

平成13年7月15日発行(隔月1回15日発行)

ISSN 1345-5958 CODEN : BTEEEC

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 86 号

JULY 15, 2001



完熟収穫型単為結果性トマト 「試交99-2」

愛知県農業総合試験場 園芸研究所
(大藪哲也氏原図)

目 次

総 説

- マイクロチャネルを用いた血液レオロジー計測による健康の評価 1
 菊池佑二 (独立行政法人 食品総合研究所マイクロチャネルアレイ工学チーム)

国内情報

- マイクロチャネルを用いた単分散マイクロスフィア作成技術 8
 中嶋光敏・小林 功 (独立行政法人 食品総合研究所反応分離工学研究室)
- 生きた植物における水のイメージング 13
 中西友子 (東京大学大学院 農学生命科学研究科)
- 環境負荷化学物質モニタリング及び環境汚染浄化を目的とした遺伝子組換え植物 19
 大川秀郎 (神戸大学・遺伝子実験センター)

地域の先端研究

- 完熟収穫型単為結果性トマト「試交99-2」の育成 23
 大藪哲也 (愛知県農業総合試験場 園芸研究所)
- 生物間相互作用を利用した土壌細菌群集多様性の簡易診断法 26
 森川千春 (石川県農業総合研究センター)

文献情報

- DNAマイクロアレイを用いた卵胞発育における遺伝子発現解析 30
 Hung-Ching Liu et al. (Fertility and Sterility, 75 (5), 947-955, 2001)
 抄訳: 木村直子 (東北大学大学院 農学研究科)
- ゲノム発現解析により明らかとなった出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) の
 リン酸蓄積とポリリン酸の代謝システムにかかわる新しいコンポーネント 31
 N. Ogawa et al. (Mol. Biol. Cell., 11 (12), 4309-4321, 2000)
 抄訳: 岩下和裕 (独立行政法人 酒類総合研究所)
- 有機リングは甘いのか, 酸っぱいか 32
 J. P. Reganold et al. (Nature, 410, 926-929, 2001)
 抄訳: 岩井純夫 (鹿児島大学 農学部)
- シロイヌナズナの Asymmetric leaves 1 は葉パターン形成と stem cell の機能を伸介する 33
 M. E. Byrne et al. (Nature, 408, 967-971, 2000)
 抄訳: 春原英彦 (東京大学大学院 農学生命科学研究科)
- 腸管出血性大腸菌 O157:H7 のゲノム塩基配列 34
 Perna NY, et al. (Nature, 409, 529-533, 2001)
 抄訳: 室田一貴 (マルハ株式会社 中央研究所)

海外便り

- 積雪・凍結地帯における土壌・根圏の水・熱の季節変化の動態予測手法の開発 35
 -カナダ・サスカチュワン大学における一年四ヶ月半-
 広田知良 (独立行政法人 農業技術研究機構 北海道農業研究センター)

- 生研機構からのお知らせ 38

表紙写真説明

トマトの新品種「試交99-2」(商品名:ルネッサンス)は,愛知県農業総合試験場が株サカタのタネと共同で2000年6月に育成し,普及を始めた品種。この品種は,ホルモン処理やマルハナバチによる交配などの着果作業が不要の,食味,耐病性に優れた完熟収穫型で,その開発経過が地域の先端研究23頁に紹介されています。

◀総説▶

マイクロチャネルアレイを用いた血液レオロジー計測による健康の評価

食品総合研究所マイクロチャネルアレイ工学チーム

菊池 佑二

半導体微細加工技術によって製作されたマイクロチャネルアレイには種々の応用が期待される。まず、毛細血管モデルとして血液試料を流すことにより、毛細血管血流を左右する血液レオロジー因子の信頼性・定量性の高い測定法を確立した。これまでの成績から、健康および病気になる前の状態「未病」を診断・評価できる可能性が示唆された。

1. はじめに

半導体微細加工技術によって製作される大規模集積回路（LSI）とそれによる情報機器は現在も急成長を続け、社会を席卷し、社会の変化を余儀なくさせている。しかし、これまで同様に社会を変えてきた鉄鋼、自動車、家電産業などがたどってきたように、いつかは飽和して減少に転じ、社会のニーズに合った規模に落ち着くと思われる。その後の成長産業は医療・福祉を含む健康とバイオであるとの大方の見方である。

一方、その半導体微細加工技術を用いて集積回路ではなく微小で精巧な機械マイクロマシンを作製する試みが活発に行われ、大きな注目を集めている。この研究開発分野が成功すれば新産業の起爆剤になろう。しかしながら、有用な応用はなかなか現れないようである。

我々が開発したマイクロチャネルアレイは半導体微細加工技術を用いて製作したものである。その単純な構造のため、マイクロマシン研究者から評価されることは少ないが、単純であるがゆえにその応用と発展の可能性は小さくないと筆者は確信している。

ここでは、マイクロチャネルアレイを毛細血管モデルとして用いる応用を述べる。そこを通過する血流の良否を計測することが目的であり、さらに、それによって健康状態を定

KIKUCHI Yuji

〒305-8642 つくば市観音台2-1-12

量的に計測・評価することが目的である。

健康あるいは病気になる前の状態「未病」を計測・評価できる技術は、いうまでもなく、予防医学の進展と健康産業の成長に必須である。しかしながら、近年著しい進歩を示してきた最新の生体計測技術も、健康の診断・評価となると必ずしも有力ではない。それは、その進歩が主に形態を計測する技術に関してのものであり、疾患によって壊れた状態は分かっても、壊れる前の調子の悪い状態は分からないからである。

組織を養う毛細血管の血流が低下すると、組織の代謝が低下し、組織の機能は様々な程度に障害される。程度の軽いものは不調・不定愁訴となり、重いものは疾患となり、さらに加齢と共に進むのが老化である。毛細血管血流を左右する血液レオロジー因子の測定が健康の測定になることを議論する。まず、毛細血管の総本数・総延長を計算して毛細血管の重要性を再確認することから始めたい。

2. 毛細血管の総本数・総延長

われわれの身体は60兆個の細胞からできている。この推定値は、組織細胞の大きさが凡そ $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ であることから、60kgの成人の体積60ℓをこの細胞1個の平均体積で割ることにより出てくる。同様の計算に基づいて、体表 $(S(\text{m}^2)) = 0.007184 \times W(\text{kg})^{0.425} \times H(\text{cm})^{0.725}$ ；170cm, 60kgで 1.69m^2 ¹⁾から酸素が拡散で十分到達しうる $50\mu\text{m}$ 以内にあ

2 総説

る細胞の数は850億個すなわち全体の0.14%であることが分かる。200 μm までとっても0.6%以下である。残りの99.4%以上の細胞に酸素を供給しているのが全身くまなく張り巡らされた毛細血管である。血管の総延長は10万kmといわれるが、その大部分を与えるのが毛細血管である。

