち、放射性崩壊によって失うラドン量は大気中へ飛散するラドン量より非常に小さく無視できる。大気中へ飛散するラドン量を推定することは困難であるが、筆者らは現地試験と過去の研究結果から計算式を提示し、大気中へ飛散するラドン量の推定を可能にした。詳しくは、参考文献1, 2, 3に記述してある。

解析法の適用例として、栃木県の思川での

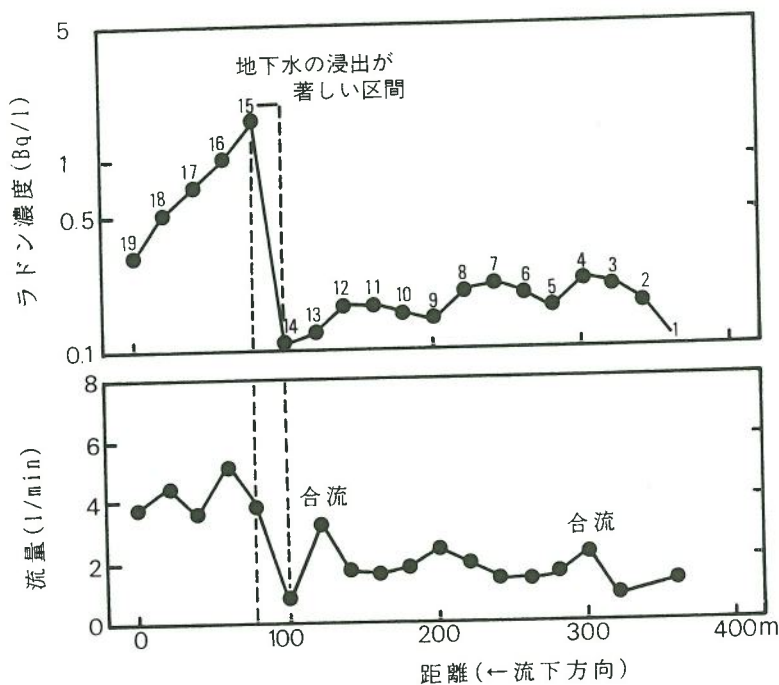
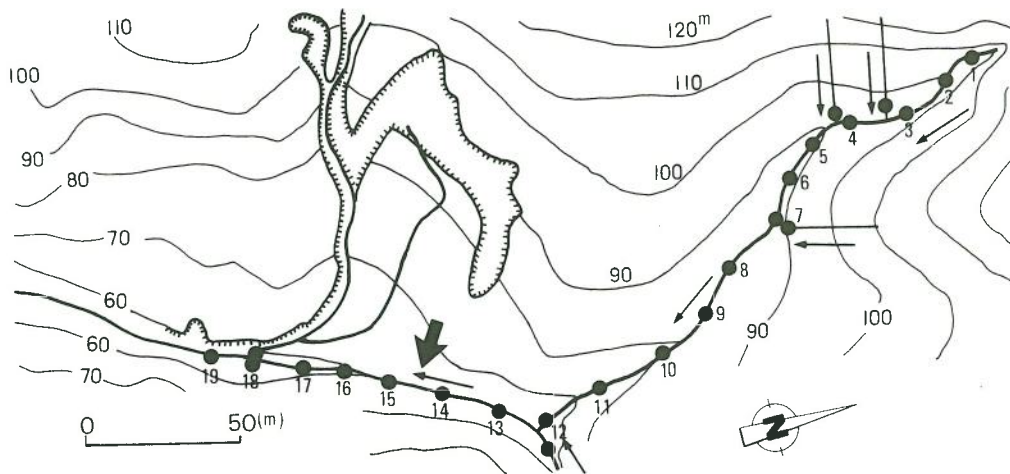


図2 溪流における地下水浸出区間の特定

調査結果を示す(図3)。思川流域は砂やレキで構成された扇状地で水田が多いことから、地表水と地下水の交流現象は著しいものと想定された。現地調査は、かんがい期の6月に実施した。調査項目は、地下水と河川水のラドン濃度、河川流量、水温である。

図3において水収支は、次のようになる。

$$Q_2 = Q_1 + Q_g - Q_r \quad (1)$$

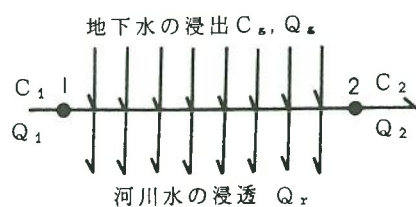
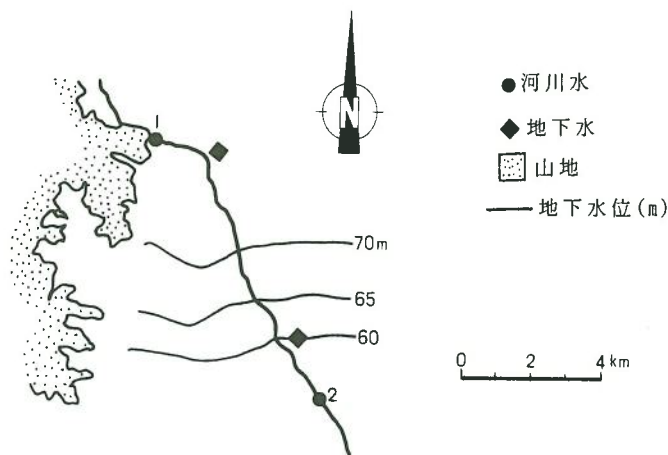
ラドン収支は、

$$C_2 Q_2 = [C_1 Q_1 \exp(-aL) + C_g Q_g \{1 - \exp(-aL)\} / aL] (1 - P) \quad (2)$$

$$P = Q_r / (Q_1 + Q_g) \quad (3)$$

ここで、 Q は流量、 C はラドン濃度、 L は距離 (9 km)、 a はラドン損失係数 (0.3 km^{-1}) を示す。ラドン損失係数は平均水深と平均流速を用いて算出した。

調査・解析結果を表1に示す。計算結果は地下水の浸出量 Q_g が $1.3 \text{ m}^3/\text{s}$ 、河川水の浸透量が $4.1 \text{ m}^3/\text{s}$ となった。水収支だけの結果では、地下水の浸出はなく河川水の浸透が $2.8 \text{ m}^3/\text{s}$ となるが、下流地点のラドン濃度が上流よりも高いため、地下水の浸出が存在するのは確かである。水収支とラドン収支からとめた結果が実態を反映していると言える。



