

BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

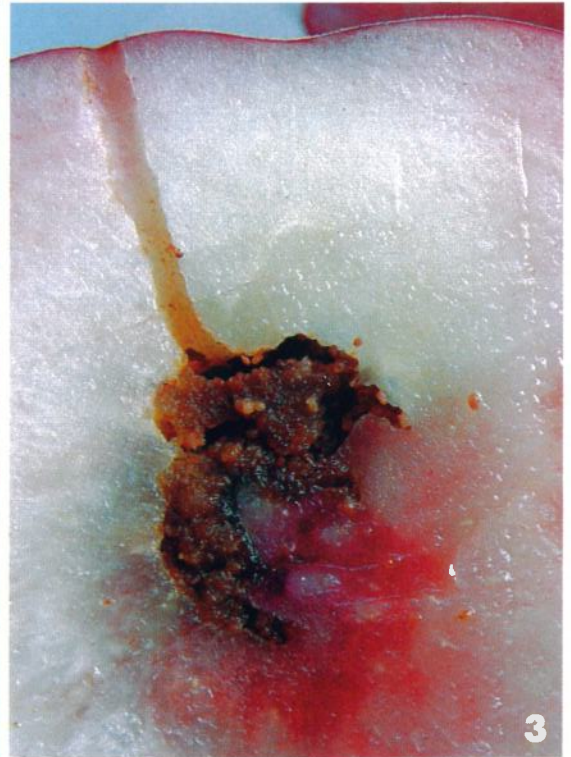
TECHNO NEWS

〈生研機構〉

ブレインテクノニュース

第84号

MARCH 15, 2001



1. 幼果期に被害を受け、透明なヤニを出しているモモ。2. 加害された収穫モモ。3. 被害モモの断面。4. モモシンクイガ卵。5. 同幼虫。6. 同雌成虫。

難防除害虫モモシンクイガと被害果 (福島県果樹試験場 荒川昭弘氏原図)

目 次

総 説	
マップベースクローニング法によるイネの遺伝子機能解析	1
矢野昌裕 (農林水産省 農業生物資源研究所分子遺伝部)	
国内情報	
遺伝子破壊を利用したイネ遺伝子の機能解析	6
廣近洋彦 (農林水産省 農業生物資源研究所分子遺伝部)	
食害ストレスおよび揮発性情報シグナルで誘導される植物の防衛機構	10
有村源一郎・高林純示 (生研機構, 京都大学 農学研究科地域環境科学専攻)	
味覚センサーを用いた食品の味の識別と定量化	15
都甲 潔 (九州大学 大学院 システム情報科学研究所 電子デバイス工学専攻)	
体細胞クローン技術を応用した, 遺伝子組換えヤギの作出に向けて	19
大越勝広・徳永智之 (農林水産省 畜産試験場 繁殖部)	
DNA分析による放流ヒラメの出身地の特定	22
藤井徹生 (水産庁 日本海区水産研究所 海区水産業研究部)	
地域の先端研究	
複合交信攪乱剤を利用したモモ害虫防除と殺虫剤削減	26
荒川昭弘 (福島県果樹試験場)	
文献情報	
卵子と顆粒膜細胞間のギャップ結合が卵子の核および細胞質における	
減数分裂能獲得に必要である	29
M. J. Carabatsos et al. (Developmental Biology, 226, 167-179, 2000)	
抄訳: 木村直子 (東北大学大学院 農学研究科)	
DNAマイクロアレイ解析により明らかにされた酵母染色体の異数性化	30
Timothy R., et al. (Nature Genetics, 25, 333-337, 2000)	
抄訳: 王 茜 (広島大学大学院 先端物質研究科)	
植物ゲノム初の完全解読なる	31
The Arabidopsis Genome Initiative (Nature, 408, 798-815, 2000)	
抄訳: 岩井純夫 (鹿児島大学 農学部)	
バクテリアは, 付着生物の初期幼体の餌と成り得るか?	32
Louis A., et al. (Marine Ecology Progress Series, 192, 163-172, 2000)	
抄訳: 山本 久 (マルハ株式会社 中央研究所)	
海外便り	
飼料作物の硝酸塩蓄積に対するゲノム学的アプローチ	
—ケンブリッジ大学の1年間—	33
原田久富美 (農林水産省 草地試験場)	
生研機構からのご案内	
平成13年度募集について	36

表紙写真説明

モモの難防除害虫モモシンクイガと被害果 (福島県果樹試験場 荒川昭弘氏原図): モモシンクイガの加害時期は6月から8月までの長期に及び、本害虫は難防除種として知られている。また、写真に示すような加害局所のため被害モモの選別は容易でなく、商品に紛れ込む危険性が高いので (許容水準0.1%以下)、生産者は殺虫剤散布に頼りがちであった。しかし、このような状況を打開するため、殺虫剤散布削減による環境負荷軽減技術が開発され、現場に应用されはじめています。その一つである複合交信攪乱剤利用による殺虫剤削減技術の研究が、地域の先端研究26頁で紹介されているのでご覧下さい。

◀総説▶

マップベースクロニング法による イネの遺伝子機能解析

農林水産省 農業生物資源研究所分子遺伝部

矢野 昌裕

マップベースクロニング法は染色体歩行法とも呼ばれ、遺伝子の翻訳産物や機能が推定できない場合の遺伝子単離法の一つである。この手法は従来から一部の動植物における遺伝子単離に利用されてきたが、計画的に実験用分離集団を作出できる植物においてより有効に活用されている。全ゲノム塩基配列情報の公開により、マップベースクロニング法はさらに取り組みやすくなり、最近では遺伝学的な存在すら曖昧であった量的形質遺伝子もこの手法により単離されている。

はじめに

遺伝地図を利用した遺伝子の単離はマップベースクロニング法あるいは染色体歩行法とも呼ばれる。形質の変異によってのみその存在が推定され、その翻訳産物や遺伝子構造が不明な遺伝子の単離・同定にこの手法が利用される。従来からその考え方は確立しており、一部の動植物における遺伝子単離に幅広く利用されてきている。特に自殖性の植物では、計画的に作出した実験用分離集団を利用できることから、精度の高い遺伝地図に基づく遺伝子候補領域の絞り込みが可能である。したがってこの手法は今後、有力な遺伝子単離法の一つとして利用されると考えられる。ここでは、マップベースクロニング法の流れとその過程で利用可能なツールならびにイネにおけるマップベースクロニングの事例およびその他の植物における最近のいくつかの事例を紹介したい。

マップベースクロニング法

遺伝子単離は、まず染色体上の遺伝子の位置を決定するための標識となるDNAマーカーを用いて、目標遺伝子が存在する染色体領域の詳細な遺伝地図（連鎖地図）を作成することから開始する（図1）。多数の個体から

YANO Masahiro

〒305-8602 つくば市観音台2-1-2

なる雑種集団とできるだけ多くのDNAマーカーを用いて詳細な連鎖地図を作ることにより、目標遺伝子に最も近接して存在するDNAマーカーを同定できる。次に目標遺伝子の両側で最も近接するDNAマーカーを利用し、酵母人工染色体（YAC）あるいは大腸菌人工染色体（BAC）等の比較的大きな断片をもつゲノムクローンを選抜する。必要に応じて選抜したゲノムクロンの末端断片やサブクローンを利用し、さらに近接するゲノム領域を含む別のクローンを選抜して、目標遺伝子を含む領域全体についてゲノムクロンの整列化を行う。この整列化されたクローンと精度の高い連鎖解析の組み合わせにより、目標遺伝子の候補ゲノム領域をできるかぎり絞り込むことができる（図1）。最終的には遺伝子候補として限定したゲノム領域の塩基配列解析による遺伝子予測や遺伝子発現パターンの解析によって、候補となる遺伝子領域を特定することができる。特定した候補遺伝子は形質転換による相補性検定により、その機能を証明する。この手法を利用する際の最も重要な点は、分離集団における目標遺伝子の分離を表現型に基づいて正確に決定することおよびできるだけ大きな分離集団の解析を行うことである。近年PCR法を利用したDNAマーカーが充実してきたことで、大規模分離集団の効率的な解析も比較的容易に取り組めるようになってきた。なお詳細な手法と後述の利用可能な研究資源の詳細について

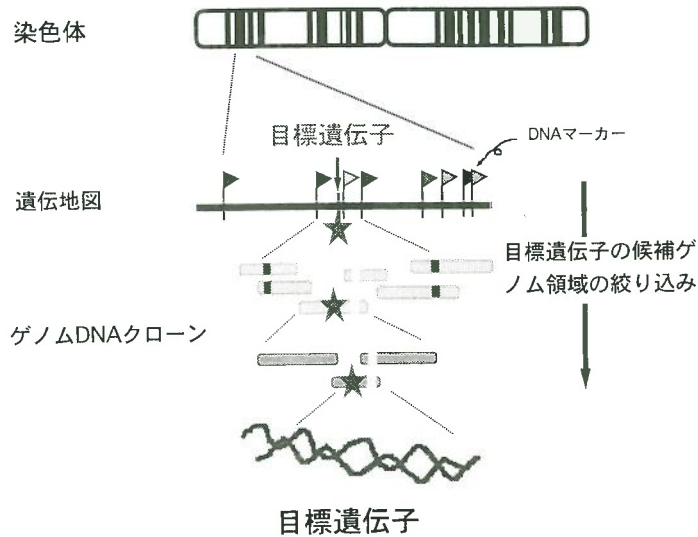


図1 マップベースクローニング法による遺伝子単離

は他のプロトコル集を参照していただきたい¹⁾。

ゲノム研究によって蓄積されたツール^{2,3)}

マップベースクローニングにおいて、最も重要なツールは遺伝地図作成のためのDNAマーカーと候補領域のゲノムクローンによる整列化のためのゲノムライブラリーである。図2には利用可能なツールをまとめた。第1期イネゲノム解析研究では、制限酵素断片長

多型 (RFLP) を利用して、2275種類のマーカーをもつ高密度連鎖地図を作成した。この連鎖地図のマーカー数は現在3267種類に達している。一方、アメリカのコネル大学のグループは約700種類のRFLPマーカーからなる連鎖地図を作成した。合わせて4000種類を越えるこれらのRFLPマーカーは目標遺伝子の遺伝地図作成に利用可能である。日本のイネゲノム研究プログラムでは、高密度連鎖地図を骨格として約70%のイネのゲノムをカバーする酵母人工染色体 (YAC) クローンの整列化地図を作成した。一方、大量の発現遺

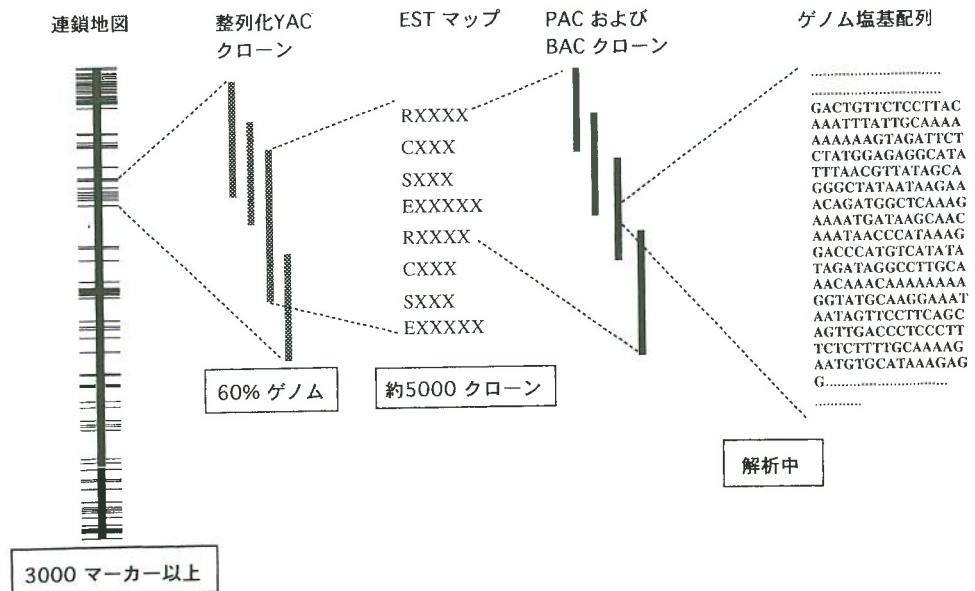


図2 マップベースクローニングによる遺伝子の単離・同定に利用可能なツール

伝子 (cDNA) の部分塩基配列が解析され、約40000個のcDNA断片の部分塩基配列がデータベースに登録されている。そのうちの約5000クローンについてはYACクローンの整列化地図上の位置が決定されている。さらにはゲノム塩基配列を解読するためにPACおよびBACライブラリーが作成され、染色体へのそれらのクローンの整列化が進められている。これらのツールはマップベースクロニングにおいて最も重要な役割を担う染色体領域特異的なすなわち目標遺伝子の近傍に存在するDNAマーカーの供給源となる。ゲノム塩基配列解読作業が進めば、さらにその供給源は充実し、従来から考えられていたマップベースクロニングの手順も大幅に簡略化されるであろう。

イネ遺伝子の単離・同定

これまでにマップベースクロニング法により単離・同定されたイネの遺伝子を表1に示す。白葉枯病抵抗性遺伝子 *Xa21* ならびに *Xa1* の単離では、まだゲノム研究から派生する研究資源を十分に生かすことはできなかったが、数百kbまでの候補ゲノム領域の絞り込みと類似性検索を利用した候補遺伝子の探索をうまく組み合わせ、単離・同定を成功

させた^{4,5)}。いもち病抵抗性遺伝子 *Pib* の単離では、分離集団の規模を拡大したRFLPマーカーの解析により、候補ゲノム領域を80kb以下に絞り込み、そのゲノム塩基配列を決定することにより目的の遺伝子を同定することができた⁶⁾。これらの例では、絞り込んだゲノム領域はそれほど小さくないが、目的の遺伝子が病害抵抗性遺伝子に特徴的な配列をもっていたこともあり、その単離・同定が成功したと言えよう。第5染色体の矮性遺伝子 *D1* の単離では、3000個体以上の分離集団を用いて作成した高精度連鎖地図上で組み換えが認められなかったcDNAクローンが目標遺伝子そのものであった例で、単離・同定までに要した期間はかなり短縮された⁷⁾。たれ葉遺伝子 *DL* の単離では、小規模な分離集団の解析と目的遺伝子の染色体欠失システムを利用して、ある程度まで候補ゲノム領域を絞り込み、最終的にはレトロトランスポソンの遺伝子破壊システムを活用して、単離・同定に至った⁸⁾。出穂期を調節する遺伝子 *Hd1*, *Hd3a* および *Hd6* の単離・同定は、塩基配列情報を効果的に活用して、候補ゲノム領域を可能なかぎり絞り込んだ例である^{9,10,11)}。これらの事例では、候補領域に予測される遺伝子は最終的に2~4個となり、候補遺伝子の形質転換による機能解析に容易に移行できた。イネ

表1 マップベースクロニング法により単離・同定されたイネ遺伝子

遺伝子	形質	分離集団の個体数	遺伝地図により限定されたゲノム領域(kb)	文献
<i>Xa21</i>	白葉枯病抵抗性	約1000	—	(4)
<i>Xa1</i>	白葉枯病抵抗性	約1000	350	(5)
<i>Pib</i>	いもち病抵抗性	3305	80	(6)
<i>Pi-ta</i>	いもち病抵抗性	990	約1000	(13)
<i>Hd1</i>	感光性 (出穂期)	1505	12	(9)
<i>Hd6</i>	感光性 (出穂期)	2807	26	(10)
<i>Hd3a</i>	感光性 (出穂期)	2207	20	(11)
<i>D1</i>	大黒型矮性	3200	30	(7)
<i>DL</i>	たれ葉	152	—	(8)
<i>Spl7</i>	病斑形成抑制	2980	3	(12)

の出穂期は多くの遺伝子と環境によって決定されている遺伝が複雑な量的形質の代表であるが、マップベースクローニング法により関与する遺伝子群が次々に解明されている。病斑形成抑制遺伝子 *Spl7* の場合は、高精度連鎖解析によって、候補ゲノム領域が約 3 kb となり、候補遺伝子をただ一つに決めることができた¹²⁾。いもち病抵抗性遺伝子 *Pi-ta* の単離では、990 個体の連鎖解析によって絞り込んだ候補領域約 1-Mb の塩基配列解析を行い、病害抵抗性遺伝子に特徴的な配列を候補として見出した¹³⁾。このようにゲノム研究の進展に伴い、マップベースクローニングに要する手間や時間も、かなり軽減されてきている。大規模な分離集団 (2000~3000 個体) を解析に利用すれば、連鎖解析のみで候補ゲノム領域を数十 kb に、候補遺伝子を数個に絞ることができている。この手法による遺伝子単離の最も大きな制限要因は、絞り込んだ候補ゲノム領域の塩基配列解析であるが、これについても 1~2 年後には公的データベースから入手することができるようになり、この手法による遺伝子の単離・同定も著しく加速されるであろう。

他の植物におけるマップベースクローニング法の活用

シロイヌナズナではゲノム研究が先行してること、植物体が小さく、世代が短いことなどから、マップベースクローニング法が幅広く適用され、これまで様々な遺伝子が単離・同定されている。最近では、シロイヌナズナの概日時計や開花時期の決定に関与する遺伝子がこの方法によって次々に単離されている^{14,15)}。これらの研究では、1 日の周期的な遺伝子発現のリズムに変化が生じたり、開花が遅延する突然変異体を利用して、マップベースクローニングによりそれらの原因遺伝子を単離・同定している。単離された 2 つの遺伝子は PAS ドメインと呼ばれる特徴的な配列をもつもので、この構造をもつ遺伝子は、たとえばヒトやショウジョウバエでも一日の長