毛細血管の径と長さは、組織によっても異なるが、平均前者が6 μm 、後者が600 μm 程度である²⁾。1本の毛細血管が養う組織を血管から50 μm 以内にある組織とすると(毛細血管から50 μm 以上離れている細胞はないといわれる)、この毛細血管の周りの組織の円筒(Kroghの組織円筒³⁾と呼ばれる)部分の体積で上記体積を割ることにより、毛細血管の総本数130億本、総延長8千kmと求まる。それでも10万kmの12分の1である。

実は、この計算は安静時についてのものである。筋肉では運動時に安静時と比べて20倍以上にも血流量が増加する。毛細血管の本数が一定であるとする、そのためには20倍以上の血圧が必要になるが、それは明らかにあり得ない。実際には血管の本数が増加することによって血流量の増加が得られている。もちろん血管が新生されるわけではなく、筋肉中にはそれだけの血管があつて、安静時に使われているのは総数の20分の1以下であるということである。そこまでの差はないとしても筋肉以外の組織も同様である。すなわち、全身の細胞が最大に酸素を要求した場合でも十分に酸素を供給できるように毛細血管が張り巡らされているわけである。したがって、総本数1500~1600億本、総延長10万kmが妥当な見積もりになる。心臓、脳などの常時酸素消費量が多い組織では常に要求を満たせるだけの毛細血管が使われている。そこでは組織円筒の径は15 μm 前後になる。

3. 毛細血管の本数と循環系の調節

激しい運動時を最大として、人の様々な行動の中で各組織の代謝量すなわち酸素消費量は大きく変動する。その消費量の増減に応じ

て血流量が絶えず増減される。その調節には神経性・液性と多くの機構が関与するが、その増減そのものを可能にしているのは、上述のように、各組織の毛細血管の総本数である。もし多くの毛細血管が潰れたり閉塞されたままの状態では血流量を増加できなくなれば、筋肉では拘縮状態が起こり、激しい痛みが発生する。他の組織も機能不全状態に陥る。

血流量は体重の約8%であるので、60kgの人で約5 ℓ である。安静時に毛細血管に含まれる血流量は血液総量の約5%であるが¹⁾、これは上記の約8千km分の容積と一致する。静脈系は血液の54%を保ちリザーバーとしての役割を果たしている。

血液の循環は心臓の拍出が大元であるが、実際に末梢組織に対する還流圧(血圧)を作り出しているのは動脈特に小動脈の弾性と収縮である。そのため動脈は交感神経系の支配を受けて常時一定のトーンスを保っている。さらに毛細血管網につながる細小動静脈の相互に調和のとれた収縮と弛緩により、毛細血管への血流の配分が行われる。毛細血管床と細小動静脈から構成される循環系の基本単位は微小循環系と呼ばれる。

心臓はもとより、脳・神経系、内分泌系、腎臓などの循環の調節に関わる組織は常時活発に活動し、それだけ多くの酸素をすなわち循環量を要求している。また、ある太さ以上の血管では血管壁自体を養い活動させるための栄養血管系を持っている。したがって、循環系の異常はまずそれ自身にはね返り悪循環が形成される。さらに、その異常は微小循環系におけるヘモレオロジーの異常によって生じてくると考えられる。

4. 毛細血管血流を左右する血液レオロジー因子

赤血球が血液中に占める割合は体積的に40~50%にも及ぶ。この事実は、血液によって運ばれる物質の中でも酸素がいかに重要かを如実に物語るが、同時に、血液中の液体成分(血漿)が体積的に残りの約半分に過ぎない

ことを意味している。このような血液の濃さはコンデンスミルクの濃さと同程度である。酸素輸送のために赤血球を大量に抱え込んでも血液が流動性を失ったのでは意味がない。実際の血液は、この赤血球の割合にもかかわらず、極めて流動性が高い、すなわち、低粘度であり、輸送担体としての必須の条件を当然のことながら満たしている。

血液の高い流動性の秘密は赤血球に存在している。赤血球は外力を受けると極めて容易にその力に応じた形に変形することができる。この特徴は赤血球の変形能と呼ばれる。形を保ち得ないのが液体であるが、赤血球はその変形能によってあたかも液体のように振舞えるわけである。このことが、赤血球が約半分を占めても血液が液体としての流動性を保ちえる基本的な理由である。それに対して、コンデンスミルク中の脂肪球は実質的に剛体球である。

赤血球変形能の直接的な役割は毛細血管通過時に発揮される。毛細血管の平均径 $6 \mu\text{m}$ に対して赤血球（両凹円盤状）の径はヒトで約 $8 \mu\text{m}$ あり、赤血球は変形しなければ毛細血管を通過することができない。赤血球の高い変形能によって毛細血管通過抵抗は極めて小さくなる。何らかの原因で赤血球の変形能が低下すれば微小循環とマクロな循環は大きく影響されることになる。

赤血球と共に循環している白血球と血小板はそれぞれ生体防御と血管系の保守の役割を担っている。両者とも、非粘着性・非凝集性細胞として循環しながら、感染部位、破損部位を探索し、それらからの刺激物質を感知し、直ちに粘着性・凝集性に変化して、血管壁に粘着・凝集する。白血球はさらに血管壁を通り抜けて遊走し侵襲した微生物を貪食破壊する。血小板は凝集塊を形成して破損部位を覆い、赤血球の漏出（出血）を防ぐ。このように両者の粘着・凝集はそれぞれの機能の根幹をなすものであるが、それらが過度に生じれば血管内腔を狭めて、あるいは細小血管を閉塞して赤血球の流れを障害する。すなわち重大な副作用を伴うことになる。

毛細血管ではこの副作用が極めて頻繁に起きていることが推測される。白血球は赤血球より大きく、さらに大きく変形して毛細血管を通過する。壁にそれだけ強く接触する条件下では、粘着能の増加した白血球は実質的に通過できなくなることが考えられる。また、血小板の凝集塊により毛細血管が容易に閉塞されることは想像に難くない。しかしながら、上述のように、その予備力が極めて大きいため、その事態が自覚されることはない。

5. 毛細血管モデルとしてのマイクロチャンネルアレイ

毛細血管ないし微小循環系の血流量は、上述のように赤血球変形能、白血球変形能および粘着能、血小板凝集能によって左右される。これらの血液レオロジー因子が食事を含む環境因子によってどのように影響されるかは極めて重大であるが、これまでの多数の研究に