Q : 流量
C : ラドン濃度

添え字は地点名を表す。

図3 思川の調査地点と解析モデル

表1 思川での調査・解析結果

地点1	C_1	0.80×10^3
	Q_1	8.2
地点2	C_2	1.2×10^3
	Q_2	5.4
地下水	C_g	24×10^3
地下水の浸出	Q_g	* 1.3
河川水の浸透	Q_r	* 4.1

C : ラドン濃度 (Bq/m³)

Q : 流量 (m³)

* : 計算値

5. おわりに

ラドン濃度を指標とした地表水と地下水の交流現象の解析法について説明した。この手法は貯水池での地下水流入量の把握や沿岸部での地下水の湧出部の検出にも適用が可能で今後の普及が期待される。

文献

- 1) Hamada H. and Komae T. (1994) Analysis of exchange between river water and groundwater using radon-222, Proc. Water Down Under '94, 115-120
- 2) 濱田浩正, 小前隆美 (1994) 河川水と地下水の交流解析への²²²Rnの適用, RADIO-ISOTOPES, 770-775
- 3) 濱田浩正ら (1997) ラドン濃度を指標とした地下水調査・解析法, 農業工学研究所報告, 17-50

地域の先端研究

巻きひげの無いアールスメロン 新品種「千葉 TL」の育成

千葉県暖地園芸試験場

大泉 利勝

アールスメロンの自然突然変異株の中から、巻きひげが全く発生しない形質を持つ品種「千葉 TL」を作出・育成した。これは世界で初めての発見と、また品種の育成でもある。今後、這い作りのメロンなどで整枝作業の面で省力となりうる新品種の育種素材として有望である。また、本品種の根量が多く、樹勢がきわめて強いという特性と各節に雌花が着生する側枝が2本発生する特性をいかして、1株同節2果どりの高品質メロンの大量生産という栽培の可能性も高くなりうる品種である。

1. はじめに

我が国において、メロン、キュウリ、スイカ、カボチャ、シロウリなどのウリ科植物は、一年生の蔓性草本で、茎には各節から巻きひげ (tendrils) を生じ他物にからまって、成長を拡大してゆく。分枝性が強く、各葉腋から分枝が次々と発生する¹⁾。これらウリ科野菜の栽培上での労力的な問題点としては、整枝・選定作業があげられる。スイカの交配前の蔓のひきもどし作業、また、這い作りメロンの蔓もどし作業や立作りアールスメロンの蔓のずり下げ作業などは、狭い施設内で腰をかかめて行う作業として労苦が大変多い状態である。

この蔓の整理・整枝や選定作業で、茎の各節から発生する巻きひげは、蔓どうしのからみあいや葉、葉柄へのからみこみを生じ、実用栽培においては無用の長物である。我が国では促成、半促成、加温抑制栽培のようにビニルハウスなどの施設内での栽培では、巻きひげの無いウリ科野菜は、農作業の省力的な面からみて、大変な長所になり得るとされる。

そこで、純系アールスメロン (隔離床栽培用品種) の原種の更新 (種子のとり返し) 作

業中に異形株が発見され、その株から、巻きひげが全く発生しない形質の揃ったアールスメロンの系統が作出・育成されたので、ここに紹介する。

2. 自然突然変異株からの作出・育成経過

平成3年の1月にアールス・フェボリット²⁾の原種系 (アールス・フェボリット冬系1号と特性が類似している品種) の種子どり返しを行ったところ、主づるに発生する巻きひげが全く発生しない株が7株中3株みられた。

いろいろな調査と文献からの知見の結果から³⁾、これは、自然突然変異による形態の変異と思われたため、その内の1株を自殖 (self) して DEG-3 と名付けた。

平成7年12月に EDG-3 を約100株栽培して、巻きひげの発生の有無を調査したところ、すべての株において巻きひげの発生はみられず、その代りに側枝の発生がみられた。つまり、主づるの各節に2つの側枝が発生する形態を示した。また、この巻きひげ代りの側枝は、発生、伸長に多少の強弱があり、ばらつきがみられた。

巻きひげが無発生のもは、これからの省力的な栽培品種として、有利性があると考えられたので、その中から優良個体の選抜 (果実形質が優れ、2つの側枝の発生の勢いが揃ったものを選ぶ) を行い、最も優れる株を

OIZUMI Toshikatsu

DEG-3-12とした。

平成8年は、夏作（9月下旬どり）と冬作（2月中旬どり）で各作とも約100株を供試して、特性を調査した。その結果、両作とも巻きひげ発生株は全くみられず、日長、温度および作型に関係なく、巻きひげ無発生となり、巻きひげ無しの系統としては固定されていると思われた（tendrilessメロン）。夏作でDEG-3-12-23を優良固体として選抜した。さらに冬作で選抜を継続した結果、形質が非常によく揃っているの、固定とみなして種子の増殖を行い、それらを「アールスDTL」とした。

その生育および果実特性は表1、2のとおりである。

その後、千葉県植物品種問題協議会で「千葉TL」（TLはtendrilのTとlessのLの略）と正式名称になり、平成10年1月に農林水産省に品種登録の出願を行った。

3. 新品種「千葉TL」の特性

「千葉TL」の品種特性をまとめてみると

次のようになる。

(1) アールス・フェボリット系のメロンで、巻きひげが全く発生しない品種である。

(2) 巻きひげが発生しない代わりに、主蔓、子蔓、孫蔓などの各節に2本の側枝が発生し、その両方に雌花（両性花）が着生する。

(3) 茎が太く、葉が大きく、根張りが良く根量が多いため、樹勢が非常に強く、雌花着生率も高くなることから、果実の大果生産が可能である。

上記のような特性を持っているので、交雑育種の親として新品種開発のため、たいへん利用価値が高いと思われる。

4. 「千葉TL」を利用した育種の可能性と今後の見通し

ウリ科植物の巻きひげ無しの品種については、キュウリの放射線照射で発見されたという報告がひとつあるが³⁾、それ以外にメロンなどで巻きひげの無い形質を持った品種を育成したという報告や、巻きひげ無しの遺伝子(td)を解析し、Gene symbolとしてGene Listへ登録した報告もない²⁾。

表1 アールス DTL の生育および果実特性（夏作）

品種名	摘心前の生育				11~20節間						備考
	草丈	葉数	最大葉縦径	最大葉横径	茎径(最大部)	の平均雌花着生率	果重	果実縦径	果実横径	糖度	
	cm	枚	cm	cm	mm	%	g	cm	cm	度	
アールス DTL	107	19.8	16.7	25.8	9.3	83(14)	1861	15.2	15.1	12.5	100%巻きひげ無
冬系1号	100	18.3	15.9	24.5	8.3	98	1834	14.2	15.3	12.4	100%巻きひげ有