さを計る機能に関わっていることが既に知られている。植物と動物では、全く異なる生理現象に影響を与える概日時計でも、そのリズムをきざむ時計の部分には同じような構造をもつ遺伝子が関与していることがこれらの研究で明らかとなった。

トマトでは収量性に関わる二つの量的形質遺伝子が次々に単離・同定された。トマトの果実の可溶性固形物の含量に関与する量的形質遺伝子座が近縁野生種と栽培種との雑種後代を利用した遺伝解析により見いだされていた。約 7000 個体の分離集団を利用して精度の高い遺伝地図を作成したところ、この遺伝子座の候補領域を 634 bp に限定することができた。この領域はインペルターゼという糖の代謝に関わる酵素遺伝子の一部であり、この酵素遺伝子の違いによって蓄積される可溶性固形物の量に変化が生じることが明らかとなった¹⁶⁾。これまでこの酵素自体の研究は進んでいたが、遺伝子が単離・同定されて初めて、この酵素と可溶性固形物の蓄積とを直接関係づけることができた事例である。一方、果実の大きさに関わる遺伝子もマップベースクローニングにより単離された。この遺伝子はヒトのガン遺伝子と考えられている *c-H-ras* P21 と似た構造をもったものであった¹⁷⁾。野生種の果実は栽培種に比べてかなり小さい。栽培種ではこの遺伝子は機能せず、野生種で発現していることから判断して、この遺伝子は果実の肥大を抑制している作用をもっていると考えられる。果実の肥大とガンのように一見全く異なる形質でも、細胞の肥大・増殖という観点からみると、似た現象であり、このような形質に植物・動物を通じて構造が類似する遺伝子が関与していることが明らかとなった。

冒頭にも述べたが、マップベースクローニングは目標の遺伝子の構造や機能がまったく推定できなくても、表現型の差で認識される遺伝子であれば、すべてに適用できる。したがって前述の例のように、まったく新規な遺伝子の機能を明らかにすることができることから、この手法による遺伝子単離は、特定の

形質に関わる複雑な遺伝的制御機構の解明の糸口を提供してくれる。

おわりに

本稿で紹介したように、マップベースクローニングは未知の遺伝子機能を解明する有効な手法である。この手法を実行するために最も重要な点は、適切な分離集団の確保と遺伝子周辺のDNAマーカーの入手や作出である。詳細な遺伝地図を作成するためのDNAマーカーは、塩基配列情報の充実により容易に作成できるようになった。すでにシロイヌナズナでは全ゲノム塩基配列情報が公開され、手間のかかるゲノムDNAクローンによる整列化作業は省略できる。イネにおいても、遠くない将来全ゲノム塩基配列が利用可能になり、単離に要するプロセスは簡略化されると予想される。その一方、分離集団の作出には依然として長期間を要する。したがって計画的な実験材料の養成がこの手法の有効活用にとって最も重要であることを忘れてはならない。

文献

- 1) 矢野昌裕 (2001), 植物のゲノム研究プロトコル (佐々木卓治・田畑哲史・島本功 監修), イネのマップベースクローニング法, 89-94, 秀潤社, 東京
- 2) 矢野昌裕ら (1998), 化学と生物, 36, 639-645
- 3) 佐々木ら (2000), 育種学研究, 2, 35-41
- 4) Song, W.Y. et al (1995), Science, 270, 1804-1806
- 5) Yoshimura, S. et al (1997), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 1663-1668
- 6) Wang, Z.X. et al (1999), Plant J., 19, 55-64
- 7) Ashikari, M. et al (1999), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 10284-10289
- 8) Hirano, H.-Y. et al (1999), Gamma Field Symp. 38: (印刷中)
- 9) Yano, M. et al (2000), Plant Cell, 12, 2973-2984
- 10) 高橋裕治ら (2000), 第23回日本分子生物学会年会要旨集, p360
- 11) 小島晶子ら (2000), 第23回日本分子生物学会年会要旨集, p360
- 12) 山内歌子ら (2000), 第23回日本分子生物学会年会要旨集, p578
- 13) Bryan, G.T. et al (2000), Plant Cell, 12, 2033-2045
- 14) Somers, D.E. et al (2000), Cell, 101, 319-329
- 15) Nelson, D.C. et al (2000), Cell, 101, 331-340
- 16) Fridman, E. et al (2000), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97, 4718-4723
- 17) Frary, A. et al (2000), Science, 289, 85-88

◀国内情報▶

遺伝子破壊を利用したイネ遺伝子の機能解析

農林水産省 農業生物資源研究所ゲノム動態研究室
 廣 近 洋 彦

イネの動く遺伝子「レトロトランスポゾン」を利用することによって効率良く多数の遺伝子破壊系統を作出することが可能となり、イネゲノム上の全ての遺伝子を網羅した破壊系統の作出が進められている。また、これらの遺伝子破壊系統を利用した遺伝子機能解析技術の開発により、これまで解析が困難であった遺伝子の機能が解明されつつある。

1. はじめに

イネは、シロイヌナズナと並びモデル植物としてゲノム解析が進められているが、シロイヌナズナとは異なり、世界の人口の約半数が主食として利用している重要な作物であり、イネゲノム解析の成果が直接食糧問題の解決に貢献できるものと期待されている。さらに、イネゲノムは小麦、大麦、トウモロコシ等の主要なイネ科作物ゲノムと同一性があるため、イネゲノムの解析によって得られた結果が容易にこれらの作物に適応できるものと期待されている。シロイヌナズナでは、2000年末にはゲノムの全塩基配列が決定され、次の大きな目標である全遺伝子の機能解明に向けての取り組みが開始されている。イネにおいては、1998年から全塩基配列の解読を目指した国際共同プロジェクトが開始されている¹⁾。このような状況の中、2001年1月末にはスイスのSyngenta社がイネゲノムの全配列を解読したという報道がなされ、今後の機能解析研究の動向が大きく注目されているところである。遺伝子の機能解析法には種々の方法があるが、トランスポゾンやT-DNAのような挿入因子を利用した遺伝子破壊法は、一度に多数の遺伝子破壊系統を作出することができ、各破壊系統の示す表現型を解析することにより系統的に遺伝子機能を調べることができるため、ゲノム時代のニーズ

HIROCHIKA Hirohiko

〒305-8602 つくば市観音台2-1-2

に合った重要な方法となっている。シロイヌナズナでは、すでに数10万の遺伝子破壊系統が作出されている²⁾。イネにおいても同様な観点から、遺伝子破壊系統の作出とそれらを利用した遺伝子解析技術の開発が必要とされている。

2. イネ・レトロトランスポゾンの遺伝子破壊への利用

イネやシロイヌナズナでは遺伝子破壊のための挿入因子としてトウモロコシのトランスポゾンAc/DsやT-DNAが利用されているが、得られた遺伝子破壊植物は組換え体であり、全ての実験を隔離温室の中で行わなければならない。機能解析には多数の遺伝子破壊系統が必要であるが、イネはシロイヌナズナに比較して植物が大きいと、多数の系統を扱うことが困難である。この問題を回避するために、筆者らはイネに内在するトランスポゾン的一种であるレトロトランスポゾンを利用している。レトロトランスポゾンは、Ac/Dsを代表とするDNA型トランスポゾンとは構造および転移機構が異なる。図1に示されるように動物のレトロトランスポゾンと構造が類似しており、転写産物であるRNAが転移中間体として用いられる。レトロトランスポゾンをイネから多数単離し、そのうちTos17は組織培養によって活性化されるというユニークな性質を有することを明らかにした³⁾。また、その後の解析から、Tos17は遺伝子破壊

イネのレトロトランスポゾン *Tos17*

レトロウイルス



図1 イネのレトロトランスポゾン *Tos17* およびレトロウイルス (プロウイルス) の構造
Prot: プロテアーゼ, RT: 逆転写酵素, Int: DNA挿入酵素, Env: エンベロープタンパク

とその後の機能解析に有用な性質を有することを明らかにした⁴⁾。完熟種子由来のカルスを5ヶ月間培養した後、再分化させることにより、これまでに約4万の遺伝子破壊系統を作出した。各系統では、平均10コピーの新たな転移が見られ、このことは、この集団が40万種類の挿入変異を有していることを示している。幾つかの条件付きではあるが、5万系統で全遺伝子を網羅可能という見積りも得られている。このような変異体の集団をミュータントパネルと呼び、ミュータントパネルを利用して効率的に遺伝子の機能を解析するため方法、資源を開発した。以下にこれらの方法と、遺伝子機能解析への利用について紹介する。

3. 遺伝子機能解析への利用

解析法は大きく2つ (遺伝学的方法, 逆遺伝学的方法) に分けられる。破壊系統の表現型を解析し、その原因となる遺伝子を *Tos17* を指標に単離するのが遺伝学的方法である (トランスポゾンタギングとも呼ばれる)。一方、逆遺伝学的方法は、まずは遺伝子配列に注目し、その遺伝子に変異をもつ系統を探してきて、表現型を解析する方法である。

(1) 遺伝学的解析法

遺伝学的解析の最初の段階は、変異体の表現型の観察である。ミュータントパネルを圃場に展開し表現型を観察すると、約30%の系統で種々の変異が観察される。次のステップは連鎖解析である。変異系統では、3から15コピー近い転移 *Tos17* コピーが観察されるた



図2 遺伝子破壊を利用した遺伝子機能解析 (例)
受容体型プロテインキナーゼ遺伝子の破壊系統 (右) では正常イネ (左) に比べて矮性 (短程) となっている。

表1 単離、機能解析された遺伝子

変異体の表現型	破壊遺伝子	解析方法	文献
極矮性 (ジベレリン生合成欠損)	<i>ent-kaurane synthase</i>	遺伝学	a
半矮性 (ブラシノステロイド非感受性)	新規遺伝子	遺伝学	b
穂発芽 (ABA生合成欠損)	<i>zeaxanthin epoxidase</i>	遺伝学	5
黄緑葉、ABA生合成欠損	<i>TatC-like</i>	遺伝学	5
カマイラス	<i>cellulose synthase (OsCesA7)</i>	遺伝学	c
不稔	<i>meiotic asynaptic mutant 1-like</i>	遺伝学	d
半矮性 (節間伸長阻害)	<i>homeobox gene (OSH15)</i>	逆遺伝学	7
半矮性 (節間、穂の伸長阻害)	<i>receptor-like protein kinase</i>	逆遺伝学	e
極矮性 (ジベレリン生合成欠損)	P450	逆遺伝学	e
側根伸長阻害	<i>ring finger protein</i>	逆遺伝学	f
光形態形成異常	<i>phytochrome A</i>	逆遺伝学	8

^aS. Takeda *et al.*, unpublished. ^bM. Yamazaki *et al.*, unpublished. ^cK. Tanaka *et al.*, unpublished. ^dK. Murata *et al.*, unpublished. ^eG. K. Agrawal *et al.*, unpublished. ^fT. Lu *et al.*, unpublished. 5, 7, 8は後記文献。

め、サザン解析により変異形質と連鎖する (変異の原因となっている) *Tos17*の同定が必要である。このような解析から、調べた変異体のうち5~10%で変異と連鎖する *Tos17*のバンドが検出された。変異と連鎖する *Tos17*を目印に、原因遺伝子の単離を行うことができる。これまでに穂発芽変異⁵⁾、矮性変異、半矮性変異、細葉変異、カマイラス変異等のそれぞれの原因遺伝子が単離され、遺伝学的解析法の有効性が実証された (表1)。これらの遺伝子の中には、今後分子育種への利用が期待されるものも含まれている。たとえば、半矮性変異の原因遺伝子は、変異体の解析からブラシノステロイドのシグナル伝達に関与することが示され、遺伝子導入により発現量を制御することにより草丈、草型を制御できることが示されている。これまでに単離された遺伝子は、比較的解析の容易な形質を制御する遺伝子であったが、今後は病害虫抵抗性や、耐冷性、耐塩性等に関与する遺伝子の単離の試みが重要である。

(2) 逆遺伝学的解析法

遺伝子の構造解析や発現解析から、機能的な重要性の推測される遺伝子が多数同定されてきている。以下に述べる、遺伝子の配列情報にもとづき変異体をスクリーニングする2種類のの方法の開発により、これらの遺伝子の機

能解析が可能となった。

遺伝子破壊系統のPCRスクリーニング

すでに多数の遺伝子破壊系統が作出され、種子の状態ですべて保存されている。これらの遺伝子破壊系統から抽出したDNAを鋳型に、*Tos17*に特異的なプライマーと、狙った遺伝子に特異的なプライマーを組み合わせてPCR反応を行わせると、*Tos17*の挿入により目的とする遺伝子の破壊された系統からのみPCR産物が得られるはずである。狙った遺伝子の変異体を得るためには、多数の変異体をスクリーニングすることが必要であるが、変異体DNAをプール化することにより省力化が可能である。これまでに約2万系統からプール化DNAを調製し、1遺伝子あたり160PCR反応でスクリーニングが可能となっている。茎 (稈) 長を制御する遺伝子は、農業上重要で矮性遺伝子としてこれまでに遺伝学的に60種類近く同定されていたが、最近明らかにされたd1遺伝子⁶⁾を除き、遺伝子の構造は未知であった。PCRスクリーニングにより得られた変異体を用いて機能解析を行った結果、ホメオボックス遺伝子⁷⁾や受容体型プロテインキナーゼ遺伝子が穂長や茎 (稈) 長を制御する機能を有することが明らかにされた (図2)。また、光の受容体であるフィトクロームA遺伝子の解析から、イネに固有の機能が明らかにされている⁸⁾。これまでに機能が明

らかとなった遺伝子を表1にまとめた。

逆遺伝学的な方法は、形質の評価が困難なため遺伝学的方法では解析が困難と予想される遺伝子について特に有効な方法になると考えられる。

破壊遺伝子のカタログ化

前述したPCRスクリーニング法は、現時点では少数の狙った遺伝子の破壊システムをスクリーニングする方法としては最も効率的な方法である。しかし、ゲノム研究の最終目標である全遺伝子の機能解明のためには、別のアプローチが必要である。その一つとして破壊遺伝子の網羅的解析がある。*Tos17*は遺伝子領域に挿入しやすい性質を有しているため、IPCR, TAIL-PCR, Suppression PCR等により挿入された*Tos17*の隣接配列を増幅させ、直接配列を決定することによって比較的容易に破壊遺伝子の情報を得ることができる^{3,9)}。このような解析はhigh-throughput化が可能で、将来的には全ての遺伝子を網羅した破壊遺伝子のデータベースをつくることも可能である。これまでに、2,600系統の破壊システムについて解析し、9,600種類の隣接配列を明らかにしている。隣接配列は系統ごとに整理されているので、パソコン上で目的とする遺伝子の破壊システムを検索することができる¹⁰⁾。また、隣接配列の解析を行った系統の表現型の解析も行っており、破壊遺伝子のデータと対応づけることによって効率的な機能解析が可能になるものと期待される。

4. おわりに

イネゲノムの構造解析研究は国際協力のもとにすすめられており、得られた配列情報は直ちにデータベースに登録し、公開することが原則となっている。このため遺伝子配列だけで特許を取得することは不可能であり、遺伝子特許の取得という観点からも遺伝子の機能解析が重要である。すでに、特許化を狙っ

た国際的な機能解析の競争が開始されている。これまでにイネにおいて幾つかの挿入因子を利用した遺伝子機能解析技術の開発が試みられているが、有効性が実証されたのは本稿で紹介したレトロトランスポゾンの系だけである。今後予定されている本格的な機能解析には、技術の確立だけではなく、大規模な変異集団の確保、変異体をスクリーニングするためのDNAプール等研究資源の整備が必須である。すでに述べたように、これらの資源の整備も順調に行われており、今後の成果が期待されるが、モデル植物であるシロイヌナズナで機能解析研究が先行している状況に鑑み、単子葉植物であり、農業上重要な作物であるイネの特性に着目した機能解析研究の推進が重要であろう。

本研究は生研機構基礎研究事業からの研究費によって行った。

文 献

- 1) Sasaki, T. and B. Burr (2000). *Curr. Opin. Plant Biol.*, 3, 138-141.
- 2) 田畑哲之 (1999), 現代化学, 11, 24-28
- 3) Hirochika, H. et al. (1996), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 7783-7788
- 4) Hirochika, H. (2001), *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4, 118-122
- 5) Agrawal, G.K. et al. (2001), *Plant Physiol.* (in press)
- 6) Ashikari, M. et al. (1999), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 10284-10289
- 7) Sato, Y. et al. (1999), *EMBO J.*, 18, 992-1002
- 8) Takano, M. et al. (2001), *Plant Cell* (in press)
- 9) Miyao, A. et al. (1998), *Plant Biotechnology*, 15, 253-256
- 10) <http://pc7080.abr.affrc.go.jp/~miyao/pub/Tos17/>

◀国内情報▶

食害ストレスおよび揮発性情報シグナルで誘導される植物の防衛機構

¹生研機構, ²京都大学 農学研究科地域環境科学専攻
有村源一郎^{1,2}・高林純示²

害虫によって加害された植物では、加害ストレス特異的なシグナル伝達系の活性化に伴い防衛遺伝子群の活性化や揮発性テルペン化合物などの匂い成分の放出が誘導される。防衛遺伝子の活性化は植物体内における食害抵抗因子の生産を誘導し、害虫の生存率を低下させる（直接的防衛効果）。一方、揮発性テルペン化合物などの生産・放出は、害虫の捕食性天敵を呼び寄せることによる間接防衛の役割を担っている。また、この匂いは、周囲の健全植物に対し食害の警告を与えるシグナルとしても機能すると考えられる。