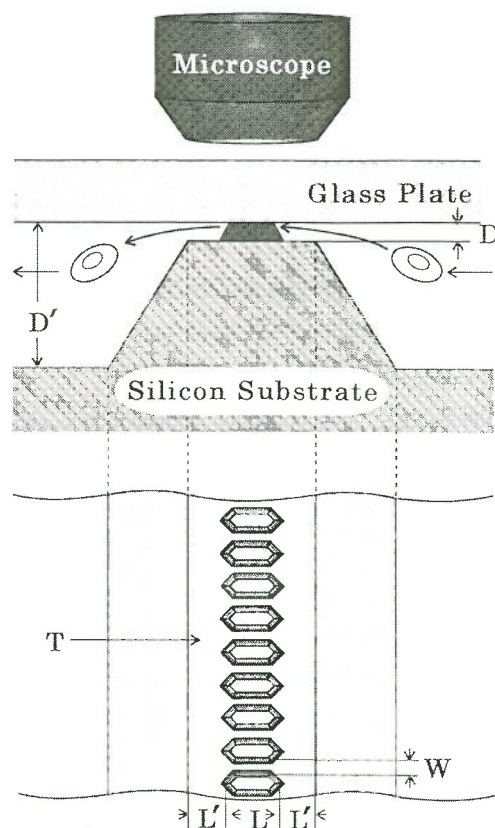


図1 毛細血管モデル（マイクロチャンネルアレイ）の基本構造。実際は天地逆。

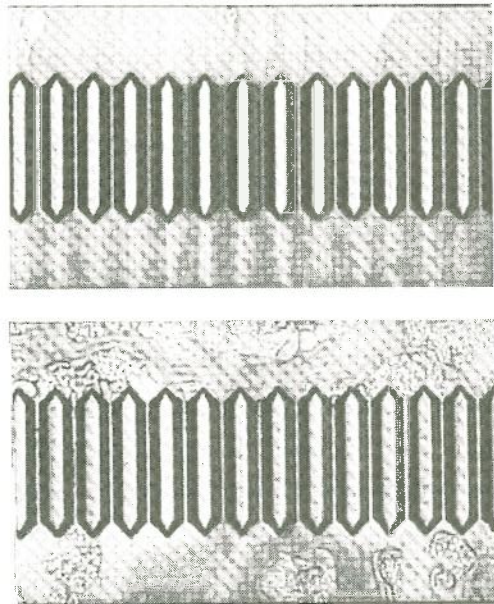


図2 毛細血管モデルを通過する全血の流れ
(上段; 良い流れ, 下段; 悪い流れ)

もかかわらず十分明らかにはなっていない。それは、血小板凝集能を除いて、信頼性・再現性・定量性のある計測法が開発されなかったためである。諸々の難しさは細胞の機能に関する計測一般に共通するものである。一方で細胞の形態を計測する技術の進歩が著しいため、計測技術全般に対する錯覚を生む結果になっているが、ミクロンサイズの不定形ないし易変形性の細胞の変形・粘着・凝集を定量評価することは一部名人芸的な手法を除いてほとんどできていないのが現状である。また、血小板浮遊液の濁度による血小板凝集能測定法もその結果のin vivoへの適用性に関してはお議論が残るものである。

筆者らは、半導体微細加工技術を用いてシリコン単結晶基板表面に高精度に加工したミクロンサイズの流路(マイクロチャネル)のアレイを毛細血管モデルとして上記血液レオロジー因子の計測に用いる独自の技術を開発した¹⁻⁸⁾。抗凝固処置した全血試料をそのまま流し、その全流量を正確に測定できると、マイクロチャネルアレイを蔽うガラス基板を通して血液細胞の流れ挙動を直接顕微鏡で観察できることが大きな利点である。試料調製を要しない全血試料を用いた測定と流れの場での測定がin vivoとの対応性(信頼性)

を与える。

図1と2にマイクロチャネルアレイの基本構造と流れの観察例を示した。

もう一つの大きな利点は半導体微細加工技術が持つ量産性であり、同一デザイン・サイズのマイクロチャネルアレイを多数製作することができる。マイクロチャネルアレイの使用に名人芸や熟練は一切不要であるが、より確実に他の研究者が使用できるように、専用顕微鏡を含めて使い勝手のよい装置の開発を進めてきた。

この装置はMC-FAN (MicroChannel array Flow ANalyzer)⁸⁾と命名され、現在、受注生産の形で日立原町電子工業(株)および興和(株)より市販されている。

深さ4.5 μm 、深さ中間点での巾7 μm 、長さ30 μm 、8736本並列のマイクロチャネルアレイ (Bloody 6-7) がヒト全血用の標準品であるが、巾は4 μm から8 μm まで1 μm 間隔で、長さは20 μm から80 μm まで10 μm 間隔で用意され、同社から供給されている。

6. 健常者における血液流動性(血液通過時間)の分布

健常男性および女性からヘパリン採血(ヘパリン溶液1000単位/mlを血液に対して5%量使用)した全血を上記標準マイクロチャネルアレイBloody 6-7に20cm水柱差で流し、100 μl の通過時間を求めた結果⁹⁾を図3に示す。各被験者の通過時間を横棒で示し、短い順に下から並べたグラフである。通過時間が短いほど流動性が高いことを意味する。男性では40秒から60秒の間に、女性では35秒から50秒の間に多くが分布した。最小通過時間は30秒であったが、これは生理食塩水の通過時間12秒の2.5倍(相対粘度2.5)にすぎない。通過時間が60秒を越す例では血小板凝集が顕著であり、通過時間の延長の大部分は血小板凝集塊によってチャネルが閉塞された結果である。女性の血液が男性の血液より流れやすいことが明らかである。

このような通過時間の分布には季節変動が

見られ、春と秋で流れがよく、夏は流れが悪くなり、冬はさらに悪くなることが見られた。

食事内容に関して被験者に簡単なアンケートを行い、被験者を、肉をよく食べる、魚をよく食べる、野菜をよく食べる、の3群に分けたところ、流れが良いのは野菜と魚で、悪いのが肉であった。しかし、男性では魚と肉の差は僅かであった。飲酒についても調べたが、毎日少量飲む群で流れが良く、全く飲まない群で流れが悪いことが示された¹⁰⁾。さらに、喫煙群は非喫煙群に比べて流れの悪化率が高かった。

これまで得られた成績は疫学的研究により示されてきた虚血性心疾患のリスクを良く反映している。

7. 活性酸素傷害と血液レオロジー

活性酸素による酸化傷害が多くの疾患の原因であるとする考えが研究者のコンセンサスになっている¹¹⁾。例えば、酸化変性LDLをマクロファージが際限なく食べて泡沫細胞化することが動脈の粥状硬化の原因であるとされている。活性酸素の生成は避けられないことであり、また、現在でもその脅威が減っていない感染症の防御には白血球による活性酸素の産生¹²⁾が不可欠である。そのため、抗酸化物質を多く摂取することが疾患の予防の決め手になるはずである。食品・食品成分の機能性も専ら抗酸化性により評価されることになった。しかし、抗酸化物質の代表格であるβ-カロテン、ビタミンE、ビタミンCなどの積極的な摂取により、冠動脈の粥状硬化が原因になる虚血性心疾患の発症が低下するかどうかを大々的に調べた研究では良い結果は得られていない¹³⁾。