*アールス DTL の平均雌花着生率の()の数値は、巻きひげ代わりに側枝の平均雌花着生率、表2も同じ。
 *糖度は、両品種とも冬作品種であるため、高温栽培下では収穫直前に果実の黄化が生じて、やや低くなった。
 *アールス DTL は「千葉TL」のこと。

表2 アールス DTL の生育および果実特性（冬作）

品種名	摘心前の生育				11~20節間						備考			
	草丈	葉数	最大葉縦径	最大葉横径	茎径(最大部)	の平均雌花着生率	果重	果形ネット密度	ネット盛り	糖度		食味		
	cm	枚	cm	cm	mm	%	g			度				
アールス DTL	55	14.9	12.4	17.1	7.5	95(76)	1299	3.6	2.8	2.2	2.3	11.5	2.9	100%巻きひげ無
冬系1号	60	15.8	12.1	16.5	7.2	97	1378	3.6	3.2	2.6	2.8	11.9	3.1	100%巻きひげ有

*果形およびネットは、5：優れる～劣る：1とした。
 *食味は、5：優れる～劣る：1の評価で行った。
 *糖度は、次作の作付けの都合で収穫を約10日ほど早めたため、低くなった。
 *アールス DTL は「千葉TL」のこと。

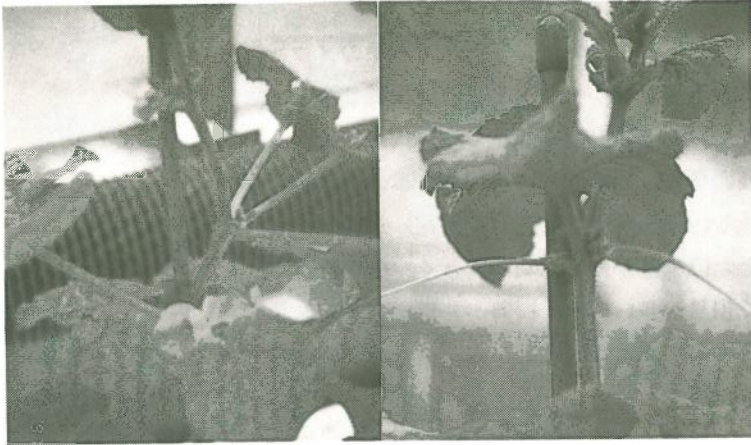


図1 アールスメロンの巻きひげ有無の生育状況
 (左：新品種「千葉 TL」 右：従来品種)
 * 「千葉 TL」は巻きひげが発生しなく、2本の側枝が発生する。
 * 従来品種は各節に1本の側枝と巻きひげが発生する。

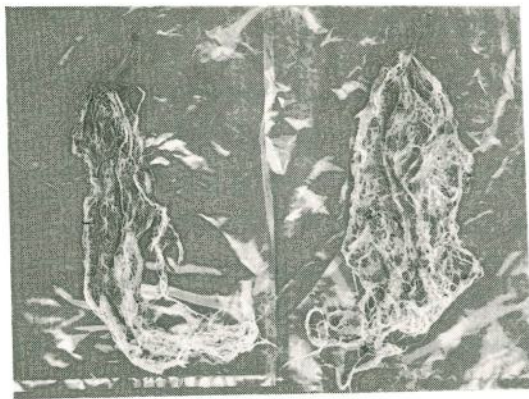


図2 根量の状態
 (左：従来品種 右：新品種「千葉 TL」)
 * 「千葉 TL」の根量がかかなり多い。

これらのことから、この発見は、世界で初めてであり、今後の新品種開発の育種素材として優れた利用効果が期待される。

では、「千葉 TL」を利用した育種の可能性について簡単にあげてみると、次のようになる。

(1) 巻きひげを摘み取る作業が不要で、省力となる品種開発ができる。特に這い作りのメロンでは効果が大きい。

(2) 同じ節に2本の側枝が発生し、その両方に雌花が着生するため、アールスメロンの同節2果どりの品種の開発が可能となり、高品質メロンの大量生産が期待できる。

(3) アールスメロン以外にも露地メロンの交配親とすることが可能であり、幅広い品種開発ができる。

(4) DNAの塩基配列の解析までの研究

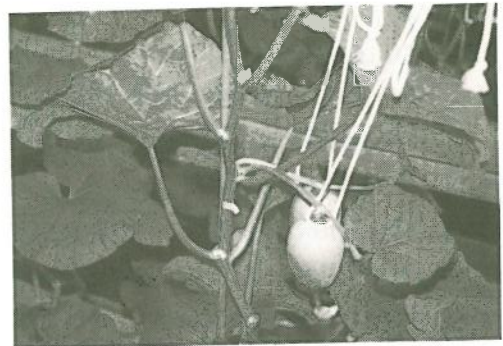


図3 「千葉 TL」の同節2果どり栽培の状況

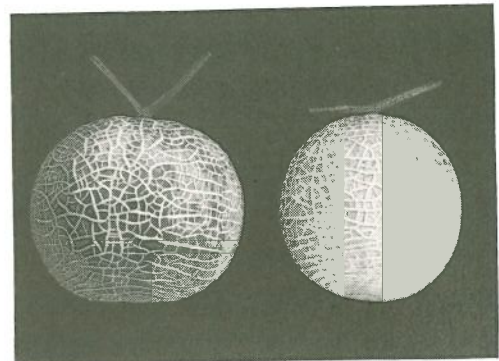


図4 果実の形質
 (左：新品種「千葉 TL」 右：従来品種)

がすすめば、スイカ、キュウリ、カボチャなどの巻きひげ無しの品種育成が可能である。

5. おわりに

今後の方針として、品種の持つ可能性を実現するため、本県独自の品種開発および各種試験を積極的に行う予定である。現在、県暖地園芸試験場野菜・メロン研究室では、巻きひげ無しの形質について遺伝解析をとりまとめ中で、この解明により交雑育種での手法・方法がより明確になると思われる。

また、千葉県では他の公的私的機関との積極的な共同研究開発を促進する方向にあるので、他機関との品種育成やDNAレベルの高度遺伝解析を早急に解明して、その研究の有利性を発揮したい考えである。

文 献

- 1) 秋谷良三編著(1966) 蔬菜園芸ハンドブック：224-226. 養賢堂
- 2) Michel, P (1994) Gene list for *Cucumis melo* L. Cucurbit Genet. Coop. Rpt, 17:

- 135-148
3) Phillip, B and J. L. Bowers (1965)
The inheritance and potential of an irradiation induced tendril-less character in

- cucumbers. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.,
86: 436-441
4) 清水茂監修 (1985) 野菜園芸大事典: 224-
226. 養賢堂

地域の先端研究

ブタ胚のガラス化保存とその再現性について

群馬県畜産試験場

後藤美津夫

ブタ胚は低温に対する感受性が他の家畜に比較し極めて高く、凍結による胚の長期保存技術が確立していないのが現状である。その一方で、高濃度の凍結保護物質を用いて急速冷却し、無氷晶状態で保存するガラス化法が、マウスやウシ胚の長期保存法として確立されつつある。ブタ胚においても過去にこの手法による分娩例¹⁾があり、その再現性を確認するためガラス化保存したブタ胚を7頭の受胚豚に移植し、その結果6頭に発情遅延が見られ、その内2頭が分娩に至りこの手法の再現性が確認された。

1. はじめに

ブタの受精卵移植はウシのそれに比較し、技術として成熟度において劣っている。また、産業的利用法としても疾病伝播の防除や遺伝資源の保存等様々な提案はされるものの、確固としたものを持っていない。その原因としては具体的には、ブタ胚の凍結保存技術とブタ胚の非外科的移植技術が確立していないことがあげられる。

しかし、平成4年を初年度とし農林水産省畜産局家畜生産課及び同省家畜改良センターの主催による「ブタ新技術開発研究会」及び「同分科会」が発足し、上記の二つの技術を始めとするブタの繁殖新技術開発の体制が整った。

本県においても、平成8年度より凍結保存分科会の急速冷却法開発グループに参加し共同研究を進めているが、その内容はガラス化法で唯一産子の得られている愛知県農業総合試験場で開発された方法¹⁾の再現試験を行いながら、技術としてより確実なものを作る方法で検討を進めている。また、本県でこのテ

ーマを選定した理由としては、ガラス化法が凍結時に胚の内外に氷晶形成を起こさず融解時の生存性が高いこと。いままでの緩速冷却法による産子の作出に成功している手法の再現性への疑問。そして群馬県ではウシ胚のガラス化保存が実用化レベルに達していることがあげられる。

2. ブタ胚の低温保存へのガラス化法の利点

ガラス化法は、高濃度の凍結保護物質を用いて急速冷却し、無氷晶状態で低温保存する手法で、これまで行われてきた緩速冷却法に比較し、低温感受性の高いブタ胚の危険温度域といわれる温度域を速やかに通過でき、無氷晶なため氷晶による物理的な傷害も回避できる。また塩の濃縮による傷害は緩速冷却法よりも少ないなど長所が多い。従って、高濃度で用いても毒性の少ない凍害防御剤を使用すれば、低温感受性の極端に高いブタ胚には適した冷却方法と考えられる。

3. ブタ胚のガラス化保存及び融解過程

ブタ胚のガラス化保存及び融解過程は、豚の胚移植マニュアル²⁾に準じて実施した。ま

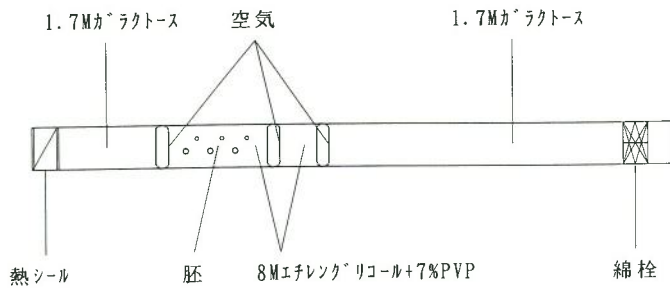


図1 ガラス化培地のストローへの充填

ず、比較的低温耐性の高い拡張胚盤胞から透明帯脱出直後胚を採取する。6日齢の胚を回収するとほぼこのステージの胚が採取できる。

胚のガラス化保存は、胚をまず2Mのエチレングリコール (EG) に5分間静置し、次に0.25ml プラスチックストローに図1のように気泡をはさんで8MEG+7%ポリビニールピロリドン (PVP) と1.7Mガラクトース (GAL) を充填し、ガラスピペットを用い8MEG+7%PVPへ移動し、ストローの先端を封入して液体窒素内に投入・急速冷却した。胚をストローに移してから冷却す

るまでの時間は40秒以内とした。

融解はガラス化保存したストローを液体窒素中から取り出し空気中に5秒間保持してから、25°Cの水槽中に入れて軽く揺すりながら10秒間ピンセットで保持した。その後、ストローを強く振って内容液を混合しストローからデッシュに排出した。胚を直ちに1.0MのEGに移し2分間静置、次に0.5MのEGに移し2分間静置した後、m-PBSに移して洗浄し培養及び移植に供した。

4. ガラス化保存したブタ胚の生存性と移植成績

ガラス化保存胚の培養試験では、胚盤胞 (BL), 拡張胚盤胞 (ExB), 脱出胚盤胞 (HB) の3ステージの胚をそれぞれ18~22個供試して生存性を比較した。生存判定は24及び48時間後に実施し経時的な生存率の変化を調べた。生存率の成績は表1に示した。培養後24時間では、過去に緩速法で産子の得られている ExB, HB のステージはそれぞれ

表1 融解後の胚の培養成績 (生存性)

ステージ	B L				E x B				H B		
	n	24h	48h	hatch	n	24h	48h	hatch	n	24h	48h
個数	22	7	5	0	18	15	13	5	19	14	11
%		31.8	22.7	0.0		83.3	72.2	27.8		73.7	57.9

表2 豚ガラス化保存胚の移植成績

レシット	移植 ¹⁾ 実施日	移植胚数	受胎	結果
W11-7	day5	25個	+	4頭分娩 (♂4頭)
W3-4	day5	30	±	再発day81
W2-11	day5	30	±	再発分娩とも無し
W2-10	day5	30	±	再発day71
W2-4	day5	30	±	再発無しday90で妊娠-
W2-9	day5	30	-	再発day23
W2-12	day4	30	+	3頭分娩 (♀3頭)