はじめに

植物の害虫に対する防衛戦略についてはナス科、アブラナ科などの植物を中心に近年飛躍的にそのシグナル伝達のメカニズムが理解されつつある。これらの理解は、植物生理学における学術的な意義を持つに留まらず、農薬の使用を減らす持続的農業技術の開発においても重要な意味を持つと考えられる。我々は、主にリマメヤミヤコグサなどのマメ科の植物がナミハダニ (*Tetranychus urticae*; 図1 A) やシロイチモジヨトウ (*Spodoptera exigua*; 図1 B) 幼虫により食害を受けたときの植物の誘導防衛メカニズムについて研究を進めてきた。ナミハダニは体長0.6ミリ以下の非常に小さな害虫であるが、その繁殖力の高さから様々な作物の大害虫として知られている。一方、シロイチモジヨトウも広食性の害虫で、様々な作物を加害する。これらの害虫によって食害を受けた植物は特異的なシグナル伝達経路を活性化させることにより、防衛に関する遺伝子の発現を誘導し、防衛タンパク質 (PRプロテイン; pathogenesis-related protein) の蓄積や揮発性テルペン化合物ならびに不飽和脂肪酸由来の緑の香りなどの放出を行う^{1,2)}。防衛タンパク質の一部は害虫の消化を低下させ、成長を抑制する効

ARIMURA Genichiro, TAKABAYASHI Junji

²〒606-8502 京都市左京区北白川追分町

果がある³⁾。また、食害に応答して放出される揮発性テルペン化合物などの匂いは捕食性の天敵などを誘引し、植物体から害虫を除去する効果を有する³⁾。

本稿は、食害に応答したりマメ葉の誘導防衛における遺伝子の発現ならびに誘導的に生産される匂いの放出とそれに伴う捕食性天敵の誘引について紹介する。さらに、ハダニ加害時に被害葉から誘導的に放出される匂いが周囲の健全植物にも警告を与え、遺伝子の発現を活性化する現象についても紹介する。

防衛遺伝子の活性化

リマメ第一葉がナミハダニ雌成虫またはシロイチモジヨトウ幼虫の加害を受けると塩基性PR遺伝子の発現が誘導された (図2)。塩基性PR遺伝子は植物の傷害応答のシグナル伝達物質であるジャスモン酸 (JA) を処理した葉でも発現が誘導される。よって、JAを介したシグナル伝達系の活性化がPR遺伝子などの防衛遺伝子の発現を誘導すると考えられる。ナミハダニの食害ではさらに酸性PR遺伝子の発現も誘導された (図2)。酸性PR遺伝子は病原菌感染時に重要な役目を果たすシグナル伝達物質であるサリチル酸 (SA) によって発現が誘導される。これらの結果より、ナミハダニの食害応答のシグナル伝達は少なくともJAとSAが関与しているこ

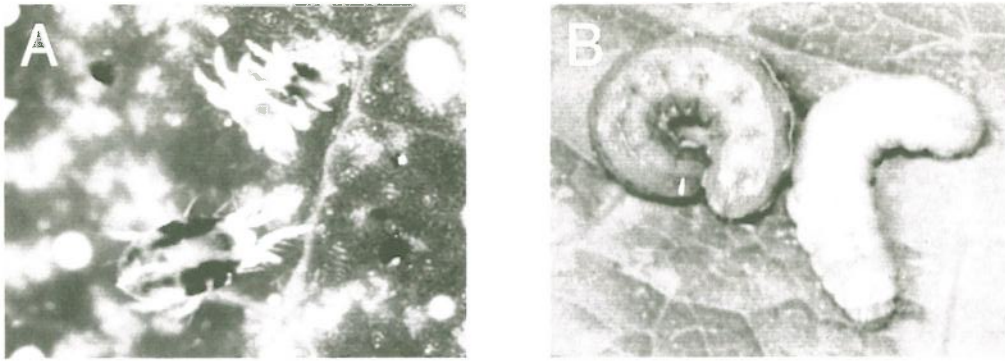


図1 リマママ葉上のナミハダニ (A) およびシロイチモジヨトウ幼虫 (B)

とが示唆された。一方、シロイチモジヨトウ幼虫の食害では、酸性PR遺伝子の発現は誘導されないことから、JAのみがシグナル伝達物質として機能していると考えられる。ナミハダニとシロイチモジヨトウ幼虫による食害はリマママ葉内で異なったストレスとして認識され、シグナル伝達系の活性化に差異が生じる。その結果として誘導される防衛遺伝子の発現が異なってくる、ということが明らかになった。2種の害虫の摂食行動が異なることや、害虫からの唾液分泌物（植物の防衛反応の誘導物質：エリシター）の違いなどによって植物のシグナル伝達に上記の差異が生じたものと考えられる。また筆者らは、ナミハダニ加害によって誘導される防衛遺伝子の発現にはエチレンもシグナル伝達物質として関与することも明らかにしており（投稿準備中）、さらに異なるシグナル伝達物質の同定も試みている。

匂い化合物の放出と捕食性ダニの誘引

リマママ切除葉ではナミハダニ24時間食害ストレスにตอบสนองして3種類の揮発性テルペン化合物およびサリチル酸メチルの誘導的放出が認められた（図3B）。これらの匂いは、葉当たりのハダニ数が100匹の場合、おおよそ加害開始8時間からその放出が認められるようになる²⁾。これらの匂いのブレンドはナミハダニの天敵であるチリカブリダニ（捕食性ダニ；*Phytoseiulus persimilis*）を非常に効率よく誘引することから、この匂いが捕食

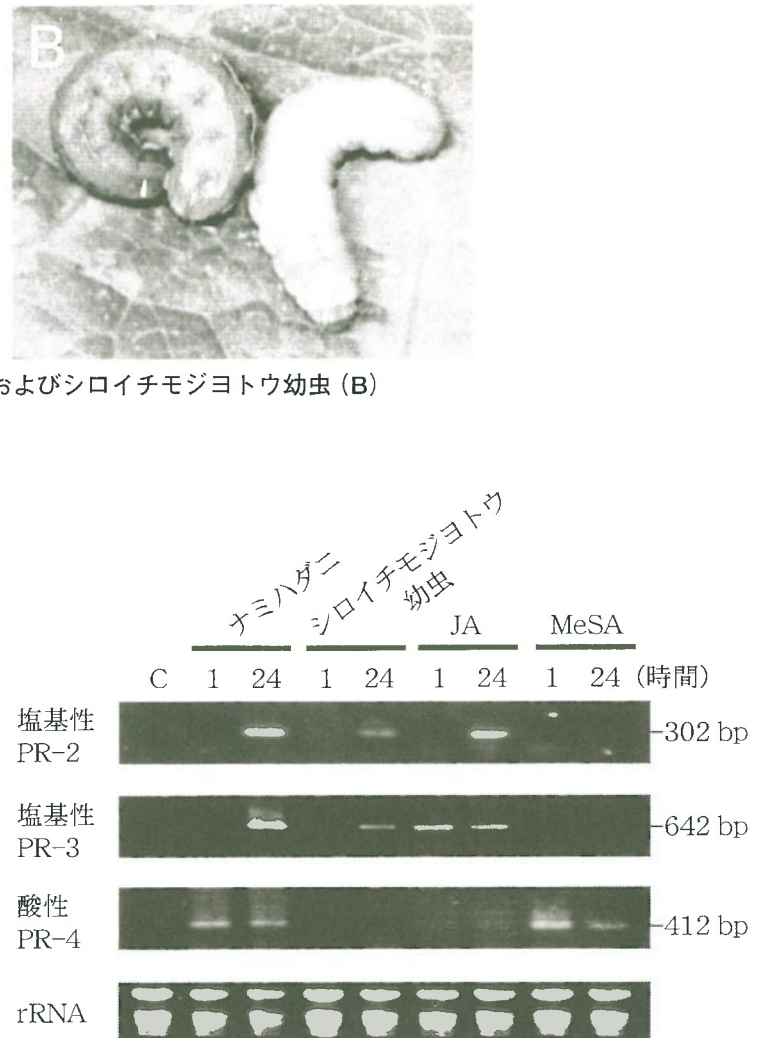


図2 傷害応答シグナル伝達系によって誘導されるPR遺伝子の発現応答

ナミハダニ加害（50匹/葉）、シロイチモジヨトウ幼虫加害（10匹/葉）、1 mMジャスモン酸（JA）溶液処理、サリチル酸メチル飽和空気（MeSA[30 ppb]）処理を施したリマママ葉から全RNAを抽出した。各処理時間（1、24時間）における遺伝子発現パターンをRT-PCR法により解析した。C；未処理（24時間）

性ダニの餌パッチ（ハダニ被害植物）探索指標の一つになっていることが考えられる³⁾。また、シロイチモジヨトウ幼虫がリマママ葉を食害した場合、葉から放出される匂いの成分はハダニ被害の場合とほとんど同じであるが、成分の組成（ブレンド）はナミハダニの場合と異なっていた（図3C）。チリカブリダニはシロイチモジヨトウ幼虫加害で誘導される匂いブレンドよりもナミハダニ加害で誘導される匂いブレンドを好むことより⁴⁾、植物は異なる害虫加害を認識し、放出する匂い成分のブレンド比を調整することにより誘引

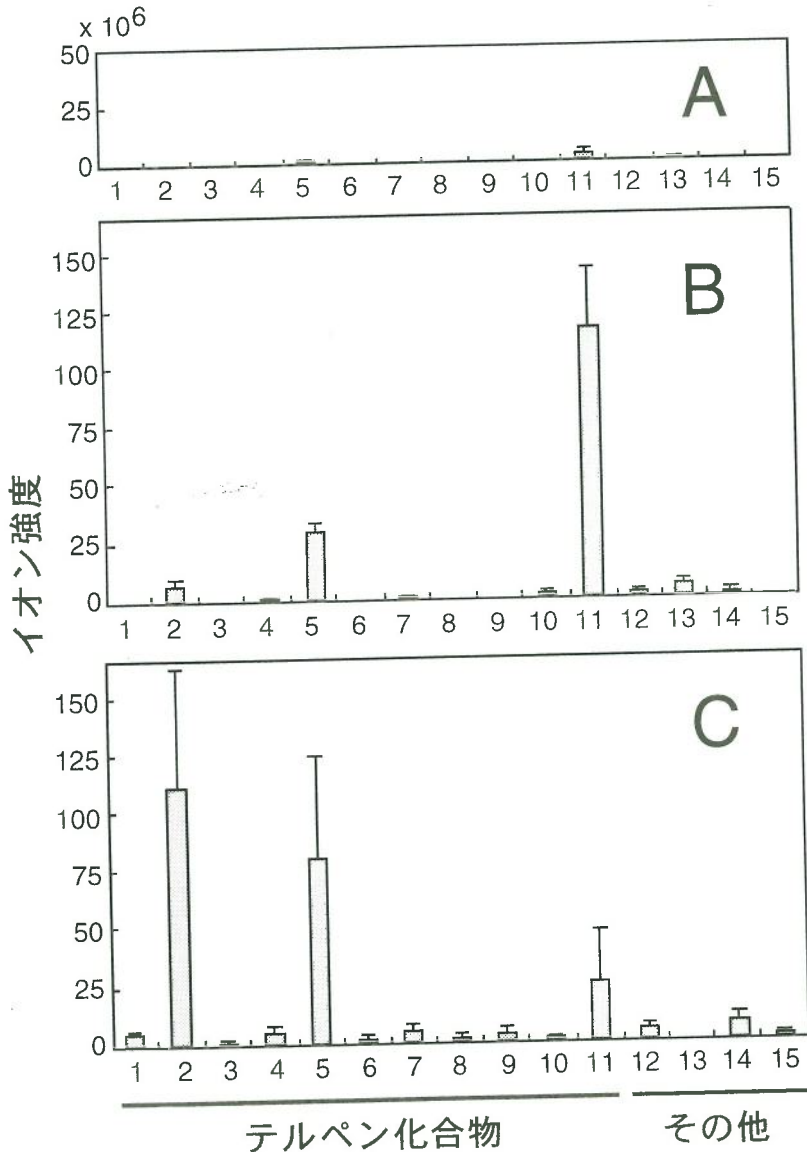


図3 ナミハダニ(B)に1日あるいはシロイチモジヨトウ幼虫(C)に2日食害されたリママメ葉(5枚)および未加害葉(5枚[A])の放出する匂い成分。食害葉をガラス容器に入れ、容器内に放出される匂い成分を固相マイクロ抽出法により1時間捕集し、GC-MSにて分析した。
 1. (Z)- β -ocimene, 2. (E)- β -ocimene, 3. (Z)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene, 4. linalool, 5. (E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene, 6. α -copaene, 7. β -caryophyllene, 8. α -humulene, 9. germacrene d, 10. 4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-tridecatetraene, 11. (E, E)-4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-tridecatetraene, 12. (Z)-3-hexenyl acetate, 13. methyl salicylate, 14. indole, 15. (Z)-jasmone

する害虫の天敵種を選択し得ることが示唆された。さらに、これらの2種の害虫の食害によって共通して誘導される揮発性テルペンである。 β -ocimeneや(E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatrieneなどの揮発性テルペンは化合物単体でもチリカブリダニの誘引活性を持つ事が知られている³⁾。しかしながらそれらを含ん

でいるのにもかかわらずシロイチモジヨトウ加害で放出される匂いのチリカブリダニ誘引活性は低い。このことは天敵誘引活性を決定する要因は各匂い成分単体の誘引性だけでなく、そのブレンド比にあることを示唆している。

テルペン化合物はメバロン酸経路や非メバロン酸経路を介したイソプレン経路により生産される。ナミハダニ加害によってイソプレン経路に属するファーンシルピロリン酸合成酵素(FPS)の遺伝子発現が活性化されることが明らかになっている(図4)。また、薬理的手法を用いた実験結果により、誘導的な匂いの生産は遺伝子レベルで調節されていると考えられる。

ハダニ加害に誘導される植物間コミュニケーション

害虫加害に应答して植物から放出される匂いが周囲の健全な植物に影響を与えるといった報告がこれまで幾つかある。人工的な傷処理やハダニ加害された植物の風下の健全植物は天敵に対する誘引性を高めたり、害虫の加害量を低下させるようになる効果が知られているが、そのメカニズムは明らかにされていない⁴⁾。そこで筆者らは、ハダニ加害に应答して放出される匂いを受容した未被害リママメ葉が遺伝子レベルで应答し得るかを調べた(図4)。ナミハダニ加害を施したりマメ葉と健全な葉をガラスの容器内に置き、健全葉において防衛遺伝子の発現が誘導されるかどうかを調べた。その結果、ハダニ被害葉から放出される匂いを受容した未被害葉で塩基性PR遺伝子ならびにJA生合成遺伝子(リポキシゲナーゼ; LOX)、フェニルプロパノイド系遺伝子(フェニルアラニン・アンモニアリアーゼ; PAL)とFPSの発現が認められた(図4)。人工的傷処理を施した葉から放出される匂い(青葉アルコールなど)を受容した健全葉では塩基性PR-2が低レベルで発現したものの、その他の遺伝子の発現は誘導されなかった。また、未被害葉の匂いを受

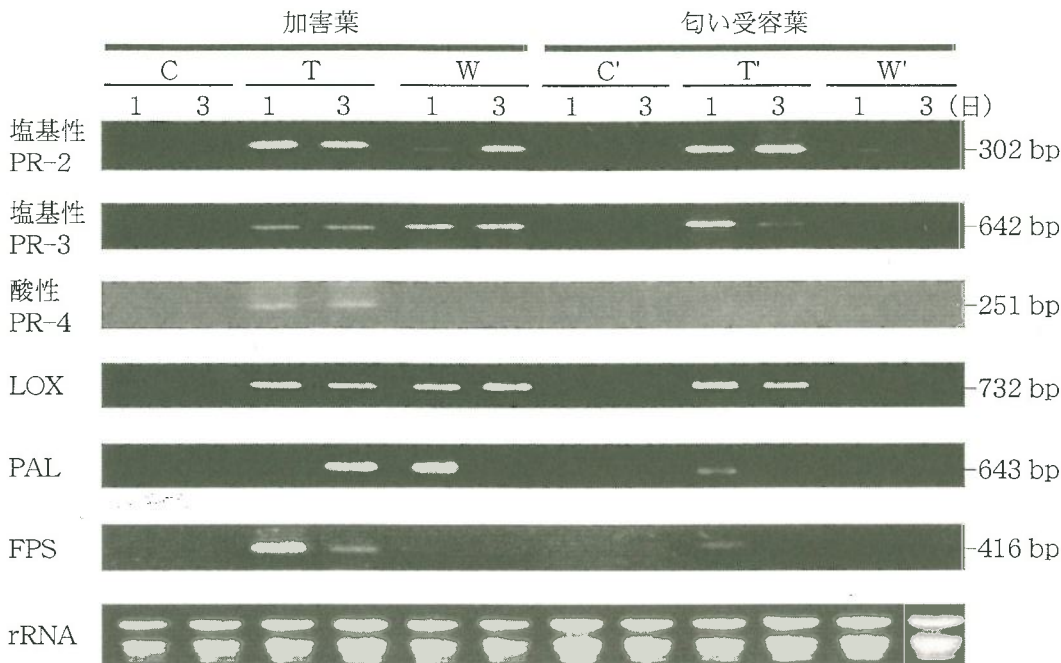


図4 傷害および匂いに応答したリマメ健全葉の防御系遺伝子の発現応答

健全葉と同時に未加害葉 (C) 又はナミハダニ加害葉 (T; 100匹/葉) 又は傷処理葉 (W; 35パンチ傷 [直径5mm]/葉) をそれぞれガラス容器 (2L) 内に置き、一定時間 (1日又は3日) 経過後、RT-PCR法により遺伝子の発現解析を行った。C'; 未加害葉から放出される匂いの受容, T'; ナミハダニ加害葉から放出される匂いの受容, W'; 人工傷処理葉から放出される匂いの受容