活性酸素傷害は実際には虚血-再還流に伴って生じると考えられる。生体は本来活性酸素に対して十分な防御能力を備えている。その防御能力を越えて活性酸素が生成される可能性があるのは、放射線被曝等を除いて上記の白血球が産生する場合だけであろう。活性酸素に対する防御能力は組織の代謝に依存す

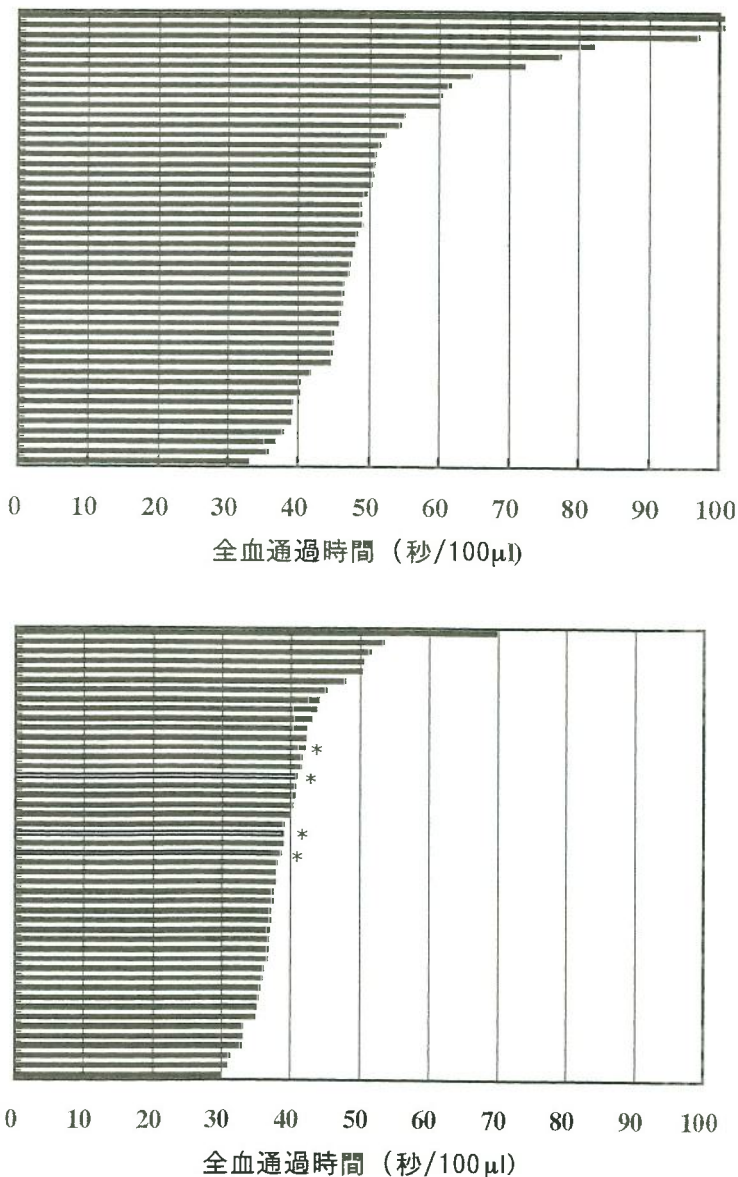


図3 健常者における全血通過時間の分布 (上段;男, 下段;女, *65歳以上)。

る。循環が途絶えると防御能力が著しく低下し、その後循環が再開され白血球による活性酸素が加わると組織傷害が起きてくる。虚血再還流障害として知られている事態である。

毛細血管モデルを用いた測定から、活性化された白血球あるいは血小板の凝集塊が一過性に毛細血管を閉塞する事態、すなわち局所的な虚血-再還流が比較的頻繁に起きていることが推測される。白血球の粘着能や血小板の凝集能を抑制してそのような事態を減らすことこそ活性酸素傷害を防ぐ決め手であろう。

8. 高血圧と血液レオロジー

高血圧の大部分は原因がはっきりしない本態性高血圧と呼ばれるものである。何らかの原因で血液が流れにくい状況があり、それを補償するために血圧を上げた状態と考えられる。高血圧を作り出している状態すなわち小動脈が収縮した状態も血液の流れにくい状況を作り、悪循環が形成されることになる。これまで考慮されなかったことは、高血圧が血液の流動性を低下させる可能性である。血液の流れにくい状況に対して血圧を上げて無理に流す結果、血液細胞にかかる力学的ストレスが増加することになる。特に血小板は力学的ストレスに感受性であり、凝集能を高める。したがって、高血圧と血液流動性の低下の間にも悪循環が形成される。

高血圧は動脈硬化を促進することが知られているが、血液流動性の低下による血管内皮の傷害と血管壁の栄養血管の血流低下による血管壁代謝障害が理由として推定される。

血圧が高く、また繰り返し測定でいつも血液通過時間が延長している場合は、動脈硬化のリスクがより高いと考えられる。

9. 健康・未病の診断

血液が流れやすく不都合が起きることは考えられない。血液が流れやすいほど循環は良いはずであり、したがって上記の通過時間の範囲で健康を評価することが可能であろう。繰り返し測定でいつも60秒を越える例は血栓を起こす確率の高い未病と診断してよいと思われる。

高コレステロール血症あるいは高脂血症は「血液どろどろ状態」と見なされることが多いが、今のところ血液流動性との相関はそれほど明らかではない。動脈硬化のリスクファクターになるのも、上述のように、血液流動性を低下させるからと考えられる。高脂血症に対して治療が必要かどうかは個々のケースで血液流動性を測定してから判断すべきものと思われる。

MC-FANにより血液レオロジーの異常が見られた場合、それがそのままin vivoで生じているわけではない。例えば、顕著な血小板凝集が見られたとしても、in vivoでは血管内皮細胞からのPGI₂等により血小板凝集は抑制されていると推測される。しかし、その安全メカニズムが不調の場合、血小板血栓が実際に生じるリスクが高いのは間違いなくMC-FANで顕著な血小板凝集が見られた人達であろう。

赤血球変形能の低下、白血球粘着能の増加等による血液流動性の低下も、心臓と血管の運動により補償されるため、自覚されることはないであろう。しかし、慢性的に続けば、上述のように高血圧になってこよう。一過性でも交感神経系の活動のため夜眠れないとか胃腸の調子が悪いといった症状が伴うことが推定される。