1) 許容開始からの日数



図2 ガラス化保存胚を移植して生産した子豚

83.3%, 73.7%と比較的良好な生存性を示し、緩速凍結法では生存胚の得られていないBLのステージでも31.8%の生存胚が認められた。しかし、胚の表面に変性した小さな細胞が付着しているケースが散見され、培養後48時間ではBL22.7%, ExB 72.2%, HB 57.9%と生存性が低下した。また、BLとExB透明帯の脱出率は0%及び27.8%と低く、培養成績全体でも小林ら²⁾の報告に比較し劣る結果となった。これはガラス化法が胚を高濃度の凍結保護物質にさらすので、手際よく凍結することが要求されたため、技術者の熟達度に起因するものと思われた。

ガラス化保存胚の移植は、許容後4～5日の受胚豚7頭に対し25～30個の胚を外科的にPPカテーテルにより子宮角先端に移植した。移植成績は表2に示した。7頭移植した受胚豚の内6頭に予定の発情再発日に発情兆候が見られず発情回帰が遅延され、さらにその内2頭が分娩に至った。産子数は4頭(♂4頭, 1頭未熟児, 図2)及び3頭(♀3頭)であった。また、発情回帰が遅延されたが分娩に至らなかった4頭についても、受胎後、胚死滅が起きたことが全く否定できず、受胎した

可能性も十分考えられた。

5. おわりに

今回の試験の結果では、2頭の受胚豚が分娩に至ったが、産子数が少なく分娩率も低いなど依然課題は山積している様に思える。しかし、ガラス化法がブタ胚の低温で長期の保存法として再現性が確認された意義は大きいと思う。また、今回の成果が一つの突破口となり、今後「ブタ新技術開発研究会」及び「同分科会」を中心に、この手法をテーマとする研究者が増し、それに伴ってブタ胚の低温での長期保存が実用化技術として確立し、養豚業界の発展に寄与できることを期待したい。

文 献

- 1) 豚の胚移植マニュアル(豚新技術開発研究会編)付録-3 胚のガラス化保存116～118
- 2) 小林ら ガラス化保存したブタ胚の凍結保護物質除去方法が生存性に及ぼす影響 愛知県農総試研報27:279～284

文献情報

Aspergillus nidulans由来の組換え抗原ASPND1rは、とりわけアスペルギルス腫の患者の血清と反応性がある

アスペルギルス症とは、肺のアスペルギルス腫から侵襲性のアスペルギルス症に至る複雑な病気であり、様々なアレルギー反応が含まれる。*Aspergillus* 属の様々な種はこれらの伝染病の病原体であり、伝染病の診断は臨床と免疫学の所見に頼っている。*Aspergillus fumigatus* の抗原に対する特異的な抗体がこれらの病気のほとんどにおいて認可されてきた。しかしながら、長い年月の間、標準化された抗原がないことが抗体アッセイの信頼性に疑いをかけてきた。抗原混合物の準備に関連した本質的な問題のために糸状菌抽出物を標準化したり、既知の抗原を精製したりする試みがなされた。目下、これらの問題を回避する最善の方法は既知の生物活性をもつ精製された均一の組換え体の抗原とアレルギーを使用することである。*A. fumigatus* の Asp f I ribotoxin, Asp f II allergen および heat-shock protein (HSP-1) が、組換え抗原としてすでに取得されている。これらすべての抗原は種々のアスペルギルス症患者の血清と一貫して反応性があるが、対照あるいは健康な人の血清とは反応性がないことが示されている。

A. nidulans はアスペルギルス症患者から分離される頻度が最も高い種であるというわけではないが、*Aspergillus* の伝染病の研究に貢献するモデルとなる。筆者らは以前、*A. nidulans* と主な病原体である *A. fumigatus* が、種々の *Aspergillus* の伝染病において強く特異的な体液の反応を誘導することができる密接に関連した抗原のファミリーを共有していることを示した。このファミリーに属する抗原、主に *A. fumigatus* の p40, p37 および Asp f II, また *A. nidulans* の ASPND1 は、*Aspergillus* により引き起こされる伝染病に対する特異的なマーカーであることが示されている。

ASPND1 抗原をコードする 996bp の *A. nidulans* cDNA がクローニングされ、*Schistosoma japonicum* の酵素 glutathione S-transferase (GST) との融合タンパク質として *Escherichia coli* で発現された。GST-ASPND1 の融合タンパク質は、SDS-PAGE により封入体から精製された。Thrombin を用いた切断の後、AS-PND1 の組換え抗原 (ASPND1r) と GST タンパク質は、SDS-PAGE により分離され、多くの人の血清とのイムノブロットに供された。アスペルギルス腫をもつ25人の患者のうち22人 (88%) の血清は、イムノブロットにおいて ASPND1r を認識した。しかし一方で49人の正常人の血清と他の伝染病の患者14人の血清は、反応性が無かった。

今後、様々な種類のアスペルギルス症に対するマーカーとしての ASPND1r の有用性を評価するために、アスペルギルス症患者の十分な数の血清を用いて試験することが必要となってくる。*E. coli* で発現された ASPND1r は *Aspergillus* に関連した疾病の血清学と臨床診断に対するひとつの標準化された抗原として、以前報告された組換え抗原と組み合わせ用いられるであろう。

(抄訳 藤田晃子一国税庁醸造研究所)

(FUJITA Akiko)

The recombinant antigen ASPND1r from *Aspergillus nidulans* is specifically recognized by sera from patients with aspergilloma

José Antonio Calera, María del Carmen Ovejero, Ramiro López-Medrano, Raquel López-Aragón, Pilar Puente and Fernando Leal

Microbiology, 144 : 561-567 (1998)

文献情報

ソバを用いたアルミニウム解毒作用

世界の農耕地の約40%は酸性土壌であるが、

その酸性土壌で農作物の生産量を制限している主要な原因のひとつは、アルミニウムによる毒性である。植物のなかには、ソバ (*Fagopyrum esculentum* Moench cv, Jianxi) を含めてアルミニウムの細胞への取り込みを抑制したり、細胞自身がアルミニウムに抵抗性を獲得したりする戦略を取っているものがある。そのため、それらの植物は高い抵抗性を有するが、その抵抗性のメカニズムは未だ不明である。本研究において、アルミニウムに抵抗性を有するソバの一品種 Juanxi がアルミニウムによるストレスを受けたとき特異的に且つ速やかに根からシュウ酸を分泌することが発見された。その上、葉の細胞においてもアルミニウムはアルミニウム-シュウ酸比が1:3の無毒のアルミニウム錯体として蓄積していることが認められた。