容した健全葉では全くこれら5種類の遺伝子の発現が誘導されることはなかった (図4)。

筆者らは人工的傷処理を施したリマメ葉や未被害葉から放出される匂い成分を解析したが、ハダニ加害葉から特異的に放出されるテルペン化合物はほとんど検出されなかった²⁾。さらに、健全葉をテルペン化合物の揮発した大気に曝した実験から、 β -ocimene, (*E*)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene, (*E,E*)-4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-tridecatetraeneがリマメの防御遺伝子を活性化することが明らかになった。つまり、ハダニ加害葉から放出されるテルペン化合物が、健全葉の防御遺伝子を活性化したと考えられる。これは植物間の揮発性情報シグナルを介したコミュニケーションと位置づけることができる。また、切除葉だけでなく、リマメ実生を用いた実験でも植物間コミュニケーションが確認されたことから、この植物間コミュニケーションは野外においても成立しているものと考えられる⁹⁾。

植物間コミュニケーションのシグナル伝達の解明

筆者らは、ナミハダニ加害で誘導される匂いの受容メカニズムとシグナル伝達系の解明を薬理的手法を用いて解析した²⁾。その結果、少なくとも匂い受容葉での遺伝子発現にはJAとエチレンが鍵となっていることが明らかになった。また、カルシウムの細胞内への流入やタンパク質のリン酸化・脱リン酸化なども匂い受容葉の遺伝子発現には必須であると考えられた。これらのシグナル伝達は植物の傷ストレスに対する応答メカニズムに類似していることから、植物は匂いを受容することによりあたかも自身が障害ストレスを受けたように認識し、防御遺伝子を活性化させて、ハダニの食害に対して予め防衛手段を講ずることが出来ると考えられる。

おわりに

植物の食害ストレス応答においては、JA,

SA, エチレンやその他のシグナル伝達物質を介したシグナル伝達系が複雑に相互作用し, その作用は単に防御遺伝子の発現のみに留まらず, 防御には直接関与しないと考えられる様々な代謝にも影響をもたらすことが, 我々の最新の結果より示唆されている⁸⁾。今後更に, 経時的かつ網羅的な遺伝子発現の解析とそれを制御するシグナル伝達物質の同定を進め, 食害応答メカニズムの全貌を明らかにしていきたいと考えている。

文 献

1) Ozawa, R. et al (2000), *Plant Cell Physiol.* 41, 391-398
 2) Arimura, G. et al (2000), *Nature*, 406, 512-515
 3) Karban, R. and Baldwin, I.T. (1997), *Induced Responses to Herbivory*. The University of Chicago Press, Chicago
 4) Shimoda, T. and Dicke, M. (2000), *Behav. Ecol.*, 11, 606-616
 5) Dicke, M. et al (1990), *J. Chem. Ecol.* 16, 381-396
 6) Dicke, M. et al (1990), *J. Chem. Ecol.* 16, 3091-3118
 7) Karban, R. et al (2000), *Oecologia*, 125, 66-71
 8) Arimura, G. et al (2000), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 277, 305-310
 9) Arimura, G. et al (2001), *Biochem. Syst. Ecol.*, (in press)



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内
第 83 号

2001 (平成13) 年 1 月15日発行

巻頭言

21世紀の門出堤 英隆

総 説

生鮮野菜・果物の微生物学的安全性確保に

関する最近の研究動向一色賢司

国内情報

食品に応用できる可能性を持つ

新規殺菌技術について五十部誠一郎

絹の繊維化前の構造と巧みな繊維化の

メカニズム朝倉哲郎

体細胞クローン豚の作出大西 彰

分解菌集積木質炭化素材を用いた難分解性

有機化合物のバイオレメディエーション高木和広

地域先端研究

ジャガイモほ場におけるウイルス病の簡易・

迅速診断法の実用化三澤和史

文献情報

ヒアルロン酸のアポトーシス抑制効果

.....(抄訳：横尾正樹)

菌体内にトレハロースを蓄積することで酵母は

エンドサイトシスのエタノール耐性を獲得する

.....(抄訳：楠田大輔)

高温ストレスで光化学系Ⅱが損傷する

メカニズムが明らかに(抄訳：岩井純夫)

エンドウマメの複葉の構造は, 遺伝子群

UNIFOLIATA, *COCHKEATA*, *AFILA*,

*TENDRIL-LESS*の相互関与によって制御される

.....(抄訳：木苗貴秀)

ニジマス鰓上皮細胞が産生する水酸化脂質

による抗炎症作用(抄訳：玉井忠和)

海外便り

カスパーゼの調節を介した食品成分の

新たな機能性—ハーバート大学医学部

における一年半—小堀真珠子

◀国内情報▶

味覚センサーを用いた食品の味の識別と定量化

九州大学大学院 システム情報科学研究院電子デバイス工学専攻
都 甲 潔

味覚センサーは細胞膜の構成成分である脂質を受容膜としたバイオミメティックセンサーである。複数の受容膜の電圧出力からなる応答パターンから味が識別・数値化される。5基本味物質、アミノ酸、食品、医薬品の味の定量化が行えるのみならず、苦味の抑制といった味覚相互作用も再現できる。

1. はじめに

センサーは五感を再現、そしてそれを越えることを目的としており、人のもつ主観的かつあいまいな感覚を定量化することを目指すものである。

一般に化学物質を拾うセンサーは化学センサーであろう。その中でも代表的な化学センサーは酵素を高分子の膜に吸着させた酵素センサーである。このことからわかるように、光や圧力といった特定の量を選択的に検出する物理センサーと同様に、化学センサーも物質選択性が重要視され、開発が進められていた。つまり、グルコースや尿素といった特定の化学物質に対する特異的応答を最優先事項とみなしてきたわけである。

しかし、この種の選択性の高いセンサーで味覚をセンシングするには、全ての味物質に対応したセンサーを用意しなければならないため現実的ではない。しかも、これらの化学物質を仮に全て検出したからといって、味覚や嗅覚が再現できるわけではない。味覚センサーは、人が感じる味を出力すると同時にその感度・耐久性ともに人の舌を超えている¹⁾⁴⁾。

2. 味覚センサーの基本味応答

味覚センサーは脂質/高分子ブレンド膜を味物質を受容する部分とし、複数の脂質膜か

TOKO Kiyoshi
〒812-8581 福岡市東区箱崎6-10-1

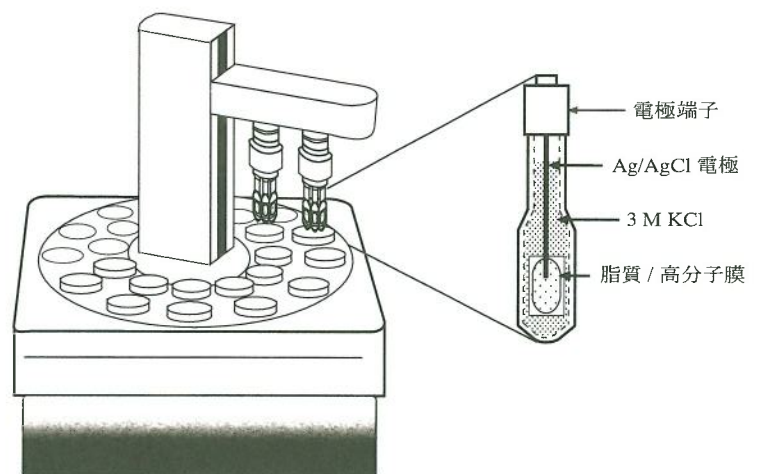


図1 味覚センサー (SA402, アンリツ(株)製)

らなる電位出力の応答パターンから味を識別する。脂質/高分子ブレンド膜は、脂質をポリ塩化ビニルとブレンドするだけで作ることができる。

図1に示すように、脂質膜電極は塩化ビニルの中空棒にKCl溶液と銀線を入れ、その断面に脂質/高分子膜を貼りつけたものである。特性の異なる脂質/高分子膜を8つ準備し、脂質膜電極と基準となる参照電極との間の電位差を計測し、これら複数の出力電圧により構成されるパターンから味を識別・認識する。なお、これらの膜のことを以下「チャンネル」と呼ぶことにする。脂質の選択には任意性があるが、まずは生体膜の脂質の官能基を網羅する形で選ばれた。もちろん測定対象と目的に応じて適宜選択し直すべきである。

5つの味のうち、うま味に対する応答パタ

ーンを図2に示す。誤差は1%を切っている
ので、各味の識別が明瞭にできる。注目すべ
きは、5つの味に対しては異なる応答パター
ンを示すのに対し、似た味では似たパターン
を示すことである。例えば、うま味を呈する
グルタミン酸ナトリウム (MSG), イノシン
酸ナトリウム (IMP), グアニル酸ナトリウム
(GMP) では似たパターンを示し、酸味
を呈する塩酸, 酢酸, クエン酸でも同様に似
たパターンを出す。この事実は、味覚センサ
ーが「個々の味物質ではなく味そのものに応
答」していることを意味する。

3. アミノ酸

味覚センサーはアミノ酸に特によく応答
し、食品中のアミノ酸を検出できるのみなら
ず、各アミノ酸を酸味や苦味といった味質に
応じて分類することが可能である。アミノ酸
の測定データに主成分分析を施した。主成分

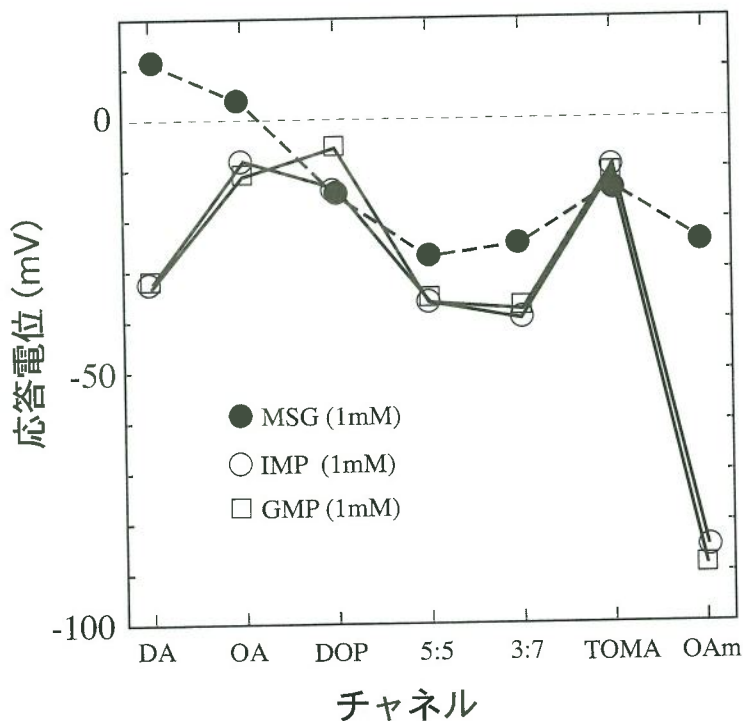


図2 味覚センサーのうま味物質に対する応答。DA, OA, DOP, TOMA, OAmはそれぞれデシルアルコール, オレイン酸, ジオクチルホスフェート, トリオクチルメチルアンモニウムクロライド, オレインアミンなる脂質。5:5, 3:7はDOPとTOMAをそのモル比で混合した膜。

分析とは多次元空間で表されたデータを、できるだけ情報を失うことなく、少数次元のデータとして表す方法である。その結果、甘味を呈するアミノ酸, 甘味と苦味を同時に呈するアミノ酸そして苦味のアミノ酸が、2次元平面上でシステマティックに区別された。

図3にトリプトファン⁵⁾の3つの異なる濃度について規格化パターンを示す⁶⁾。濃度に関係なくほぼ同一のパターンであることがわかる。また比較のためにHCl (酸味), MSG (うま味) そしてキニーネ (苦味) の規格化パターンを示す。ここでも濃度に関係なく各味質が特徴的パターンを持つことがわかる。ところで、これら4つのパターンを眺めると興味あることに気づく。それはトリプトファンのパターンがキニーネのパターンに極めて似通っていることである。

実際トリプトファンとこれらの味物質のパターン間の相関をとると、キニーネ, MSG, NaCl, HCl, ショ糖の順に0.903, 0.577, 0.276, 0.792, 0.515となり、トリプトファンは確かにキニーネと高い相関を持つ。つまり、苦味を呈するトリプトファンは確かにキニーネなどの苦味物質に特有のパターンをしており、味覚センサーがアミノ酸の味を拾っていることがわかる。

4. 医薬品の苦味

味覚の世界では苦味を甘味物質が抑制するという抑制効果や、MSGとIMPではうま味を強め合う相乗効果等が知られている。医薬品業界では苦味をいかに軽減させるかは重大な課題であり、幾つかの方法が試みられている。最も一般的な方法は甘味物質を混入させることであり、小児用シロップがそうである。そこで、味覚センサーを用いて苦味抑制効果を調べた⁶⁾。

キニーネ濃度を増すにつれてセンサーのチャンネル1~5では応答電位が増加し、チャンネル6と7では逆に減少する。この結果に主成分分析を施し、官能検査で知られているキニーネ濃度と苦味強度の関係式を適用すること

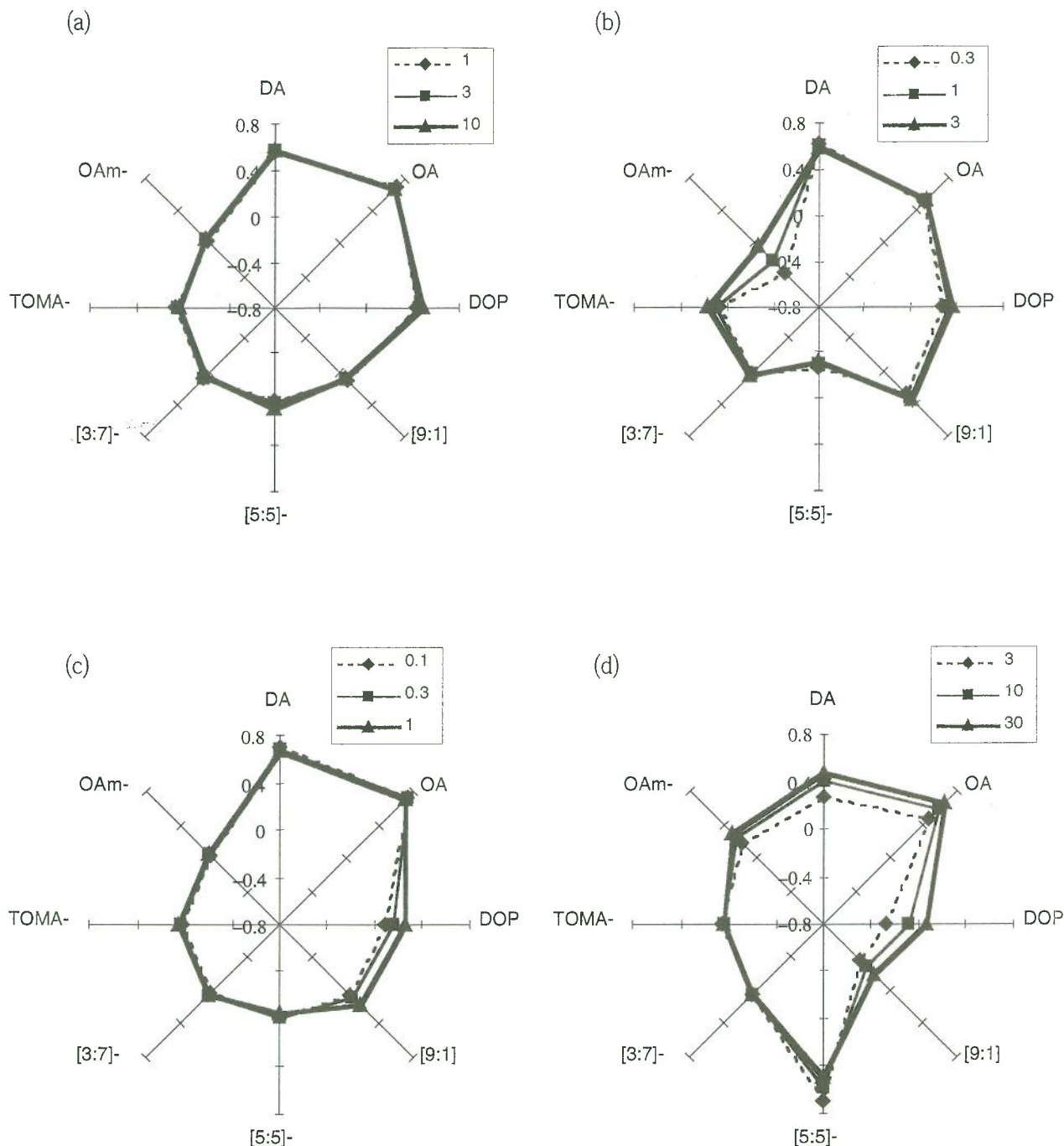


図3 トリプトファン(a), HCl(b), キニーネ(c), MSG(d) に対する規格化応答パターン。パターンで囲まれる面積(二乗の和)が1になるように規格化した。なお、OAm, TOMA, 3:7, 5:5の各膜では応答電位の符号を逆にしている。図中の枠内の3つの数字は濃度(mM)。