10. おわりに

ここでは、循環を調節する基本メカニズムが血流量の増加を許す毛細血管の総本数にあることを議論した。また、毛細血管では塞栓といった事態が予想以上に起きている可能性が高いことを示した。閉塞が長時間に及べば毛細血管自体が壊死する。一過性でも活性酸素による傷害が進む。そのため、加齢と共に確実に毛細血管の本数は減少していくと思われる。老化と共に循環が低下する、あるいは、循環の調節がうまくできなくなる基本的な理由はここにあるのではないだろうか？

皮膚の毛細血管が減少すると皮膚は弾力性を失って皺になる。同様に、血管壁の毛細血管が減少して血管壁が弾力性を失い皺になった状態が恐らく動脈硬化であろう。最近、動脈硬化学会により高コレステロール血症の境界値が240mg/dlに改められたが、コレステロールはその血管壁がボロボロになるのを防いで丈夫さを保つことに寄与している可能性さえ考えられよう。

人は「血管と共に老いる」といわれる。より正確には、「毛細血管の本数の減少と共に

老いる」であろう。血液の流動性をよく管理できれば毛細血管の本数の減少速度を減らせるはずである。そのメンテナンスを可能にするのが我々の毛細血管モデル装置MC-FANであると確信している。

文献

- 1) Ganong, W. F. (1983), *Review of Medical Physiology*, 11th ed. Lange, Los Altos
- 2) Caro, C. G. et al. (1978), *The Mechanics of the Circulation*. Oxford Univ., New York/Toronto
- 3) Krogh, A. (1919): *J. Physiol.*, 52, 409-415
- 4) Kikuchi, Y. et al. (1992), *Microvasc. Res.*, 44, 226-240
- 5) Kikuchi, Y. et al. (1994), *Microvasc. Res.*, 47, 126-139
- 6) Kikuchi, Y. et al. (1994), *Microvasc. Res.*, 47, 222-231
- 7) Kikuchi, Y. (1995), *Microvasc. Res.*, 50, 288-300
- 8) 菊池佑二ら (1998), *細胞*, 30, 281-284
- 9) 菊池佑二ら (1999), *ヘモレオロジー研究会誌*, 2, 25-29
- 10) 菊池佑二ら (2000), *ヘモレオロジー研究会誌*, 3, 67-74
- 11) 鈴木敬一郎ら (1999), *ライフサイエンス*, 4, 35-42
- 12) 金ヶ崎史郎 (1999), *ライフサイエンス*, 4, 29-34
- 13) 石川俊次 (1998), *臨床栄養*, 92, 370-375

◀国内情報▶

マイクロチャネルを用いた単分散 マイクロスフィア作成技術

食品総合研究所反応分離工学研究室

中嶋光敏・小林功

微細加工技術を駆使してシリコンチップ上に加工される均一な微細流路であるマイクロチャネル (MC) および均一な貫通孔である貫通型MCを分散素子とした単分散マイクロスフィア (MS) 作成技術を開発した。MC乳化法に関与する操作因子である界面活性剤、分散相圧力、連続相流速等の影響について検討を行った。また、本乳化法によって得られる単分散MSは、高い安定性等の優れた性質を有しており、高安定性の機能的単分散MSの作成に有用であると考えられる。

1. はじめに

マイクロスフィア (MS) は、連続相となる液体中に分散している微小液滴や微粒子であり、食品、医薬品、化粧品、化成品など各種産業で広範囲な用途に利用されている。安定性をはじめとするMSの諸物性は、MSのサイズおよびその分布に広く依存している。一般に産業界においては、高安定性を有し、物性の制御が容易なMSを作成することが望まれており、これらの条件を満たす方法として単分散MSの作成が有効である。ところが、機械的な剪断力により分散相を微粒化する一般的な乳化法では、得られたMSが多分散であり、かつサイズの制御も困難であるのが現状である¹⁾。そのため、MSのサイズとその分布の独立した制御が可能な乳化法の開発が期待されている。

近年、筆者らは半導体加工技術を駆使して作製した微細流路であるマイクロチャネル (MC) を使用して、単分散MSを作成することのできるMC乳化法を提案した^{2), 3)}。本乳化法では、MCを介して加圧した分散相を連続相中に押し出すことにより変動係数5%以下の単分散MSを作成することができる。本稿では、まずMC乳化法について単分散脂質微粒子の調製への応用例も交えて解説する。そして、マイクロマシーニング技術を駆使し NAKAJIMA Mitsutoshi and KOBAYASHI Isao 〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

て作製した微細貫通孔である貫通型MCを使用した単分散MS作成技術について解説する。

2. マイクロチャネル乳化システム

MC基板の模式図およびMCの顕微鏡写真を図1 (a) に示す。MC基板の表面は、酸化処理により親水性となっている。MC壁は一辺が10mmの正方形のテラスの上に作製されている。そして、ガラス板を押しつけてMC壁の上部と接触させた際、MC壁とガラス板に挟まれた部分であるMCが形成される。MC乳化装置と装置内でおこる乳化の概略図を図1 (b) に示す。実験装置は、分散相を供給する部分と連続相を満たされている温度制御ができるモジュールから構成されている。MC基板はモジュール内で転置された後、加工面をガラス面に圧着された状態で取り付けられる。モジュール内に供給された分散相がMCを通過することにより液滴が生成される。一連の乳化過程は、ガラス面から顕微ビデオシステムを介して観察することができる。