ソバの根を塩化アルミニウム溶液に浸漬したところ、30分以内にシュウ酸の分泌が認められた。そしてその分泌量は浸漬時間やまわりのアルミニウム濃度に比例して直線的に増加した。リンやランタンのような毒性をもつ金属はいずれもシュウ酸の分泌を誘発しなかった。このことは、根からのシュウ酸分泌がアルミニウムストレスによる特異的な反応であることを示している。ソバの葉中のアルミニウム濃度はアルミニウム処理後、乾物1 kgあたりおよそ450mgにまで達した。これは、麦や菜種など他の植物における蓄積量が1 kgあたり50mg以下であるのと好対照である。細胞抽出液のアルミニウム濃度は2.03 mMで、葉中の全アルミニウム量の90%に相当した。

^{27}Al 核磁気共鳴 (NMR) を用いて、葉中でのアルミニウムの検討したところ、生葉では16.9p.p.m., 細胞粗抽出液からは、16.1 p.p.m.といずれも同じ個所だけの chemical shift が認められた。このことは、両方の試料中でアルミニウムは6価の配位結合をもつ錯体であることを示している。この chemical shift からアルミニウムが有機酸と結合してキレート環を形成していることが示唆されたので、細胞液中の有機酸について分

析を行った。主な有機酸はシュウ酸で細胞液中にはおよそ50mMの濃度で存在した。シュウ酸はアルミニウムとの間で、1:1, 1:2および1:3のモル比 (アルミニウム:シュウ酸) で錯体を形成するので細胞抽出液と同じ pH(4.6) においた、これらの3つの chemical shift を比較した。その結果、1:3のモル比の錯体が葉の chemical shift と一致した。

Molecular sieve chromatography で細胞抽出液の精製を試みた。4段階の精製を行った後、アルミニウム-シュウ酸比は25から3まで減少した。精製された細胞抽出液中の ^{27}Al の chemical shift は生葉や細胞粗抽出液のそれと同じであった。さらに精製された細胞抽出液の ^{13}C の chemical shift はアルミニウム-シュウ酸 (1:3) 錯体の ^{13}C -NMR スペクトラムと一致した。

植物のアルミニウム毒性に対する重要な反応は根の伸長抑制である。著者はトウモロコシを用いて精製された細胞抽出液の根の伸長に対する影響を調べた。0.1 mM CaCl_2 溶液中に20 μM の AlCl_3 を加え、20時間処理したところ根の伸長は50%抑制された。ところが、同じ濃度のアルミニウムを含む精製された細胞抽出液では根の伸長を抑制しなかった。このことは、アルミニウム-シュウ酸1:3の錯体では植物に対して毒性を持たないことを示している。eriochrome cyanine R を用いて小麦 (品種名 Scout66) の根の染色を行ったところ最も伸長が盛んな先端は3価のアルミニウムにより非常に良く染色されるが、1:2および1:3のアルミニウム-シュウ酸の錯体では染色されることがわかった。このことは、シュウ酸が細胞成分とアルミニウムの結合を阻害する作用があることを示している。金属毒性に対する解毒作用の機作についてはいくつかの報告がある。Metallothioneins と phytochelatins ではカドミウムや銅に対する解毒作用が知られており、遊離ヒスチジンはニッケルを高度に蓄積する植物体においてそれらの金属と共有結合を形成することが報告されている。

本報告で示された知見すなわち、アルミニウムの解毒作用として最も単純な有機酸の一つであるシュウ酸が、細胞内外で働くということは最初の報告であり、アルミニウム耐性植物の開発においても多くの示唆を与えるものと考えられる。

(抄訳 平岡慈美—東京テクニカルカレッジ環境テクノロジー科)

(HIRAOKA Megumi)

Detoxifying aluminium with buchweat

Jian Feng Ma, Shao Jian Zheng, Hideaki Matsumoto, and Syuntaro Hiradate
Nature, 390: 569-570, 1997

文献情報

海産微細藻類の捕食に対する化学的防御

海産微細藻類は捕食に対して様々な防御機能を持ち、海洋の生態系を知る上で、それらを把握することは重要である。著者らは、先の報告で、海産微細藻類の *Emiliania huxleyi* は、渦鞭毛虫の *Oxyrrhis marina* の捕食により、細胞内のジメチルスルホニオプロピオン酸塩 (DMSP) からのジメチルサルファイド (DMS) 生成が促進されることを示した。微細藻類が有する DMSP 分解酵素による DMS 生成時には抗菌活性を有するアクリル酸も生成される。本報告において、この DMSP からのアクリル酸の生成が捕食に対する防御反応であることを示唆した。

試験には、*E. huxleyi* の 5 つの無菌株を用いた。5 株間に増殖速度、大きさ、及び細胞内の DMSP 量に大きな差はなかった。5 株とも DMSP 分解酵素を有するが、物理的あるいは化学的な方法による破碎がなければ DMS の生成はほとんどなかった。また、DMSP 分解酵素活性は、低い株と高い株があった。これらを用いて、以下の 3 種類の実験を実施した。それぞれの株の毒性、異なる株を 2 つずつ混合した場合の捕食選択性、それぞれの株と DMSP 蓄積のない他の微細藻

類を混合した場合の捕食選択性。

鞭毛虫 *O. marina* は、すべての株を摂取し増殖した。DMS は *E. huxleyi* 細胞が実際に摂取されるまでは生成されず、DMS 生成量は DMSP 分解酵素活性の強さを反映した。アクリル酸生成は DMS 生成に伴うことから、*O. marina* 内で起こっていると考えられたが、*O. marina* はほとんどネガティブな影響は受けなかった。しかし、他の鞭毛虫では、DMSP 分解酵素の低活性株では増殖できたが、高活性株では生存できなかった。また、*O. marina* のような DMSP 分解酵素高活性株に耐性のある捕食者でも、餌の選択時にそれらを避けることが明らかとなった。

DMSP 蓄積のない微細藻類 *Dunaliella tertiolecta* と混合した場合にも同様の識別が認められ、高活性株は避けられたが、低活性株は *D. tertiolecta* と同程度に捕食された。

この反応は、捕食者に対する防御として機能し、捕食圧を他の餌へ向けさせるという微細藻類にとっての生存戦略のひとつと考えられた。微細藻類によるアクリル酸の防御物質としての役割は以前にも報告されているが、本報告は、それが捕食により活性化される機構であることを初めて証明した。*E. huxleyi* はアクリル酸の自己に対する毒性を避けるために、それ自身は毒性のない DMSP として蓄積する。DMSP は、浸透圧の調節、凍結防止、メチル化反応におけるメチル基供与体として別の役割が報告され、多くの機能を有した防御物質前駆体かもしれない。