で、味覚センサーの出力から人の感じる苦味を定量化できる。

さて甘味物質による苦味の抑制効果であるが、シヨ糖をキニーネ溶液に入れると興味ある応答パターンが得られる。シヨ糖濃度増加とともにチャンネル1~3では応答電位は減

少、チャンネル6と7では増加するのである。これは前述のキニーネ濃度増加の際の振り舞い(つまり、チャンネル1~5では増加、チャンネル6と7では減少)と逆である。しかもキニーネに対する応答パターンの形はほぼ保持される。この事実はシヨ糖の添加により等価

的にキニーネ濃度が減少したこと、つまり苦味が減少したことを意味する。このように味覚センサーは苦味抑制効果を検出し、さらに苦味を数値化することができる。

本方法を実際の市販の医薬品に適用したところ、医薬品の生じる苦味のショ糖による抑制効果を定量化することもできた。

またリン脂質を主成分とする苦味マスキング剤が発売されているが、実際味覚センサーを用いてキニーネなどの苦味が抑制されることを確認することができた⁷⁾。

5. 食品への応用

味覚センサーはこれまでビール、日本酒、コーヒー、ミネラルウォーター、牛乳、味噌、醤油、だしやスープ等に適用され、それらの味の識別と定量化に成功している¹⁻⁴⁾。食品メーカーにおける最も多い利用法は、自社製、他社製含めて食品を計測し、出力データに主成分分析を施し、テイストマップ(味の地図)を得る。その結果を眺め、テイストマップ上の望む位置へ持って来るべく味の改良を行い、マーケティング戦略を立てるとというのが一つ。次は、こくや甘味、苦味といった官能量を味覚センサーで数値化し、1年以上にもわたるデータベースを構築し、常に安定した食品作りに役立terるといふものである。

また味覚センサーを改良した単一センサー型のアルコールセンサーの開発も試みられており⁸⁾、日本酒の醸造管理や品質管理で期待されている。酸度にも安定に応答することから、アルコール、酸度、そして5基本味を測るハイブリッドセンサーの開発も検討中である。

さらに、水質モニタリングセンサーとしても有望であり、微生物や魚を用いたバイオアッセイ法よりも高感度であることが示されている⁹⁾。

6. 展 望

味覚センサーは味を定量的に測り、味を認

識する世界初の装置であり、今後食品の製造ラインに組み込まれるなど、広範な応用が考えられる。またこのセンサーは、測るべきものは個々の化学物質ではなく味そのものでなければならないということを現実に示すことに成功したセンサーである。

また5基本味の受容メカニズムについても、苦味のレセプターがタンパク質であるか、脂質であるか、異論があるところであるが、味覚センサーはその解明にも貢献できるであろう。

味覚センサーはすでに多くの食品や医薬品関連の会社や試験場で使われ始めている。今後これらの成果をもとにして世界の誰でもが容易に使うことができる高機能味覚センサーを開発していく予定である。また味の相互作用や味の受容メカニズムの解明に向けて、味覚センサーを用いることも可能となるであろう。

参考文献

- 1) 都甲潔 編著 (1993), 味覚センサ, 朝倉書店, 東京
- 2) 都甲潔, 宮城幸一郎 (1995), センサ工学, 158-184, 培風館, 東京
- 3) 都甲潔 編者 (1999), 食と感性, 光琳, 東京
- 4) Toko, K. (2000), Biomimetic Sensor Technology, Cambridge University Press, Cambridge
- 5) Toko, K. and Nagamori, T. (1999), 電気学会論文誌, 119-E, 528-531
- 6) Takagi, S. et al (1998), *J. Pharm. Sci.*, 87, 552-555
- 7) Takagi, S. and Toko, K. (1999), *Dig. Tech. Papers Transducers '99*, 1638-1641
- 8) Tsukatani, T. and Toko, K. (1999), *Food Sci. Technol. Res.*, 5, 43-47
- 9) Taniguchi, A. et al (1999), *Sens. Materials*, 11, 437-446

◀国内情報▶

体細胞クローン技術を応用した、 遺伝子組換えヤギの作出に向けて

農林水産省 畜産試験場繁殖部発生分化研究室
大越 勝広・徳永 智之

著者らは、体細胞クローン技術を応用した遺伝子組換え家畜作出技術の確立を目的に研究を行っており、2000年11月にシバヤギ下垂体前葉細胞由来の体細胞クローンヤギを誕生させることができた。さらに、組換え下垂体前葉細胞をドナー細胞として作出した核移植胚の受胎例も得られており、今後、例数を重ねることにより、実際に形質転換ヤギが作出されるものと考えられる。

1. はじめに

1997年、核移植によりヒツジ成体由来体細胞(乳腺細胞)由来の産子が得られ¹⁾、続けてヒト遺伝子を導入したヒツジ胎子線維芽細胞由来の遺伝子組換えヒツジが作出された²⁾。ウシにおいても β -ガラクトシダーゼ・ネオマイシン耐性遺伝子導入胎子期線維芽細胞の核移植後により遺伝子組換え産子が得られている³⁾。このように近年、遺伝子組換え家畜を作出する方法として従来行われてきた前核へのDNA注入法に代わる、体細胞核移植を応用した方法が開発されつつある。

2. 体細胞クローン技術による遺伝子組換え家畜の作出

遺伝子組換え家畜を作出するため体細胞クローン技術を応用する利点は、1) 薬剤耐性マーカー遺伝子あるいは蛍光レポーター遺伝子などを付加することにより、遺伝子組換え細胞を培養系で選別可能である、2) 選別した組換え細胞を用いて核移植を実施することにより、得られる産子の細胞核が全て導入遺伝子を持つこと、3) 例えば乳中・血液中などへの有用生理活性物質生産を期待するならば、実際に生体内でタンパク物質生産に与かる細胞へ遺伝子を導入した後、培養系で目的物質の分泌機能を確認したうえで核移植すれば、OHKOSHI Katsuhiko, TOKUNAGA Tomoyuki
〒305-0901 茨城県稲敷郡茎崎町池の台2

ば、得られた核移植個体においても、導入遺伝子が機能的である可能性が高いと考えられることがあげられる。また、4) これらの点から、従来の前核マイクロインジェクション法に比べて受胎雌を大きく削減することができる。さらに、5) マウスES細胞で行われてきたジーンターゲット技術を体細胞に应用することにより、人為的に特定遺伝子を除いたり、任意の位置に遺伝子を導入することが可能となる点などがあげられる。

著者らは、遺伝子レベルで家畜の内分泌機能を操作し、成長や繁殖等の生体機能を制御する技術の開発を目的の一つとして、遺伝子組換え家畜の作出に取り組んでいる。そのために、生体内分泌機能の中核を担う下垂体前葉細胞に注目し、これに遺伝子操作を加え、核移植により個体を再構築する実験系を確立した。具体的なモデル実験系として、成長ホルモンの分泌を抑制した動物は、成長が阻害され小型化することがラットを用いた研究で明らかにされていることから⁴⁾、下垂体前葉細胞で産生される成長ホルモンのmRNAを特異的に切断するハンマーヘッド型リボザイムを発現させることにより、成長ホルモン分泌が抑制されたシバヤギの作出を試みている。

3. ドナー細胞の調製と遺伝子組換え

ドナー細胞として用いた下垂体前葉細胞は、成体雄シバヤギより以下のようにして採取した。すなわち、屠殺後、回収した下垂体

を洗浄した後、氷上に静置した。ついで、下垂体から前葉部分を分離・細切後さらに洗浄した。洗浄後、0.4%コラーゲナー溶液で37℃、45分間培養した。これを遠沈洗浄した後、0.25%パンクレアチン溶液を加え37℃、10分間培養した。培養後、mDMEMで3回遠沈洗浄(1200rpm, 5分)した。細胞は10cmシャーレに播種し、空气中5%CO₂、37℃条件下で培養し、1回継代した後、凍結保存した。このようにして得られた下垂体前葉細胞は、培養上清中に成長ホルモンを分泌することがELISA法によって確認されている。

また、成長ホルモンのmRNAを特異的に分解するように設計したハンマーヘッド型リボザイム遺伝子と選択マーカーとしてピューロマイシン耐性遺伝子及びGFP遺伝子を連結した遺伝子断片を、エレクトロポレーション法により下垂体前葉細胞に導入した。ピューロマイシン添加培地により選択培養した後、分離した単一化遺伝子導入細胞の成長ホルモン分泌能をELISA法により測定した。成長ホルモン分泌能の低下が認められた組換え細胞株を選び出し、これをドナー細胞として核移植を行った。

4. 下垂体前葉細胞の核移植と核移植胚の受胎雌への移植

核移植に用いるレシピエント卵子の成熟及び核移植卵子作出は、基本的に体外培養系により行った。すなわち、屠体より採取した卵

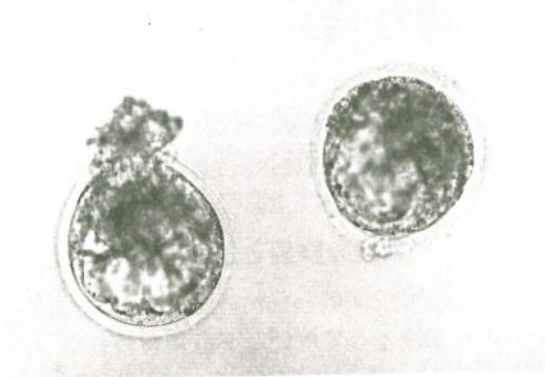


図1 移植したヤギ下垂体前葉細胞核移植由来胚盤胞



図2 クローン産子と受胎雌

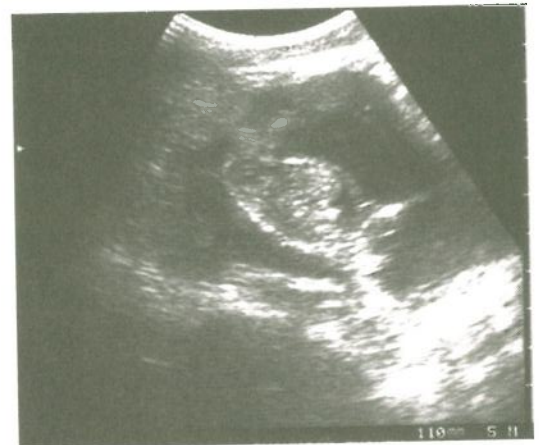


図3 組み換え下垂体前葉細胞核移植由来胎子の妊娠70日目の超音波診断画像

巢の小卵胞から吸引採取した卵胞卵子を、体外成熟培養後、第1極体放出卵子を選別し、第2減数分裂中期染色体を倒立顕微鏡の取り付けたマイクロマンipレータを使用して除去した。ついで、ドナー細胞1個を染色体除去卵子の囲卵腔へ挿入した後、電気刺激を与えて細胞融合を誘起するとともに、化学的活性化処理を施した。融合卵子は体外培養液に移し、胚移植まで培養した。

体外培養によって得られた核移植胚は、培養2日目の4~8細胞期あるいは培養7~8日目の胚盤胞期(図1)に受胎雌卵管あるいは子宮へそれぞれ移植し、産子への発生を検討した。

5. 移植産子の発育と死亡

非組換え細胞の場合、妊娠の確認された受胎雌は、分娩予定日(150日目)に分娩兆候

が認められなかったため、分娩誘起を実施した結果、153日目に自然分娩した。得られた産子(図2)の生時体重は1.25kgであり、当研究室の自然分娩シバヤギ産子の平均体重と相違なかった。核移植産子は順調に発育したが(1週目体重;2.9kg, 2週目;3.65kg)、生後16日目に低体温を示した後、心不全様の症状のため死亡した。剖検の結果、肝臓の形態形成異常、臍静脈退縮不全などの病状が観察された。また、組織検査により、肝・腎・肺・リンパ節・精巣などの器官において髄外造血が認められた。これらの所見の幾つかは、分娩時あるいは生後直死した体細胞クローンウシにおいて見られるものに類似していた。一方、組換え細胞核移植由来の胚盤胞を子宮へ移植した場合においても、受胎が確認された(図3)。その後、妊娠満期(154日目)で帝王切開を実施した結果、胎子が摘出されたが、すでに死亡しておりミイラ化していた。

6. おわりに

ヤギ下垂体前葉細胞由来の核移植産子が得

られたことにより、少なくとも、これが遺伝子組換えヤギの作出に利用し得ることが明らかとなった。また、実際に遺伝子組換えにより、成長ホルモン分泌能の低下が確認された下垂体前葉細胞をドナー細胞として用いた場合においても満期妊娠例が得られてきているため、今後さらに例数をかさねることで、遺伝子組換えヤギが得られるものと考えられる。これらの研究は、文部科学省の開放的融合研究推進制度による「個体発生のゲノム機能と分子機構の解明」により継続中である。

参考文献

- 1) Cibelli, J.B. et al. (1998), Science, 280, 1256-1258.
- 2) Matsumoto, K. et al. (1993), Mol. Reprod. Dev., 36, 53-58.
- 3) Schnieke, A.E. et al. (1997), Science, 278, 2130-2133.
- 4) Wilmut, I. et al. (1997), Nature, 385, 810-813.



ブレイン テクノニュースの バックナンバーご案内 第 82 号

2000(平成12)年11月15日発行

総説

花粉特異的プロモーターの単離とそれを利用した
雄性不稔植物の開発 ……光田展隆・佐藤雅彦

国内情報

高温高圧水処理による廃棄物の資源化技術
……………佐藤伸明・大門裕之・藤江幸一

アンチセンス遺伝子を用いた酒造用

低グルテンイネの育種 ……丸田嘉幸・井上 剛
カイコの3眠化剤利用による

細くしなやかな絹の生産 ……木内 信
緊プロ型ロックウール脱臭装置の

開発と実用化……………道宗直昭
地域の先端研究

イネ葉より分離した葉面菌による

イネいもち病の防除 ……河又 仁

天然由来の保存性向上物質によるカンキツ果実
腐敗防止への新しい取り組み ……三好孝典
文献情報

成体体細胞の核移植により得られた
クローンブタ ……(抄訳:木村直子)

酵母の代謝工学 ……(抄訳:家藤治幸)

摂食によって誘導される揮発性物質は
リマメ葉の防御遺伝子を活性化する
……………(抄訳:鈴木章弘)

魚類養殖における給餌管理システムへの
摂食音の利用 ……(抄訳:椎名康彦)

海外便り

ペプチドの二次構造構築と応用の試み

—ワシントン大学での一年半—

……………野方洋一

◀国内情報▶

DNA分析による放流ヒラメの出身地の特定

水産庁 日本海区水産研究所海区水産業研究部沿岸資源研究室

藤 井 徹 生

どこで放流したヒラメがいつ、どこで、どれくらい漁獲されているかを明らかにするために、ミトコンドリアDNAの塩基配列の変異を標識として放流ヒラメを追跡する手法を開発した。この手法は従来の標識とは異なり、魚の成長に伴う標識の脱落、見落としの心配がなく、また、鱗1枚からの分析が可能であるという利点もある。現在、日本海沿岸全域を対象に放流ヒラメ追跡調査が進行中である。

1. はじめに

童謡に「タイやヒラメの舞い踊り」とあるように、ヒラメは古くから日本人にとってマダイとともになじみの深い魚であった。我が国におけるヒラメの漁獲量、養殖生産量はどちらも年間7,000~8,000tであるが、やはり天然ヒラメの方が人気があり、市場でも高値で取り引きされる傾向がある。そのため、天然ヒラメを増やすことが重要な課題となっている。魚を増やすために人工孵化した稚魚を放流することはサケでは100年以上も前から行われてきたが、ヒラメでは1980年代から盛んに行われるようになり、近年は全国36道府県で毎年2,500万尾前後の稚魚が放流されている。ところで、ヒラメは見かけによらず広範囲を回遊することが知られており、標識をつけて放流したヒラメがときには数百kmも離れた海域で漁獲されたこともある。一般的に、漁獲対象になる1歳の秋くらいから移動する個体が増えるといわれているが、サケのように生まれた海域へ帰って来るかは不明である。ヒラメの放流が盛んになるにつれてその経済効果の評価が求められているが、放流事業は都道府県単位で行われているのに対してヒラメは都道府県境を越えて広範囲を回遊するために精度の高い追跡調査は困難であり、経済効果の算出や受益者の特定の障害になっ

Fujii Tetsuo

〒951-8121 新潟市水道町1-5939-22

てきた。この問題を解決するための最も有効な手法は、すべての稚魚にいつ、どこで放流したものかわかるような標識をつけて放流し、その追跡調査を行うことであるが、標識の脱落、稚魚への負担、装着の手間、コスト等の問題があり、新しい標識の開発が望まれていた。そこで、DNA分析によるヒラメの個体識別法、微量組織からのDNA抽出法、DNAの簡易分析法等の開発および改良を行った結果、ミトコンドリアDNA (mtDNA) の塩基配列の変異を標識にして放流ヒラメの出身地を明らかにすることが可能になった。

2. ミトコンドリアDNA (mtDNA) の特徴

ミトコンドリアは細胞質内の小器官で、酸素呼吸によりエネルギーを取り出す役割を担っている。もともとは別の生物であったものが細胞質内に共生するようになったと考えられており、その証拠のひとつとして核とは別に独自のDNAを持つことがあげられる。ミトコンドリアのDNA (図1) には以下のような特徴がある。