3. マイクロチャネル乳化特性

MC乳化の一例として、分散相として界面活性剤を含む高オレイン酸含量ヒマワリ油を使用した場合におけるエマルジョンの作成挙動を図2に示す³⁾。分散相圧力がブレイクス

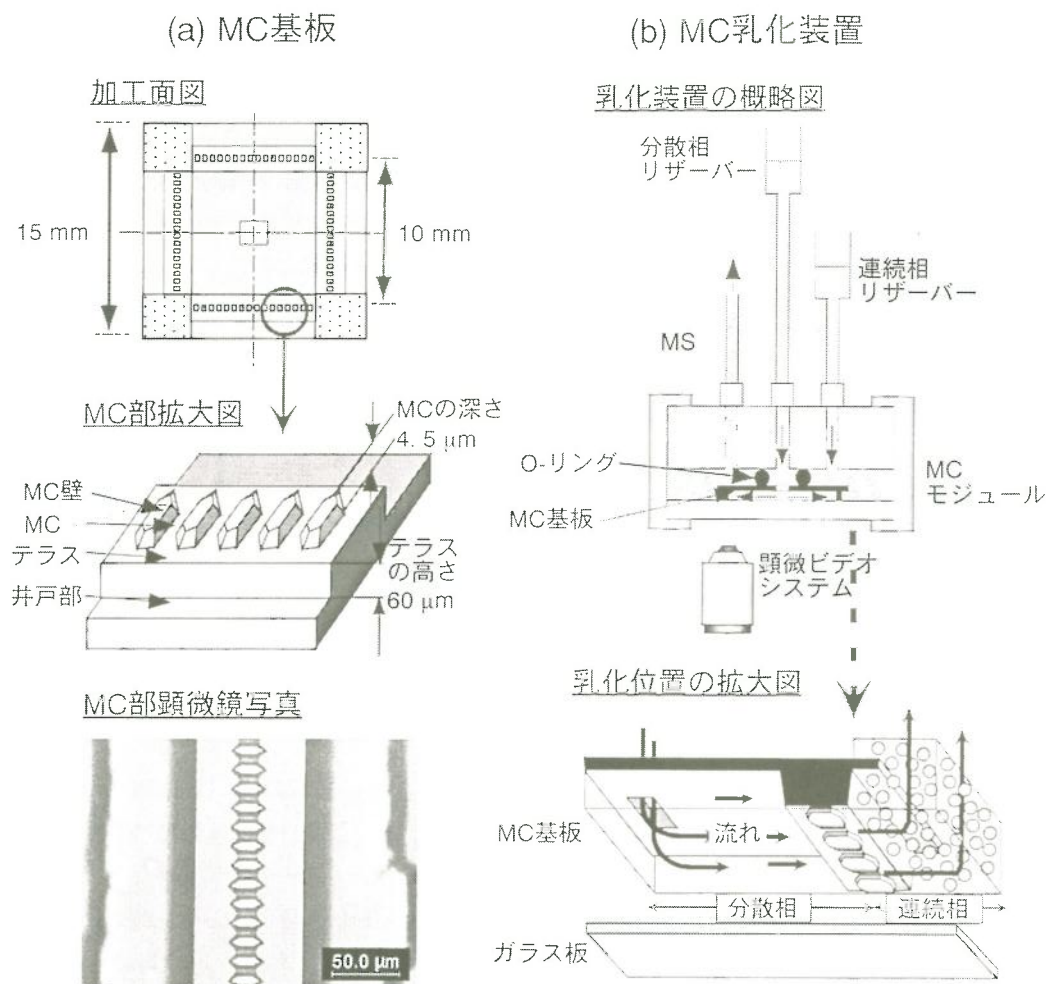


図1 MC乳化システム

ルー圧力と呼ばれるある圧力に達した際、分散相がMCを通過してO/W(oil-in-water)-MSの作成を開始する。現在MC乳化法では、MC周辺の形状、サイズを変化させることにより、平均液滴径 $5 \sim 50 \mu\text{m}$ 、変動係数((標準偏差/平均液滴径) $\times 100$)5%以下の単分散MSの作成が可能である^{1) 5)}。また、高温でMC乳化を行って得られた高融点天然油脂を分散相とするO/W-MSを冷却・凍結乾燥することにより、粉末状の単分散脂質微粒子の調製も可能となっている⁶⁾。また、シランカップリング試薬などで疎水化処理を施したMC基板を使用することにより、W/O-MSの作成も可能である。実際に、分散相として水、連続相として界面活性剤を含むヘキサン等の飽和炭化水素を使用した場合において、平均液滴径約 $20 \mu\text{m}$ の単分散W/O-MSが

作成されている⁷⁾。またMC乳化法では、テラス部で歪んだ形をした分散相が、界面張力により井戸部で球形になろうとする力が剪断力となって自発的に均一な液滴が作成されると考えられている⁸⁾。

次に、MC乳化に関与する操作因子について述べることにする。まず、分散相供給圧力の影響に関して、安定なMC乳化が可能な系の場合では、ブレイクスルー圧力以上のある圧力範囲内において、MSの液滴径およびその分布は分散相圧力の影響をほとんど受けないことが明らかとなっている。しかし、さらに分散相圧力を増加していくと、大きな液滴の作成や分散相が連続相中に流出する現象が観察されるようになる⁹⁾。また、MC乳化における添加する界面活性剤の影響も検討されている⁸⁾。アニオン性界面活性剤や乳化能が

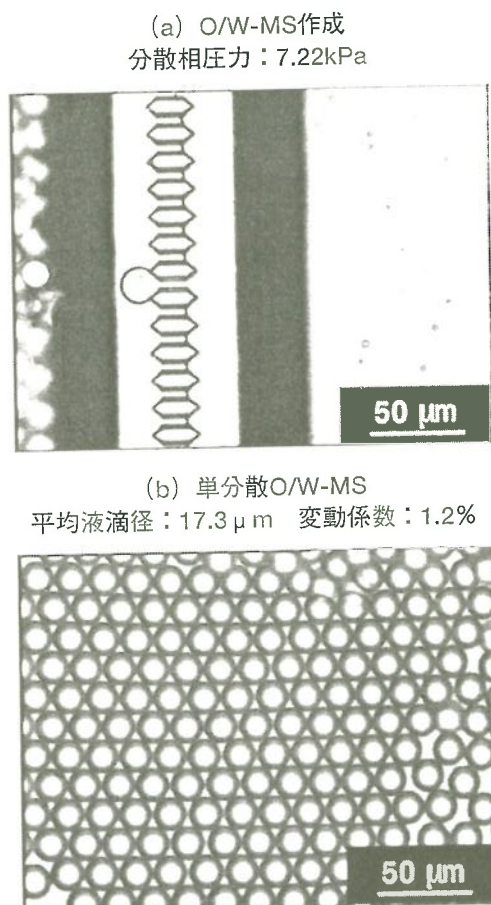


図2 MCを用いたMS作成挙動

高い非イオン性界面活性剤を使用した場合に、MC乳化が安定的に行われることが明らかとなっている。このようにMC乳化では、シラノール基により負に帯電している基板表面の親水性を保持し続けることができる界面活性剤の選択することが重要な条件となる。

4. 貫通型マイクロチャネル乳化システム

貫通型MC乳化法で使用する貫通型MC基板は、チャンネルの集積度が高いためMC乳化法と比べて生産性が高いという利点を有している⁹⁾。貫通型シリコンMC基板の模式図を図3(a)に示す。本基板は、フォトリソグラフィ、高密度プラズマエッチングによる貫通孔の作製、基板全体への酸化膜形成プロセスを経て作製される。貫通型MCは、基板中央部10mm四方内に約1万個形成されている。