DMS DMSP, アクリル酸は、防御系における役割に加えて、海洋細菌や原生生物の化学誘因物質として作用しているという報告もある。これらの物質の海洋生態系におけるシグナルとしての役割のさらなる解明が期待される。

(抄訳 大栗智昭—マルハ中研)

(OGURI Tomoaki)

Grazing-activated chemical defence in a unicellular marine alga

Gordon V. Wolfe, Michael Steinke & Gunter O. Kirst

Nature, 387: 6636, 1997

文献情報

テロメラーゼ欠損による精巢
内細胞のアポトーシス増加

テロメアは真核細胞の染色体の末端部に存在する。テロメア DNA は細胞増殖に伴い短縮し続け、限界にまで短縮すると染色体の安定が保てなくなり、細胞は死滅する。テロメラーゼはこのテロメアを維持する酵素である。Lee らは、テロメラーゼ欠損マウスを用いて、器官形成における役割について検討した。

このテロメラーゼ欠損マウスの生殖能力を世代で見ると、一腹産子数が4世代目で減少し、6世代目では産子が得られず、6世代目の雄の精巣は小さくなっていた。精巣組織では、4世代目までは良く発達した精細管、セルトリ細胞、精子形成におけるすべてのステージの生殖細胞が見られたが、5世代目で生殖細胞は消失し、6世代目では、セルトリ細胞やライディッヒ細胞が正常であるのに対し、ほとんどの精細管は著しく欠損していた。野生型の精細管では、細胞周期のS期が多く見られたのに対し、3世代目では5分の1に減少し、5世代、6世代目になると更に減少していた。さらに5世代、6世代目では、アポトーシスも野生型より増加していた。すなわち、後の世代の精巣では、精子形成が阻害され、増殖が低下し、アポトーシスが増加していた。つまり、このテロメラーゼ欠損マウスの雄の生殖細胞の消失には、増殖能の低下

とアポトーシスの増加という、少なくとも2つのプロセスが働いている。

雌では、6世代目の雌の子宮は野生型に比べ、やや小さいだけだが子宮筋層が薄くなっていた。卵巣は小さくなっているが、グラーフ卵胞や黄体は存在していた。この6世代目の雌を野生型の雄と交配させたところ、正常受精卵数、体外発生率、胚移植後の妊娠と分娩においても、野生型雌より低い結果であった。その他、骨髄の造血細胞や脾臓でも増殖能が阻害されていた。こうした阻害効果はテロメアの短縮化や染色体の融合・消失と一致していた。

これらの知見は、ゲノムの完全性の維持や増殖性の高い器官の長期の生存において、テロメラーゼとテロメアが必須役割を担っていることを示している。テロメラーゼ活性は、哺乳動物の発生に直接的に働くものではないが、細胞分裂における適切なテロメア構造の維持を通して、細胞の生存と器官のホメオスタシスに働いている。幹細胞に比べほとんどのガン細胞は増殖が速いことから、テロメラーゼの阻害は医療面での応用に有効であると考えられる。

(抄訳 松本浩道—東北大農)

(MATSUMOTO Hiromichi)

Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs

Lee H.-W., Blasco M.A., Gottlieb G.J., Horner J.W., Greider C. W. and R.A. DePinho

Nature, 392: 569-574, 1998

海外便り

アワビの初期生態に関する研究 —ニュージーランド コースロン研究所での1年—

水産庁 東北区水産研究所
河村 知彦

1. はじめに

ニュージーランドと言えば「羊の国」という代名詞がまず思い浮かぶが、私はこの国で1996年7月から1年間、オールギランティ研究員として「アワビ」の初期生態に関する研究をする機会を頂いた。

私が滞在したコースロン研究所は、南島の北端にある人口4万人ほどの田舎町ネルソンにある。田舎町とは言っても、人口340万人ほどのこの国（そのうち100万人程度が北島のオークランドに集まっている）では、10番目くらいに人口の多い南島北部の中心都市だ。本州と九州をあわせたほどの面積を持つ国土に日本の人口の35分の1ほどの人間しか住んでいないのだから羨ましい限りである。ネルソンは、日本人向けの観光ルートには入っておらず、日本ではあまり知られてはいないが、ニュージーランド人には人気の高いリゾート地である。

私はコースロン研究所と国立の水圏・気圏研究所（NIWA）が企画したプロジェクト研究（アワビの初期生態に関する共同研究）のメンバーとしてニュージーランドに滞在した。アワビなど水産資源の養殖事業は、ニュージーランドを支えるこれからの産業として期待されていて、研究機関も種苗生産や養殖技術の開発に力を入れはじめている。私に与えられた課題は、私が共同研究者とともに日本のエゾアワビで明らかにした初期稚貝の食性を、ニュージーランドのアワビでも同様の手法で明らかにすることであった。

2. アワビの初期生態研究

アワビは産卵・受精後、数日間の浮遊期を経て基質上に着底し、変態して稚貝となる。変態直後の稚貝の大きさは0.3mmほどである。これが数年の歳月をかけて漁獲されるサイズに成長する。着底・変態直後から殻長5mmくらいまでの期間が、自然環境下でも種苗生産工程においても最も減耗の大きい時期である。私たちの研究グループは、その時期のエゾアワビの生態研究を行っており、変態直後からの初期稚貝の食性を明らかにしてきた。特に、これまで初期稚貝の主要な餌料と考えられていた珪藻のなかでも、実は初期稚貝が餌料として利用できるのはごく一部の種類に限られていることを見つけた¹⁾。アワビ稚貝は珪藻の珪酸質でできた固い細胞壁を消化管の中で壊すことが基本的にはできない。珪藻細胞の中身（細胞質）を摂取するためには、稚貝は珪藻を基質から剥ぎ取る際に細胞壁を物理的に壊す必要がある。基質に強固に付着する珪藻と例外的に細胞壁が非常に薄い珪藻だけが、稚貝の歯（歯舌）で擦り取られる際に細胞壁が壊れ、結果として稚貝は細胞質を利用することができる。それ以外の多くの珪藻は、細胞壁を破壊されることなく取り込まれ、ほとんどが生きてそのまま排泄されてしまう。殻長1mm程度までの稚貝は、珪藻の細胞外に分泌する粘液などを食べて成長できるが、それ以降は、このような歯舌で破壊されない珪藻を餌とした場合良好に成長することはできない。