- ①脊椎動物では約16,500個の塩基から成り、サイズは核DNAよりもはるかに小さい。
- ②核DNAよりも5~10倍も変異が起りやすい。なかでも遺伝情報を持たない調節領域 (control region, D-loop regionとも呼ばれる) には多くの変異が蓄積されており、

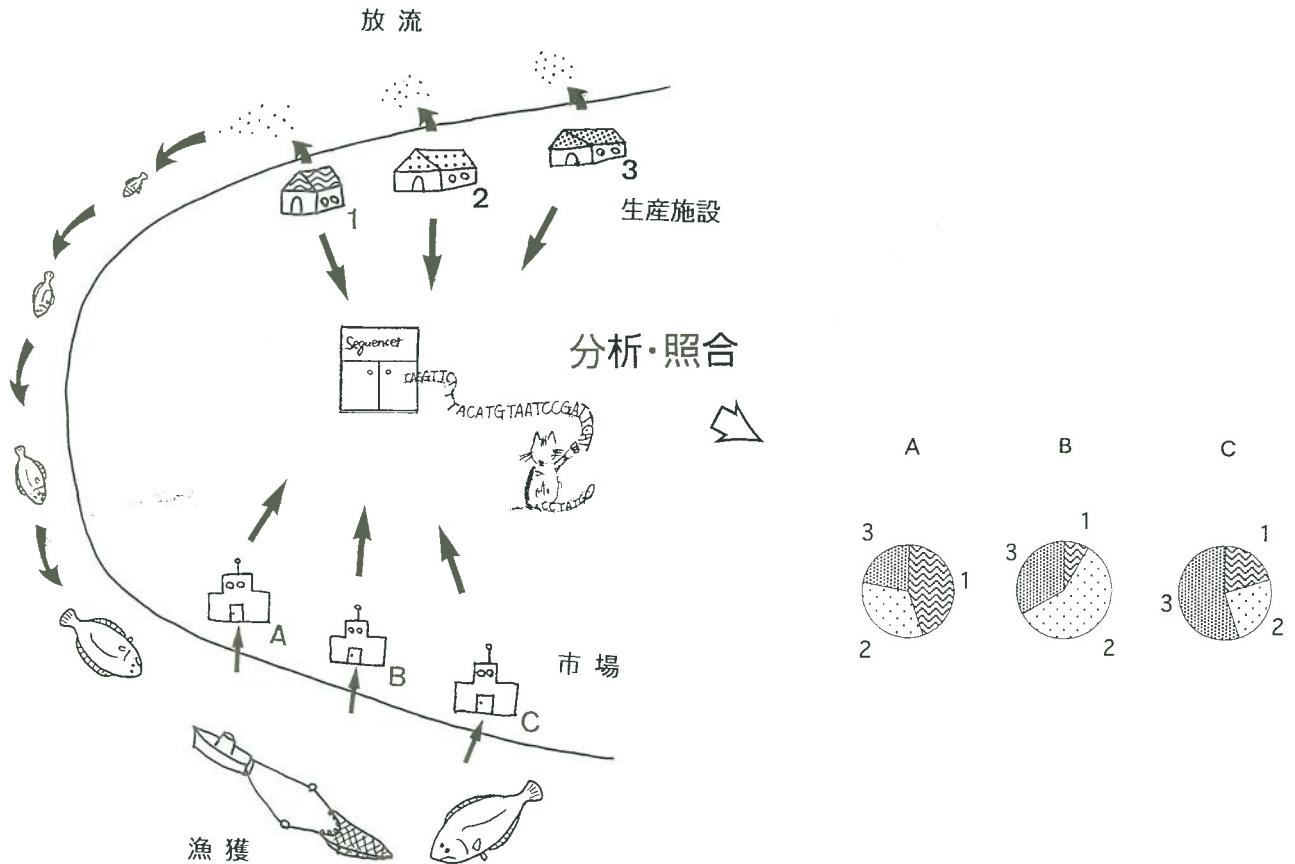


図3 DNA分析により放流ヒラメの出身地を特定する手法の概要

その魚がどこで生産されたものか（場合によってはいつ、どこで放流されたものか）を明らかにすることが可能である。即ち、どの道府県で生産・放流された稚魚が、どこで、どのような割合で漁獲されているかを明らかに

することができる（図3）。先述のように、分析にはごく少量の試料があればよいので高価なヒラメを購入する必要はなく、試料購入費を気にせずにサンプリングができることはこの手法の魅力のひとつである。

表1 1998年に新潟県佐渡島真野湾に放流されたヒラメ稚魚と、その後の調査で採集されたヒラメのmtDNAのタイプの比較。

	個体数	mtDNAのタイプ																													
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	a	b	others	
佐渡産人工稚魚	I	30	1	2	4	7	6	1	2	1	1			2	1	2															
	II	30			2	3	6	9	1	2	1		1	1	1	1	2														
	III	30	2	2	1	1	7	4	2	4				1	3												1	2			
	IV	30	4	4	3		5	1		2				1	4																
本土産人工稚魚		30																			8	5	2	4	2	1	2	3	2	1	
再捕された放流魚		18	1	2	3	2	4	2	3												1										
天然稚魚*		54								1	1	1		1																50	

*無眼側に体色異常のない個体を天然稚魚とした。

5. 新潟県佐渡島での実証試験

1998年に新潟県水産海洋研究所佐渡水産技術センターの協力を得て、佐渡島真野湾において本手法の実証試験を行った。この年、真野湾では佐渡水産技術センターで生産された稚魚のほかに本土側で生産された稚魚の移植放流も行われたが、両者はmtDNA調節領域の塩基配列分析により明瞭に区別できた。放流後の調査で採集された72個体のヒラメのうち18個体が無眼側の体色異常により放流魚と判断された。この18個体のうち17個体のmtDNAのタイプは佐渡産稚魚と一致、残る1個体は本土産稚魚と一致し、すべての稚魚の由来が判明した(表1)。また、無眼側の体色異常がないことから天然稚魚と判断された54個体のうち4個体のmtDNAのタイプが佐渡産稚魚と一致した。当海域ではmtDNAのタイプが偶然一致する確率は1%以下と考えられており、これらのヒラメは体色異常のない人工稚魚であったことが示唆された。また、今回の調査ではひとつの放流群(同時に採卵・生産された稚魚のグループ)あたり30尾ずつの塩基配列を分析したが、20尾の分析結果ですべての放流魚の由来を明らかにすることができた。

6. 将来の展望

日本海区水産研究所では、平成12年度から日本海沿岸12府県の協力を得て、日本海全域を対象にDNA分析によるヒラメ放流魚の追

跡調査を開始した。3年をめぐりに、どこで放流された人工稚魚が、いつ、どこで、どれくらい漁獲されているかを明らかにする予定である。このことにより、今まで断片的にしかわからなかった放流魚の移動の実態が明らかになるとともに、現在は府県単位で行われている放流事業の枠組みをヒラメの移動をふまえたより実用的なものに見直すことが可能になる。

1998年の佐渡島の事例では、本土産稚魚の約10倍の数の佐渡産稚魚が放流されていたため、両者の生き残りを比較するには至らなかったが、将来的には本手法により他海域からの移植放流の有効性の検討や異なる飼育履歴を持つ放流群の生き残りの比較を行うことも可能である。また、体色異常のない放流魚の発見も可能であるが、放流魚の混入率が低ければ低いほど分析の効率は悪くなる。混入率が10%以下になると100尾分析しても放流魚のデータは10尾分も得られないという、いささか悲しい結果になる。近年、人工稚魚を生産する技術の進歩により無眼側に体色異常のある人工稚魚の割合は低下傾向にあるので、分析手法をさらに簡素化、低コスト化することが重要な課題である。

文 献

- 1) Fujii, T. et al (1997), *Fisheries Sci.*, 63, 906-910.
- 2) Fujii, T. et al (1997), *Bull. Natl. Inst. Aquacult.*, Suppl. 3, 73-73.

◀地域の先端研究▶

複合交信攪乱剤を利用した モモ害虫防除と殺虫剤削減

福島県果樹試験場

荒川 昭 弘

複合交信攪乱剤利用の研究開発により、モモ害虫に対する殺虫剤の散布回数削減が可能になった。本方法は環境負荷軽減技術として現地に急速に普及し、広域に実施されることとなった。殺虫剤の散布回数削減は土着の天敵類を保護する副次的作用が予想以上に大きく、今後天敵類を利用した総合防除の可能性が見えてきた。

1. はじめに

果樹の生産現場では、消費者のニーズに対応した安全で高品質な果実の生産技術が求められている。近年はそれに加えて環境負荷軽減技術の開発も強く求められている。これらの要因を解決する技術のひとつに、農薬の散布回数の削減がある。

近年開発された複合交信攪乱剤は、同時に4～6種の主要害虫を防除できることから、殺虫剤の散布回数を削減できる可能性がある。そこで、本剤を利用した殺虫剤削減防除体系による害虫防除の実証に取り組んだ。

この結果をうけて、福島県内の果樹栽培では、リンゴ、モモ、ナシにおいて複合交信攪乱剤を基幹剤とした害虫防除を広域で実施している。特にモモでの利用面積率が高く、1999年には県内の栽培面積約2,000haに対して55%の約1,100ha、2000年には60%の1,300haまで普及、拡大した。すなわち本剤の利用により、これらのほ場のほとんどで殺虫剤の散布回数を削減することが可能となった。

ここでは、モモについての複合交信攪乱剤の防除効果について殺虫剤削減を含めて紹介する。

2. 複合交信攪乱剤の特徴

複合交信攪乱剤は4～6種類もの複数の主
ARAKAWA Akihiro
〒960-0231 福島市飯坂町平野字檀の東1

害虫を一つの製剤で同時に交信攪乱することができるので、本剤を基幹剤として利用することで、殺虫剤を大幅に削減することができる。その結果、天敵に影響の強い殺虫剤を削減することになり、天敵を積極的に利用することも可能となった。

果樹の複合交信攪乱剤で国内登録のあるものは現在のところ、リンゴ用、モモ、ナシ兼用の2種類である。モモ用複合交信攪乱剤は対象害虫がモモハモグリガ、モモシクイガ、ナシヒメシクイ、ハマキムシ類（福島県ではリンゴコカクモンハマキ、リンゴモンハマキの2種）であり、5月中旬頃に本剤を処理すると9月下旬までの4ヶ月間にわたって対象害虫の交尾を阻害することが出来る。処理方法は、福島県では目通りの高さ（約150cm）に10a当たり150本のフェロモンディスプレイを処理することとしている。長期間にわたって園内のフェロモン濃度を維持する必要があるため、傾斜地や風当たりの強いところ、園の周辺部にはディスプレイを20%多く処理する。

3. 複合交信攪乱剤の防除効果

交信攪乱効果を客観的に調査するには、園内のフェロモン濃度をダイレクトに測定する方法と、つなぎ雌法と呼ばれる、未交尾雌をほ場内に放しておきその交尾率から交尾阻害効果を検定する方法が考えられるが、広大な面積での検定にはコスト面、精度の面から実

用的ではない。そこで、性フェロモントラップに誘殺される雄が攪乱効果により誘引されなくなることを利用した誘引阻害効果（トラップシャットダウン）、さらに実際の被害調査によって対象害虫の密度を推定し判定した防除効果で交信攪乱効果を評価した。

団地化した24haのモモほ場に複合交信攪乱剤を処理した試験で、1994～1997年の4年間、誘引阻害効果と果実被害調査を検討した。図1に示したように誘引阻害効果は安定して高く、いずれの害虫に対しても阻害率が95%を越えていた。防除効果も高く、図2でシンクイムシ類に対する被害調査結果を示したとおり、慣行防除試験区では年によって被害がでるような場合があるのに対して、安定して被害が少なかった。また殺虫剤を5割程度削減しても対象害虫に対して十分な防除効果があがることが確認された。

4. 殺虫剤削減に関する問題点

殺虫剤の削減は、複合交信攪乱剤の対象外害虫に対して問題を生じることがある。これまでの試験で、ハダニ類、ウメシロカイガラムシ、モモノゴマダラノメイガ、コガネムシ類、アブラムシ類による被害が問題となっている。これらの害虫に対しては、当面は殺虫剤により防除をしていくが、天敵による密度抑制効果を期待しながら、天敵に影響の少ない薬剤を選択して使用し対応している。

5. 天敵の保護効果

その一方で、天敵が保護され、密度が回復してくることも確認している。ハダニ類の天敵としてカブリダニに注目して試験をすすめている。

殺虫剤削減試験区と、慣行防除試験区ではハダニ類とカブリダニ類の発生推移を比較してみた（図3）。慣行防除区でのナミハダニの発生が夏期に急増しており、カブリダニ類もナミハダニの増加にともなって増加し、全体に不安定な発生推移を示した。一方、削減

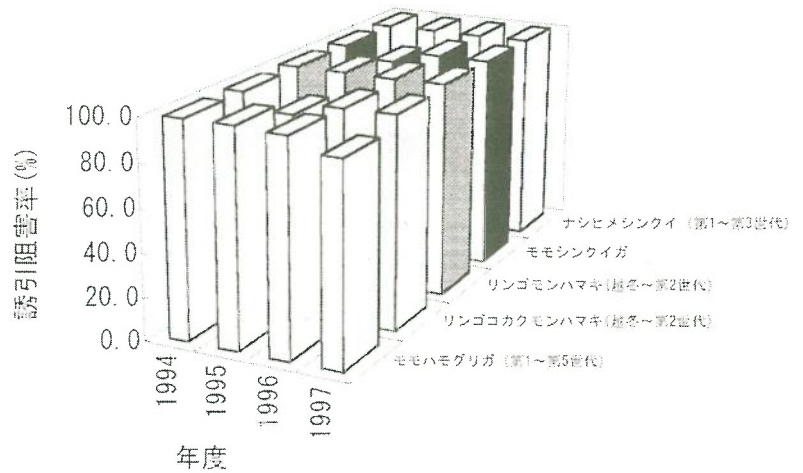


図1 対象害虫の誘引阻害効果（年間平均値）

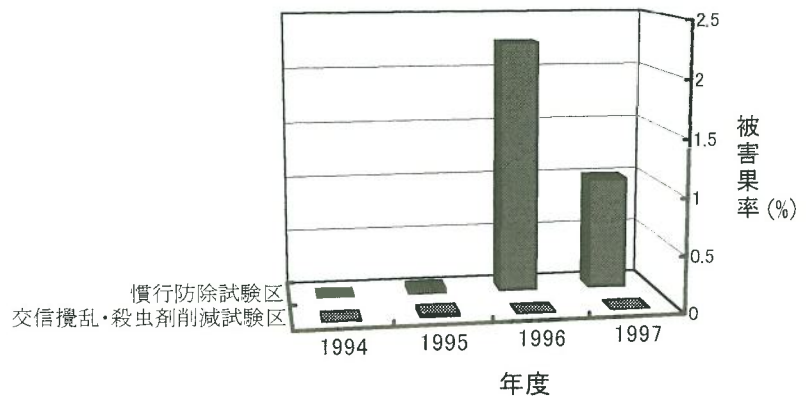


図2 シンクイムシ類による果実被害

防除区では慣行防除区より早い時期からカブリダニ類が活動しており、ハダニ類も長期にわたって発生しているがその密度は低いレベルで安定している。

このように殺虫剤削減区は、カブリダニ類が安定的に生息することで、ハダニ類の多発生を生じることなく、殺ダニ剤を何回も散布する必要がなくなるというメリットもある。

6. 現地での普及の進め方

以上の結果から、モモの複合交信攪乱剤を利用した殺虫剤削減防除体系を作成し、平成11年度から普及に移した。

複合交信攪乱剤を利用した殺虫剤削減防除は、これまでとは考え方が全く異なった防除方法である。このため、殺虫剤の削減については生産者の正確な理解がないとうまくいか

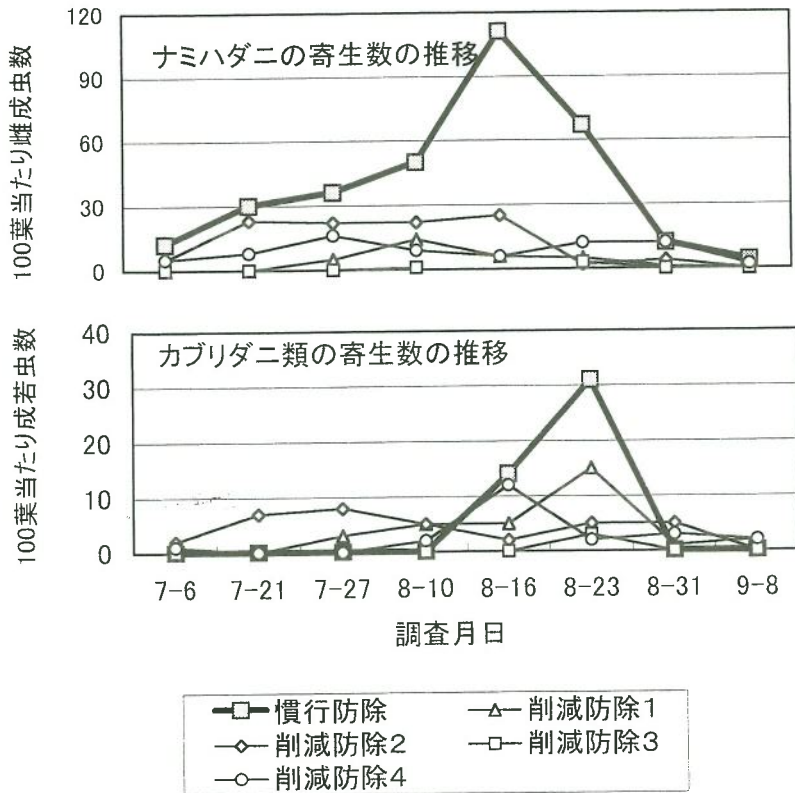


図3 ナミハダニとその天敵カブリダニ類の発生推移 (桑折町, 1997年)