基板端部には分散相を供給するための貫通孔が2ヶ所形成されている。我々は上記のプロセスにより、均一な貫通型MCの作製に成功している(図3(a))。貫通型MC乳化装置と装置内でおこる乳化の概略図を図3(b)に示す。貫通型MC基板はモジュールの中で2枚のスペーサーの間に設置される。モジュール内に供給された分散相が貫通型MCを通過することにより液滴が作成され、作成された液滴は制御された連続相の流れにより回収される。

5. 貫通型マイクロチャネル乳化特性

貫通型MC乳化の一例として、長方形の断面を有する貫通型MC(相当直径17.3 μm)を使用した場合におけるO/W-MSの作成の様子を図4に示す。この時、分散相として大豆油、連続相として0.3wt% SDS水溶液を使用した。MC乳化の場合と同様に、分散相圧力がブレイクスルー圧力に達すると、分散相が貫通型MCを通過してO/W-MSの作成を開始する。この貫通型MCを用いることにより、平均液滴径32.5 μm、変動係数1.5%と非常に均一なO/W-MSを作成することができる。この場合において、連続相の流れが全くない場合においても単分散MSが作成されることが顕微鏡観察により確認されており、長方形の貫通型MCでは均一なO/W-MSが自発的に作成されることが明らかとなっている。

また、主要な操作因子の一つである分散相圧力が貫通型MC乳化に与える影響についても紹介する。分散相供給圧力の増加に伴い、液滴を作成する貫通型MCの総数および液滴の生産速度も増加していき、最大で数ml/hの生産速度での液滴の作成が観察されている。また、ブレイクスルー圧力以上のある圧力範囲内では、エマルションの液滴径およびその分布は圧力の影響をほとんど受けないことが明らかとなっており、本貫通型MCでは広い圧力範囲において単分散MSの作成が可能であることが実験的に示されている。

上と同じ乳化系において、歪みのない円形

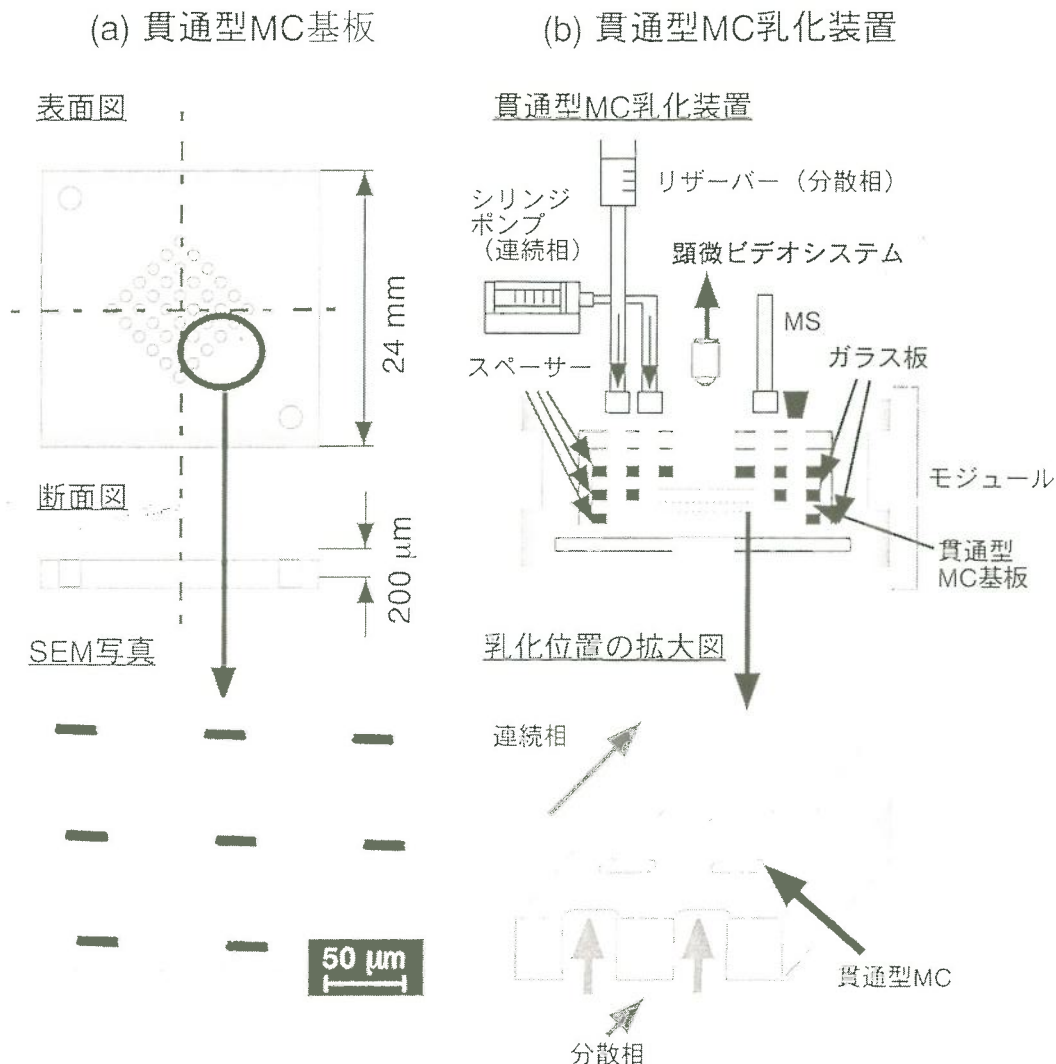


図3 貫通型MC乳化システム

の断面を有する貫通型MC(相当直径 $11.2\mu\text{m}$)を使用したO/W-MSの作成も試みている¹⁰⁾。しかしこの場合は、液滴の剪断や離脱には連続相の流れによる剪断応力が必要であった上に、作成されたMSも多分散であった。これより、貫通孔の断面を歪みを持つ形状にすることが単分散MSの作成に必要であることが明らかとなり、非常に興味深い知見である。

6. おわりに

本稿では、微細加工技術を駆使して作製されるMC基板や貫通型MC基板を乳化デバイスとして使用した単分散MS作成特性について解説してきた。上記の乳化デバイスは、形状および大きさを高精度で制御することがで

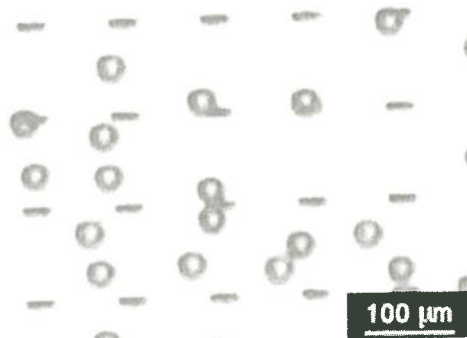
き、乳化デバイスの影響に関する知見の体系化が進めば、目的の大きさや分布のMSに合わせた乳化デバイスのオーダーメイドが可能となりうるであろう。また、これらの乳化法を使用して作成したMSを出発材料とすることで、高機能な高分子微粒子、マイクロカプセル、多相エマルジョン、リポソームなどの創製の可能性を有しており、食品・医薬品・化成品等の諸分野での新規用途の展開が大いに期待される。