いくつかの実験の結果、ニュージーランドに生息する3種のアワビのうち、最も重要な漁業・養殖対象種であるヘリトリアアワビも日

KAWAMURA Tomohiko

本のエゾアワビと基本的には同じ初期食性を持っていることがわかった。変態後2～3週間は、粘液物質を主な餌料とするためどんな珪藻を食べても同じように良く成長できるが、その後は摂餌の際に細胞殻を分解できる特定の珪藻においてのみ良好な成長を得ることができた²⁾。同時に、その食性変化のメカニズムについてもある程度の答えを得ることができた³⁾。遺伝的に近縁ではない2種のアワビの初期食性が共通していたことは実に興味深い結果であり、両種の生態を比較する上でも、種苗生産の技術を共有するためにも、好都合である。

私がニュージーランドで研究を行いたかった理由の一つに、「人為的な影響を受けていない天然アワビ個体群とその生息環境を自分の目で見て、そのようなアワビ個体群が見られなくなってしまった日本のアワビの生息環境との違いを見つける」ということがあった。日本でアワビ稚貝の天然発生が極端に減ってしまった原因を見つけることができるかもしれないと期待したのである。実際、私はいろいろな場所で海に潜り、健全なアワビ個体群を見ることができ、日本の海との違いも幾つか見つけることができた。しかし、アワビの数が多いいっても初期稚貝を見つけるのはやはり難しく、まとまった調査をするには1年の滞在は短かすぎた。フィールドの調査を一緒にやることにしていたNIWAのPaul McShane博士が、私の滞在中にオーストラリアに移ってしまったこともあり、こちらの目的は消化不良に終わった。これは、今後コースロン研究所のアワビ研究チームと共同研究の形で継続していくことになりそうだ。

3. コースロン研究所とニュージーランドの研究体制

コースロン研究所は、国公立ではないが営利を目的としない半ば公の組織である。日本で言えば財団法人にあたるのだろう。今年で創立76周年を迎える歴史ある研究所だ。研究所のスタッフは総勢80名ほどだが、そのうちの過半数は国や企業から委託される化学分析



付着珪藻を食べているヘリトリアアワビ *Haliotis iris* 初期稚貝 (変態後約1週間、殻長約0.5 mm)。

業務や環境コンサルタントを行っており、純粋に研究を行うスタッフは30名ほどにすぎない。それでもニュージーランドで海洋生物の研究を行っている2大研究所の一つだ。といっても、もう一つのNIWAは、総勢500～600名を有する文字通りの大研究所である。

研究スタッフ30名（このうち半数が研究者で半数がテクニシャン）といえ、ほぼ東北水研と同じ規模だ。建物の規模もそれほど大きくはなく、職員の総数（約2倍）から考えれば東北水研よりも人口密度は高いかもしれない。研究機器はそれほど充実しているとは言えないが、研究者の水準自体は非常に高いという印象を受けた。パーマネントの職員は一人もおらず、所長を含めて全て短期の契約で雇われている。研究者も全てプロジェクトの研究予算で雇われているため、プロジェクトが終わってしまえばその後雇ってもらえる保証はない。研究者は、プロジェクト研究の予算を申請する際に、実際に研究にかかる費用以外に自分の給料やテクニシャンの給料、研究所の維持経費なども要求しなければならないのである。つまり申請が却下されれば給料ももらえなくなってしまう。実際には、前述した分析業務やコンサルタント業務等での利益などをやりくりしてアクシデントに対処し、急に職がなくなってしまうことがないようにしているようだが、業績を残さないと簡単にくびになってしまうのだ。それだけに皆真剣に研究に取り組んでいるように見えた。このようなシステムは、コースロン研究所

に特有のものではない。何年か前に独立採算性の組織となった国立の研究所N I W Aでも、同じシステムをとっているようだ。人件費を含むプロジェクト研究費の最大の供給源は、ニュージーランド科学技術省である。研究費の申請は、国内外のその分野の専門家数人の審査を経て、採否や金額が決められる。研究内容はもちろんのこと、成果の公表方法（どのレベルの雑誌に何報の論文を投稿する予定かなど）、産業界への具体的貢献方法まで審査の対象となるのだから、なかなか大変である。予定通りに研究を進められたかどうかは、その後の研究費に直接響いてくる。計画的に有意義な研究を進めて業績を残していかないと、研究者という職にあり続けることはできない。牧歌的でのんびりとした国民性からは想像できない厳しさだ。

4. おわりに

最近、日本でも国立研究所のエージェンシー化が検討されている。ニュージーランドでは、既に研究所の完全な独立採算性が実施されているわけだが、現在のところ大きな混乱はなく、研究者間の評判もそう悪くはないようだ。しかし、日本に同じシステムが馴染む

とはとうてい思えない。研究所の所長からアルバイトの学生までがお互いにファーストネームで呼び合い、職種の違いが身分の上下関係にはならない国だからこそうまくいっているのであろう。誰もが自分に最もあった生き方、職業をごく自然に選ぶことのできる社会なのだ。おそらく幼い頃からの教育のされ方が違うからだということを、息子が通っていた幼稚園の様子から伺い知ることができた。

言葉も習慣も異なる国で、常識も考え方も異なる研究者と一緒に研究を行うことは想像以上に大変であったが、それだけに得るものも大きかった。外から自分のおかれていた研究環境や日本の社会を見ることができたのも、大変いい経験になった。この素晴らしい機会を与えてくださった方々、留守中ご迷惑をおかけした多くの方々、ニュージーランドでお世話になった方々にあらためてお礼を申し上げたい。

文 献

- 1) Kawamura *et al.* (1995) *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 194 : 189-199
- 2) Kawamura *et al.* (1998) *Aquaculture* 160 : 81-88
- 3) Roberts *et al.* (submitted) *J. Exp. Mar. J. Shellfish Res.*

編集後記

ニューバイオテクテクノロジーへの期待が高まり、各方面での研究が盛んに行なわれるようになって15年余りが経過した今日、それぞれの分野で現状分析や戦略の見直しがされ、将来の方向が模索されています。成果について、期待はずれと言う見方から、短期間で予想以上であると言う評価までありますが、基礎的研究の分野では多大の成果が得られていると思われます。これらを実用化して行く上で、いくつかの問題を21世紀へ引きつぐことになりそうです。中でも既存の技術に対してコスト面で優位性をひき出すには地道な実用化研究が必要でしょう。本誌においても、基礎研究の先端を紹介するとともに、それらをもとに実用化、産業化するための取り組みについてとり上げて行きたいと思います。さらに今後、期待される環境改善におけるバイオテクテクノロジーの役割と可能性について注目して編集できたら幸と考えています。

(松田記)

ブレインテクノニュース (第68号)

平成10年7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

〒105-0001 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

〒103-0026 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