ない。実施にあたってはきめ細かい現地説明会を繰り返し、考え方を理解していただかなければならない。

複合交信攪乱剤の効果は実施面積が広いほど効果が高い。逆に、狭い園地、傾斜地、風当たりの強い園地などフェロモンが流亡しやすいところでは効果が劣る。このため、普及にあたっては出来るだけ、地域全体で取り組むことを前提としている。このため、JAなどで面積をまとめた上で防除暦を作成し、実施するようお願いしている。また、殺虫剤削減にあたっては、定期的な害虫発生状況を調査した上で慎重にすすめることもお願いしている。

その一例として、福島市や県北の伊達郡では4月下旬から、8月下旬までの毎月下旬に

実施地区の2～4haごとに調査ほを設け、対象害虫、対象外害虫の発生調査を行っている。その成績を集計して、全体の発生状況を把握するとともに、一ヶ月間の防除計画を見直している。とくに、ハダニ類の調査に力を入れており、殺ダニ剤の要否を決定している。

広域に取り組みが進むなかで、各地域での害虫の発生状況を集計してみると、意外にもかなりの急傾斜地や孤立園地でも防除効果が確認されている。広域に処理したことの副次効果と考えている。

6. 今後の課題

対象外害虫の一つにコスカシバがある。本種に対してはすでに「スカシバコン」として交信攪乱剤が開発されている。しかし、これまでの位置づけが補完剤であること、本種が果樹以外のバラ科の樹とくにサクラに多数寄生すること、このため目に見える防除効果がみられないことなどが障害となり、現在その利用面積は約130haにとどまっている。複合交信攪乱剤と同面積の広域処理を行うことで確実に防除効果が得られるものと考えており、今後の課題の一つである。

次に、天敵の積極的利用を図ることである。従来の殺虫剤は天敵の保護に向かないものが多い。今回の一連の試験で殺虫剤削減体系ができあがったが、使用している薬剤のなかには天敵に影響の強い薬剤がまだまだ多い。現在は、土着天敵を保護利用している段階である。今後は有用天敵をほ場に放飼することも検討していかねばならないと考えている。そのためにも、環境に配慮した資材、選択性の高い農薬、生物農薬等が早急に開発されることを期待したい。

◀文献情報▶

卵子と顆粒膜細胞間のギャップ結合が卵子の核および細胞質における減数分裂能獲得に必要である

Oocyte-granulosa cell heterologous gap junctions are required for the coordination of nuclear and cytoplasmic meiotic competence
Mary Jo Carabatsos,* Caterina Sellitto,* Daniel A. Goodenough,+ and David F. Albertini*

*Sackler School of Graduate Biomedical Sciences, Program in Cell, Molecular, and Developmental Biology, Department of Anatomy and Cellular Biology, Tufts University, Boston, Massachusetts 02111; and +Department of Cellular Biology, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115

Developmental Biology 226: 167-179 (2000)

卵胞発育は卵母細胞（以降卵子）とそれを取り囲む細胞間の相互作用によりなされる。この過程で卵子と顆粒膜細胞はギャップ結合を通じてイオンや代謝物質を交換しているほか、顆粒膜細胞から卵子へ減数分裂抑制因子が運ばれており卵子は第一減数分裂を途中で停止し卵核胞期を維持するといわれている。グラーフ卵胞まで発育するとゴナドトロピンサージを受けて短時間のうちに卵子周囲が卵丘を形成し、卵子は減数分裂を再開し第二減数分裂中期で再び停止し、その後排卵される。ギャップ結合はイオンや代謝物質を交換したり輸送する細胞間経路の集合体で、その本体は膜タンパクのコネキシンファミリーであることがわかっている。1997年Simonら（Nature誌）によりコネキシン37ノックアウトのホモ雌マウスでは卵子と顆粒膜細胞間のギャップ結合が失われているほか、前胞状卵胞から胞状卵胞への発育が阻害され排卵に至らずその結果不妊になることが報告された。このことは卵子と顆粒膜細胞のギャップ結合が卵子の発育や排卵に必須であることを意味してい

る。本論文ではさらにコネキシン37ノックアウトの未成熟雌マウスにおける卵胞の発育および卵子の減数分裂能を調べ、前胞状卵胞における卵子と顆粒膜細胞のギャップ結合の役割について考察している。

3週齢ノックアウト雌のヘテロ（+/-）あるいはホモ（-/-）の卵胞を顆粒膜細胞数、顆粒膜細胞層数、卵胞腔の有無で形態的に分類した場合、後期卵胞への発育はヘテロで42%に対しホモでは1.5%であり、さらに胞状卵胞への発育はヘテロでは17.8%に対しホモでは0%であった。また卵胞の直径はヘテロでは60—240 μm に対しホモでは50—150 μm 、卵子の直径はヘテロでは平均59.9 μm に対しホモでは52.1 μm （野生型の74.3%）といずれもホモノックアウトの卵胞および卵子の発育が劣っていることを示していた。さらにこれらの卵子の減数分裂能について調べたところ、ヘテロでは成熟培養により52.8%が減数分裂を再開したのに対し、ホモではほとんどが卵核胞期のままで一部で退行している卵子もみられた。ホスファターゼインヒビターであるオカダ酸は未成熟卵子の減数分裂を誘起する。成熟培養後に卵核胞期を維持する減数分裂が再開しないヘテロあるいはホモの卵子をオカダ酸で処理した場合、これらの卵子は一時的に減数分裂を再開するもののオカダ酸を含まない成熟培地に戻すと、ほとんどが再び卵核胞期に戻ってしまい減数分裂を維持できないことがわかった。卵核胞期にある卵子の細胞内微小構造についてヘテロとホモで比較したところ微小管と中心体の局在に違いがみられたほか、分裂期のマーカーとなるヒストン3のリン酸化が野生型ではクロマチンの凝縮より遅れてみられるのに対しホモではクロマチンの凝縮と同時にみられた。以上の結果から、後期卵胞以前の卵胞における卵子と顆粒膜細胞間のギャップ結合が1) 初期卵胞の発育および卵胞腔形成時のシグナリング、2) 減数分裂能獲得のための卵子の核および細胞内微小構造の調和に必要であることが考えられた。（抄訳：木村直子, KIMURA Naoko, 東北大学大学院農学研究科）

◀文献情報▶

DNAマイクロアレイ解析により明らかにされた酵母染色体の異数性化

Widespread aneuploidy revealed by DNA microarray expression profiling

Timothy R. Hughes, Christopher J. Roberts, Hongyue Dai, Allan R. Jones, Michael R. Meyer, David Slade, Julja Burchard, Sally Dow, Teresa R. Ward, Matthew J. Kidd, Stephen H. Friend & Matthew J. Marton

Nature Genetics, 25, 333-337 (2000)

DNAマイクロアレイは、基板上に高密度で整列させたプローブDNAに標識した核酸をハイブリダイズさせ、得られた画像を自動検出器に取り込んで解析処理するというものである。現在、この技術を用いた遺伝子発現プロファイルの解析は、様々な研究への応用が期待されている。遺伝子の系統的な特徴を解明することもその中の1つである。

この方法の実用性を具体的に説明するため、著者らは二蛍光標識法を用いて、300近くの*Saccharomyces cerevisiae*欠損変異菌株から発現プロファイルを取得した。その中でおよそ8%の変異株が染色体レベルでの発現変化を示し、プロファイル間の偽相関 (spurious correlation) が観察された。そして変異株とそれらの同遺伝子型野生親株とのゲノムDNAのハイブリダイゼーション結果から、染色体全体或いは染色体セグメントで異数性 (染色体数とその生物の基本数の整数倍でないこと) が生じていることが示された。例えば、*ERG4*欠損株と*ECM18*欠損株の転写プロファイルの相関係数 r は0.63であったが、欠損株と野生株の比較結果から、この相関は二つの欠損株の第七染色体の増幅からもたらした偽相関であることが分かった。

また、公開された*S. cerevisiae*の発現プロファイルデータを利用し、変異株と野生株の遺伝子発現量を染色体ごとに比較した結果、*tup1*Δ, *rpb1*Δ, *pip2*Δ*oaf1*Δ株等幾つかの異数体らしい菌株が見い出された。

RNR1, *RPL27A*, *RPL34A*, *RPS24A*, *RPA27B*の欠損株では、増幅された染色体に、欠損タンパク質と類似性の高い (80—99%) タンパク質をコードする遺伝子が存在していた。また*RNR1*, *RPS24A*欠損株では、増幅染色体を持つ細胞は明らかに生育優勢を示した。このようなことから、遺伝子の変異が染色体レベルの増減によってカバーされていることが考えられる。

他に、*rpl20a*Δ/*rpl20a*Δ株では、第15染色体の一部の増幅が見られた。この場合、この部分的な増幅により、欠損した*RPL20A*と高い相同性を持つ*RPL20B*の遺伝子量が選択的に増大していると考えられる。

DNAマイクロアレイによる発現プロファイルの解析は研究手法として、部分欠失・増幅を含む多様な異数性の発見に大きな役割を果たしている。癌細胞中での染色体レベルの増幅は、他の遺伝子の欠失を補償するために生じられたものではないかと考えられている。したがって、本研究で得られたデータは、悪性腫瘍細胞のようなゲノムの不安定な細胞における全ゲノムのデータ情報とも密接に関連しているものと思われる。

(抄訳：王茜, WANG Qian, 広島大学大学院先端物質研究科)

◀文献情報▶

植物ゲノム初の完全解読なる

Analysis of the genome sequence of flowering plant *Arabidopsis thaliana*

The Arabidopsis Genome Initiative

Nature, Vol 408, 14 December 2000, 798-815

日仏英独米の五カ国の研究者からなる国際共同体(The Arabidopsis Genome Initiative)は5年間にわたる共同研究の結果、アラビドプシス(和名シロイヌナズナ)のほぼ全塩基配列を決定した。これは種子植物で初の成果であり、植物科学上の画期的成果として長く記憶にとどまるであろう。彼らの言葉を借りるならば、「20世紀はメンデルの法則の再発見に始まり、シロイヌナズナの全ゲノム解読で終わりを告げた」のである。シロイヌナズナはゲノムサイズが小さく(イネの1/4, トウモロコシの1/25, トマトの1/10), 世代時間が短く(一ヶ月), また体のサイズが小さいこと等から、モデル植物として利用されており、植物ゲノム解読の最初のターゲットとして選ばれる栄光に浴したのである。

遺伝子総数は25,498と、今までの公表されている他の多細胞生物より多い(線虫19,099, ショウジョウバエ13,601)。約7割の遺伝子が他生物と共通の遺伝子であり、残り3割が植物特有の遺伝子である。何よりも驚かされるのは、シロイヌナズナはゲノムサイズの小ささ故に、言い換えれば単純だから選ばれたにも拘らず、非常に多くの重複配列が見られる点にある。ゲノムに一つしか存在しない(重複していない)配列は半数にしか過ぎず、残りは少なくとも一回の重複をしているのである。植物の進化に倍数性が深く関与していることはよく知られていることであるが、それを裏付けるとともに、ゲノムサイズの小さいシロイヌナズナでさえ、もっとゲノムサイズの小さい祖先種より倍加したものであることを示している。重複分を除いた遺伝子の絶対数は11,000—15,000であり、他の多細胞生物とほぼ同数である。多細胞生物が存在する

ために必要な遺伝数はこの程度ということかもしれない。また、ラン藻類似の祖先プラスチッドより核ゲノムに移行した遺伝子も読み取れる。アポトーシス、細胞周期関連遺伝子の様に植物に特有な(?)遺伝子は多々あるが、紙数の関係でここでは紹介できない。

シロイヌナズナのゲノムを読むだけで、「植物とは、多細胞とは、進化とは、多様性とは」と尽きない情報が汲み出される。ただ、ここにいう機能とは他生物の遺伝子の類似によって推定したものにしか過ぎず、実験によって確かめられたものではない。機能解析はまさにこれから仕事であり、ここから得られる情報は割り引いて考える必要があることは言うまでもないが。

と、ここまで書いたところで、SyngentaとMyriad Geneticsがイネゲノムの全塩基配列解読完了とのニュースが飛び込んできた。事態の進展は筆者の予想を越えトウモロコシ、ムギあるいはトマトの全塩基配列が決定されるのも間近いかもかもしれない。モデル植物の配列から作物の機能を類推するのではなく、対象作物のゲノム配列を基に考える時代なのかも知れない。この膨大な情報の海から我々は何を読み取り、何をすべきなのか。

後世の人々は、21世紀の植物科学はイネゲノム全塩基配列解読に始まり、「何で幕を下ろした」というのであろうか?

(抄訳: 岩井純夫, IWAI Sumio, 鹿児島大学農学部)

◀文献情報▶

細菌は、付着生物の初期幼体の餌と成り得るか？

Can bacterivory sustain survival and growth in early juveniles of the bryozoan *Bugula neritina*, the polychaete *Hydroides elegans* and the barnacle *Balanus amphitrite*?

Louis A. Gosselin and Pei-Yuan Qian

Department of Biology, Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong

Marine Ecology Progress Series, Vol. 192: 163-172 (2000)

フジツボやイガイなどに代表される付着生物は、幼生期をプランクトンとして変態をしながら浮遊生活で過ごす。この時期は、主に珪藻類等の植物プランクトンを餌にする。やがて付着するステージになると適切な付着場所を探索し、付着すると変態して親と同じ形の幼体になる。通常は一旦付着した後は、移動して生活することなく一生を終える。したがって、幼体となってからは手（蔓脚など）の届く範囲で餌を摂取しなければならない。また、移動できない状態で生殖行動をしなければならないので、バラバラに付着する場所を選択するのではなく群をなして付着して生活している。餌を摂取する場合、主に植物プランクトンを利用していると考えられ、実験室内での飼育においても通常は植物プランクトンを与えている。付着生物は実際の海域においてかなり劣悪な環境下でも生存していることが知られており、フジツボやイガイなどの類では体内で濃縮された重金属を測定して環境の指標としている知見も多数みられる。著者らは付着生物が劣悪な環境でも生育できていることから細菌を餌として利用することも可能であろうと考え、これまでもその可能性についての研究を行ってきた。

本報では、フサコケムシ *Bugula neritina* とカサネカンザシゴカイ *Hydroides elegans*、タテジマフジツボ *Balanus amphitrite* の初期幼体が飢餓状況下で細菌を利用するのかどうかを検討した。各付着生物は香港で採

集し、まず親から幼生を孵化させて、これをプラスチックのチューブやディッシュに付着させて幼体に変態したものを実験に用いた。餌とした細菌は香港の海域より採取した複数種を各付着生物の幼体に与えて幼体の成長、生存、排泄物、及び細菌の数を調べた。その結果、タテジマフジツボの幼体においては積極的な細菌の利用はほとんど観察されなかったが、フサコケムシやカサネカンザシゴカイの幼体では植物プランクトンが欠乏状態になった場合に、細菌の摂取の様子が確認され、排泄物の内容もそれを裏付ける結果を示した。また、体長の伸びなどの成長もみられていることから、細菌を単純に取り込むだけでなく有効に餌として利用していると考えられた。以上の結果から、ある種の細菌はゴカイやコケムシなどの付着生物の幼体の餌と成り得るという可能性が示唆された。

(抄訳 山本 久, YAMAMOTO Hisashi, マルハ(株)中央研究所)

◀海外便り▶

飼料作物の硝酸塩蓄積に対する ゲノム学的アプローチ —ケンブリッジ大学の1年間—

農林水産省 草地試験場
原田 久富美

1. はじめに

1999年10月から1年間、科学技術庁長期在外研究員としてケンブリッジ大学の植物科学科で研究する機会を得た。ケンブリッジ大学はコレッジとユニバーシティーという、世界を見渡してもかなり例外的な二重構造となっており、一番古いピーターハウスコレッジが設立されてからはすでに700年以上が経過している。その間に輩出された著名な科学者は、キャベンディッシュ、ニュートン、マックスウェル、ヴィトゲンシュタイン、ワトソン、クリック、サンガー、チューリング……と枚挙にいとまがない。少しでも科学史に興味のある人ならば、ケンブリッジ大学は滞在したい大学の一つではないかと思う。実際、ケンブリッジで学ぶ外国人の数は非常に多く、日本人研究者の訪問も絶えることがない。また、留学生活についても、藤原正彦さんの「遙かなるケンブリッジ」や林望さんの「林望のイギリス観察辞典」など、楽しくかつ鋭い留学記から多くを伺い知ることができる。

飼料作物における硝酸塩の蓄積

様々な社会情勢の変化を経て、日本の畜産業は、多量の飼料を海外から輸入して牛乳や肉を生産する一方で、家畜ふん尿を産出する構造となっている。そして、家畜ふん尿の大半は畜産農家の畑へ投入されているが、作物の要求量を超える家畜ふん尿の投入は地下水の汚染や自給飼料品質の低下を招いている。物質的なフローを考えると、このような状況

HARADA Hisatomi

〒329-2793 栃木県那須郡西那須野千本松768

は持続的な飼料作物の生産環境とはいいがたく、様々な角度から対策を講じる必要がある。

ここ数年来、私が研究テーマとして取り組んでいることは、飼料作物中の硝酸塩濃度の低減対策である。家畜ふん尿中の窒素成分は土壤中で分解され硝酸塩を生成する。硝酸塩を高濃度に蓄積した飼料作物を給与すると、反すう家畜では硝酸中毒を生じる。硝酸中毒は、死産事故や生産性の低下につながり、自給飼料生産を行う畜産農家の安定な経営を脅かす要因の一つとなっているからである。

硝酸塩の蓄積器官である液胞

これまでに、草地試験場で行った多肥条件下での栽培試験において、主要な作物種の硝酸塩濃度に品種間変異を見だし、硝酸塩の低蓄積性品種の有効性を提起してきた。品種間差は遺伝的要因の差異に由来するが、原因遺伝子を特定するには、このような品種間の量的形質の変異からは大変困難である。そこで、私は、植物細胞内では硝酸塩はその大部分が液胞中に含まれていることに着目し、液胞研究の世界的権威であるLeigh教授のもとで、硝酸塩の蓄積に特徴のあるシロイヌナズナ突然変異体のスクリーニングを行った。硝酸塩濃度に対して質的な変異をもつ突然変異体から硝酸塩濃度を制御する遺伝子を同定しようとする試みである。地道な検索の結果、特徴的な硝酸塩の蓄積と再移動を示す突然変異体を確認したのは、イギリス滞在もあと残すところ1週間に迫ってからであった。

家畜ふん尿問題とゲノムプロジェクト

DNA二重らせん構造の発見と塩基配列決定という生物学上の偉大な発見は、いずれもケンブリッジ大学が世界に誇る業績である。その後の研究の発展結果として、ヒトを含む様々なモデル生物における国際的ゲノムシーケンシングプロジェクトが開始され、シロイヌナズナにおいては、全塩基配列の解読が21世紀を目前に終了したことが発表された。

畜産業における家畜ふん尿の問題とゲノムプロジェクトという一見、関連のなさそうな問題は、硝酸塩の蓄積における遺伝的変異のQTL解析というアイデアにより結びついた。QTL解析とは、DNAマーカーとの連鎖を利用し、関連する遺伝子の数、染色体上の位置、効果などを明らかにする手法である。常々、硝酸塩蓄積をコントロールする遺伝子の情報を得たいと考えていた私は、シロイヌナズナにその適用を試みた結果、数個のQTLを発見し、その効果やQTL間の遺伝効果の相互作用を解析することができた。さらに、このような遺伝学的な解析にとどまらず、シロイヌナズナでは他植物に比べて圧倒的に有利な状況にある分子生物学的な研究を開始した。生理学的な知見とデータベース情報を駆使し

候補遺伝子を特定し、ノックアウト植物の検索、同定を行い、遺伝子の機能を明らかにする研究に取り組み始めた。残念ながら、滞在期間中には遺伝子の特定には至らなかったが、これまで私が地道に圃場で取り組んできた仕事の延長線上の研究として、突然変異体の研究と共に、今後も研究を継続し、発展させてゆく予定である。

ケンブリッジでの生活

イギリスは、日本に比べれば平坦で、夏冬の寒暖差が小さく、南北にも短い。また、大英帝国として君臨した時代の遺産を現在も引き継いでいる。富を蓄積した貴族の屋敷は多くが公開され、美しく個性的にデザインされた庭園を楽しむこともできる。草地研究者の立場から強調したいのは、教育とレクリエーションを提供する牧場の数が多いことである。また、歴史ある国として中世の趣を残す古い城塞都市や建築物、デールやムーアと呼ばれる荒野や蒸気機関車の保存鉄道も多く残っている。スポーツではサッカーの人気の高い。とうとう利用せずに終わったが外国人に対する英語教育も充実している。さらには、高速道路の速度制限は112km/時であり、車による移動は快適である。つまり、イギリスは、日本人が観光する場所や娯楽には事欠かない国である。

また、自然と呼べるものはほとんどないほどに開発されているが、街路樹にはうるさいほどの美しい鳥のさえずりがあふれ、庭にはリスやキツネ、ヘッジホッグと呼ばれる夜行性のハリネズミが遊びに来る。イギリスの人々の暮らしで印象的なのは、定刻に帰宅し、柔らかい日差しの下で蚊やブユの攻撃にあうこともなく、公園や庭でガーデニングや読書を楽しむ光景であった。そこには豊かさが満ちているように思えた。また、農業的には、ケンブリッジ周辺は大規模農地が発達しており、農地が地平線まで広がることはごく当たり前の風景である。また、ところどころに麦稈の角型ボールがむき出しのまま10m以上も



写真1 ケンブリッジ名物のパンティング 後方右側に見える建物はキングスコレッジのチャペル



写真2 生体膜輸送研究グループのメンバー

積み上げられており、腐ってしまうのではないかと心配したりもしたが、これも日本ではあり得ない光景である。一方で、飲料水の硝酸塩濃度を調べてみると、WHOで定められた基準ギリギリであり、農業が環境に与える影響の深刻さも肌身で感じられた。

一方で、食事や医療など、決してよいとは思えない部分もある。また、私の印象からいえば、概してイギリス人は個性的で、外国人を特に排斥することもないが、歓待することもない。うまくつきあうためには、間合いをつかむことも必要である。当然のことながら研究面で自己の存在をアピールするように努

めることが、満足できる留学生生活を達成するために大切であると思う。

おわりに

一流の研究者を生み出してきた環境や競争的雰囲気の中で研究を進め、多くの優れた研究者と交流し、自己の研究能力を高めることができたことは、とても貴重な体験となった。このような在外研究の機会を与えていただいた科学技術庁（当時）、農林水産技術会議事務局及び草地試験場の方々にこの場を借りて深くお礼申し上げます。

生研機構からのご案内

平成13年度募集について

生研機構で実施している下記の各種事業について、平成13年4月よりそれぞれ募集を開始する予定ですのでお知らせ致します。なお、詳細については、インターネットの生研機構ホームページ (<http://www.Tokyo.brain.go.jp/>) においても、ご紹介しておりますのでご覧下さい。(ホームページ関係のお問い合わせは、企画第一課 e-mail; kikaku@tokyo.brain.go.jp TEL: 03-3459-6565へお願いします。)

出 資 事 業

バイオテクノロジー関係の試験研究を行う目的で、二つ以上の企業等が新たに設立する研究開発会社に対して出資を行います。

募集開始時期：平成13年4月上旬予定（ご相談は随時受け付けております）

お問い合わせ：出資課 e-mail; shusshi@tokyo.brain.go.jp TEL: 03-3459-6565

融 資 事 業

企業等におけるバイオテクノロジー関係の試験研究に対する長期・低利の融資制度で、試験研究の成功度合いに応じて利率を減免する一般融資制度と、貸付元本を減免する特別融資制度があります。

募集開始時期：平成13年4月上旬予定（ご相談は随時受け付けております）

お問い合わせ：融資課 e-mail; yushi@tokyo.brain.go.jp TEL: 03-3459-6565

基礎研究推進事業

一 般 型

生研機構では、以下の要領により生物系の産業技術に関する基礎研究の平成13年度新規研究課題（一般型）を募集します。

対象とする研究分野：①生物機能解明・生産力向上分野。②高機能・高品質食品分野。③生物系素材分野。④生物機能利用による環境改善分野。⑤工学・環境学的手法による生物機能向上分野。⑥共通基盤に関する研究分野

応募資格：大学、国公立試験研究機関、独立行政法人、民間の研究機関等、生物系の産業技術に関する基礎研究を実施する能力のある機関に所属する研究者（研究チームの代表者等）であること。

★なお、以下の事項に該当の場合は応募できません。

- ・本事業においてすでに採択されている研究課題の代表者（総括研究代表者及び構成する課題の研究代表者）。
- ・他の特殊法人等が政府出資金により実施している基礎研究推進制度において既に採択されている研究課題の研究代表者。
- ・本事業の「若手研究者支援型」の本年度募集において応募する研究課題の研究代表者（総括研究代表者及び構成する課題の研究代表者）。

研究期間：原則として3～5年間。

研究費の規模：1課題当たり年間1億円程度を上限とし、研究の内容に応じて弾力的に運用します。

生研機構からのご案内

採択予定課題数：7～8 課題程度。

募集期間：平成13年4月2日(月)～5月1日(火)締切当日必着。

課題の選定方法：一次審査（書類審査）及び二次審査（面接審査）により選定します。

応募要領：URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/marumoto/index.html> にてダウンロードできます。

お問い合わせ：基礎研究課 e-mail；kisoken@tokyo.brain.go.jp

TEL：03-3459-6569 FAX：03-3459-6594

若手研究者支援型

生研機構では、若手研究者の積極的な登用による独創的な基礎研究を推進するため、1) 柔軟な発想とチャレンジ精神を持った若手研究者のポテンシャルとイニシアチブを活かす。2) 過去の業績よりも着想の斬新さ、面白さ、発展性を重視する。3) 10年後に科学のパラダイムを作り得るような研究を支援する。という視点から、以下の要領により生物系の産業技術に関する基礎研究の平成13年度新規研究課題を募集します。

対象とする研究分野：①生物機能解明・生産力向上分野。②高機能・高品質食品分野。③生物系素材分野。④生物機能利用による環境改善分野。⑤工学・環境学的手法による生物機能向上分野。⑥共通基盤に関する研究分野

応募資格：(1) 大学，国公立試験研究機関，独立行政法人，民間の研究機関等，生物系の産業技術に関する基礎研究を実施する能力のある機関に所属する研究者（研究チームの代表者等）であること。
(2) 研究代表者を含む研究チームの構成員の年齢が、平成13年4月1日において39歳以下であること。

★なお、以下の事項に該当の場合は応募できません。

- ・本事業においてすでに採択されている研究課題の代表者（総括研究代表者及び構成する課題の研究代表者）。
- ・他の特殊法人等が政府出資金により実施している基礎研究推進制度において既に採択されている研究課題の研究代表者。
- ・本事業の「一般型」の本年度募集において応募する研究課題の研究代表者（総括研究代表者及び構成する課題の研究代表者）。

研究期間：原則として3～5年間。

研究費の規模：1 課題当たり年間1 億円程度を上限とし、研究の内容に応じて弾力的に運用します。

採択予定課題数：数課題。

募集期間：平成13年4月2日(月)～5月1日(火)締切当日必着。

課題の選定方法：一次審査（書類審査）及び二次審査（面接審査）により選定します。

応募要領：URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/marumoto/index.html> にてダウンロードできます。

お問い合わせ：基礎研究課 e-mail；kisoken@tokyo.brain.go.jp

TEL：03-3459-6569 FAX：03-3459-6594

生研機構からのご案内

新事業創出研究開発事業（地域型）

事業の趣旨

生研機構では、豊かで健康な食生活と安心して暮らせる生活環境の実現を基本テーマに、平成12年度から新事業創出研究開発事業を開始し、生命科学等の分野を対象に、民間企業を主体とした産学官のコンソーシアムを形成し、新事業、新雇用の創出を目指した研究開発に取り組んでいます。

このような中、地域における新事業の創出及び産業発展基盤の形成のためには、我が国の各地域の多様な資源を活用し、地域に根ざした研究開発を産学官の連携により抜本的に強化することが喫緊の課題となっています。

このため、新事業創出研究開発事業において、新たに、地域特性を活かした研究分野を対象に、民間企業を主体とした地域研究共同体（地域コンソーシアム）を形成し、地域における新事業、新雇用の創出につながる研究開発を推進することとし、研究課題を募集します。

研究課題の募集

(1) 事業の対象範囲

地域特性を活かした新事業の創出が期待される研究分野であって、地域資源の有効活用やこれらを用いた高機能・高品質食品の開発等の農林水産関連分野、食品分野等を対象とします（食品以外の生産資材等の開発分野を含みます）。

(2) 応募資格

地域コンソーシアム（地域研究共同体）を形成して応募していただきます。

地域コンソーシアムには、

- ①対象地域を設定し、その対象地域内に研究対象となる資源（材料等）があること。
- ②複数の民間企業の参加を必須とし、大学、独立行政法人、公立試験研究機関等のいずれかの参加。
- ③地域コンソーシアムを代表する技術コーディネーターの設置。

を条件とします。また、技術コーディネーター等にも要件を設けております。

(3) 研究期間：原則として5年間。

(4) 研究費の規模：コンソーシアムとして年間約8千万円程度を目安。

(5) 応募締切：平成13年5月16日(水) [必着]

(6) 成果の取り扱い：本研究の成果として得られた知的所有権については、原則として生研機構と研究実施機関との均等共有とします。

当面の予定

3月	地域説明会	平成13年3月7日～3月23日（東京、京都、福岡、札幌、仙台）
4月～5月中旬	研究課題の募集	
5月頃	第1次審査（書類審査）	
6月頃	第2次審査（面接審査）	
7月頃	採択課題決定	

お問い合わせ：技術開発課（担当：田村、村井）

e-mail；kaihatsu@tokyo.brain.go.jp TEL：03-3459-6567 FAX：03-3459-6577

編集後記

- ◆ブレイン・テクノニュース第84号をお届けします。
- ◆久しぶりに編集後記を書かせていただきます。早いもので、私が編集に加わって丸3年になりますが、生研機構の情報誌としての特長を生かしつつ、最新の情報を皆さんに関心を持って読んでいただけるよう努めて参りました。
- ◆私自身、筆が早い方ではないので、逆に先生方には早く原稿を依頼しなければと、編集委員会で収集した資料を始め、場合によっては著書を読み、周囲の専門分野の方々から助言を得、やっと、電話に向かいます。
- ◆「判りました、お引き受けしましょう」の一言を頂けたときは、何とも言い難い感謝の気持でいっぱいになります。最近、電話に向かうとき「皆様、どうぞ原稿依頼を断らないで下さい」と念じるのが常になってしまいました。
- ◆本号の表紙写真は福島県果樹試験場荒川昭弘氏のご好意により、モモシクイガとその被害果の写真を掲載させて頂きました。
- ◆総説として、マップベースクローニング法によるイネの遺伝子機能解析の研究状況（農業生物資源研究所 矢野昌裕氏）を取り上げ、関連してそのトランスポゾンを利用したイネ遺伝子の機能解析技術（農業生物資源研究所 廣近洋彦氏）を掲載させていただきました。その他、生研機構・京都大学 有村源一郎氏・高林純示氏、九州大学 都甲 潔氏、畜産試験場 大越勝広氏・徳永智之氏、日本海区水産研究所 藤井徹生氏、福島県果樹試験場 荒川昭弘氏、さらに草地試験場 原田久富美氏に執筆して戴きました。執筆研究者各位に、改めて御礼申し上げます。
- ◆また本号では、裏表紙に、生研機構で実施している「21世紀型農業機械等緊急開発事」により今年度新たに開発された4種類の機械をご紹介させていただきました。今後の普及が待たれます。
- ◆次号では、早期警戒システムを中心とした水稻の冷害対策（総説）他、各分野の先端的研究を取り上げる予定です。（原田記）

本誌著作物の複写利用等について

本誌掲載の論文・記事の複写・転載等を希望される方は、執筆者ならびに生物系特定産業技術研究推進機構（生研機構）の許諾を得て行って下さい。

ブレインテクノニュース（第84号）

平成13年3月15日発行

編集兼発行者 堤 英 隆

発行所 生物系特定産業技術研究推進機構（生研機構）

〒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

e-mail kikaku@tokyo.brain.go.jp

URL <http://www.tokyo.brain.go.jp/>

©Bio-oriented Technology Research Advancement Institution, 2001

生研機構「緊プロ事業」新規開発機種のご紹介

生研機構の農業機械化促進業務では、新しい農政の一環として、農業現場で待ち望まれている新たな農業機械の研究開発を緊急的に行う「21世紀型農業機械等緊急開発事業（略称：緊プロ事業）」を実施しています。この事業で開発された機械は、順次市販化され、その総普及台数は、平成5～9年度実施の前期事業を含み、既に1万台を突破しています。

平成12年度には新たに4種類の機械を開発することができましたので、その概要をご紹介します。



1. 高速代かき機

水田での代かき作業は、通常2～3回行う必要があるため作業に時間を要し、稲作規模拡大のネックの一つとなっています。今回開発した「高速代かき機」は、従来機より2～3割高速で作業を行うことができる上、条件が整えば3回の代かきを2回で済ますことも可能です。これにより、能率アップのみならず、省エネ、適期作業が実現します。



2. 高精度水田用除草機

除草剤に頼らない水稲栽培のためには、機械で除草を行うのが有力な方法ですが、従来の歩行型除草機は能率が低く、労働が過酷な上、株間が除草できない問題がありました。そこで、条間・株間の同時除草を高能率で行える乗用型の「高精度水田用除草機」を開発しました。これにより、従来機の3～5倍と大幅な能率アップが図られる上、除草効果も大きく向上しました。



3. 長ねぎ調製装置

長ねぎの皮むきを行う調製作業は、圧縮空気を用いるため騒音がひどく、また、作業に人数と熟練を要します。今回開発した「長ねぎ調製装置」は、作業時の耳元騒音を従来機の約100 dBから85 dB以下に抑えることができます。また、作業員1名で根・葉の切断と皮むき作業を1工程で行うことができ、熟練を要することなく高精度な調製作業が可能となりました。



4. 傾斜草地用多機能トラクター

良質な国産粗飼料の確保が強く要請されているなか、傾斜地を有効利用し、飼料の増産を図っていく必要があります。従来のトラクターでは傾斜地作業に限界がありました。この「傾斜草地用多機能トラクター」は、超低重心設計により、かなりの傾斜でも安全かつ安定した走行ができ、また、4種類のかじ取り方式を選択することにより優れた旋回性・作業性を実現しています。さらに、車体の前後どちらにも作業機を装着することができ、牧草の刈り取りから、肥料散布、運搬まで、傾斜地で便利に利用できる、まさに「多機能」なトラクターです。