本研究は生研機構基礎研究事業の助成を受けて行われた。

文献

- 1) McClements, J. D. (1999), Food Emul-

(a) 分散相圧力：1.80kPa
連続相流速：0.46mm/s



(b) 分散相圧力：10.8kPa
連続相流速：0.46mm/s

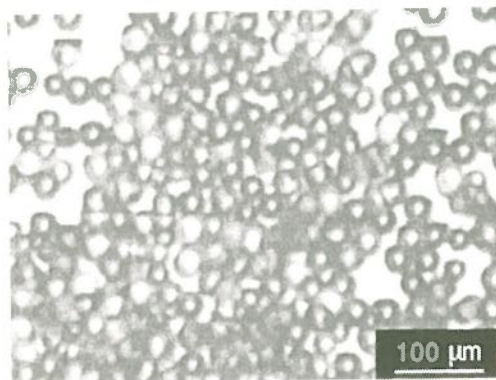


図4 貫通型MCを用いたMS作成挙動

sions : Principles, Practice and Techniques, CRC Press, London

- 2) T. Kawakatsu, et al (1997), J. Am. Oil Chem. Soc., 74, 317-321
- 3) I. Kobayashi et al (1999), Food Sci. Technol. Res., 5, 350-355
- 4) I. Kobayashi et al, J. Am. Oil Chem. Soc., accepted
- 5) T. Kawakatsu, et al (1999), J. Chem. Eng. Chem. Jpn., 32, 241-244
- 6) S. Sugiura et al (2000), J. Colloid and Interface Sci., 227, 95-103
- 7) T. Kawakatsu et al (2001), Colloids and Surfaces A, 179, 29-37
- 8) J. Tong et al (2000), J. Surfactants and Detergents, 3, 285-293
- 9) 小林 功ら (2000), 化学工学会第33回秋季大会講演要旨集, G122
- 10) 小林 功ら (2001), 化学工学会第66年会講演要旨集, M124



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内

第 85 号

2001 (平成13) 年 5 月15日発行

総 説

情報化時代の水稲冷害対策技術 鳥越洋一

国内情報

イネの形態シミュレーション 渡邊朋也

C3植物へのC4光合成回路の付与

..... 徳富光恵・松岡 信・趙 徹

匂いセンサを用いた匂いの記録・再生システム

..... 中本高道・森泉豊栄

SPR法による遺伝子の人工合成 土屋佳紀

稚魚にも応用できる高感度自動給餌システムの

開発 鈴木伸洋・山本剛史・島 隆夫

地域の先端研究

イネ種子伝染性病害を防除する生物農薬の開発

..... 市川 健

文献情報

未成熟卵母細胞の凍結保存 (抄訳：横尾正樹)

お茶のサポニンが酵母の耐塩性を破壊する

..... (抄訳：楠田大輔)

黄色い花を作る遺伝子はポリフェノール酸化

酵素のホモログだった (抄訳：清水圭一)

イネの *brassinostroid insensitive 1* 相同遺伝子の

機能欠損は、節間伸長とラミナジョイントの

屈曲を阻害する (抄訳：春原英彦)

日本のタイも残留孤児だった ... (抄訳：清水興介)

海外便り

パデュー大学での1年8ヶ月 西村麻理江

特別情報

BRAIN国際テクノフォーラム「動物のプリオン病

研究の最前線」概要紹介 編集部

◀国内情報▶

生きた植物における水のイメージング

東京大学大学院農学生命科学研究科

中西 友子

水は植物にとってとりわけ重要な意味を持っており、植物中の水の動態を調べることは生きた植物活動研究そのものである。しかし植物における水の知見は非常に少ないことから、我々は水のイメージングという未知な課題に取り組んできた。まず、初めて中性子線を用い植物中の水動態の可視化・解析を行い、次に放射性核種で水を標識しリアルタイムでの水動態を調べ始めている。そこで最近我々が行ってきた水のイメージングの一部を紹介する。

1. はじめに

地球上の全ての物質は有機物質、無機物質を問わず何らかの形で水の影響を受けている。よって環境の変化は水を通して知ることができるだろう。同様に生体でも水を通してその経時変化が示される。若い細胞では水が多く、いわゆる、みずみずしい状態が保たれているが、ひとつの細胞に含まれる水の量は時を経るにつれて徐々に減少する。つまり歳をとる過程とは水分量が次第に減少していく過程、「みずみずしい」状態から文字通り萎びていく過程ともいえるのである。

植物体内における水の動態はまだ知られていないことが多いが、実際に水がどう移動するかは色素などを用いて調べられてきた。酸性フクシンを利用してマツでは螺旋状に水分が移動していくこと、種子ではまず胚軸に、次に種皮の下に水が集まることなどが報告されている。水の動きは直接測定することが困難なことから水に溶解する化学物質の動きで水の動態を推測してきたのである。

しかし、水そのものを直接調べる研究については手法が未発達であることから我々は何とか植物体内の水そのものの動きを調べることができないかと水のイメージングを行ってきた。そして、静的な水の像のみならずリアルタイムにおける水の動きを追うべくポジト

NAKANISHI Tomoko

〒113-8657 東京都文京区弥生1-1-1

ロン放出核種で標識した水を用いた実験も試みてきた。そこでここでは後者のイメージングを中心にその一端を紹介したい。

2. 水のイメージング

中性子線を用いると透過度の差からターゲット物質中の水素、ホウ素などの軽い元素ならびに数種の希土類などの像を得ることができる。植物では元素の存在比から水素の像となるが、生きている植物の80%以上が水であるため水素の像とは水の像、すなわち組織の像とみなして差し支えないことが判ってきている。植物に熱中性子線を照射すると通常見ることができない植物中の水の分布、すなわち組織の像を高い分解能（約20 μm ）で可視化でき¹⁻³⁾、種々の研究に応用してきた。時間ごとあるいは日単位の中性子照射により、種子形成および種子の水分吸収過程⁴⁾、木口材の乾燥過程⁵⁾、ならびに土壤中の根の形態変化とそれに伴う土壤水分動態など⁶⁻⁸⁾の解析を行ってきた（中性子線による水分像は図2の例参照）。

しかし、中性子線を用いた水の可視化では、その時点における静的な水分分布を得ることができるが、リアルタイムの水の動態を調べることはできない。実際に水が動く様子をイメージとして捕らえるためには、水を何らかの方法で標識することが必要である。水に³He粒子を照射すると水分子を構成する酸素原子

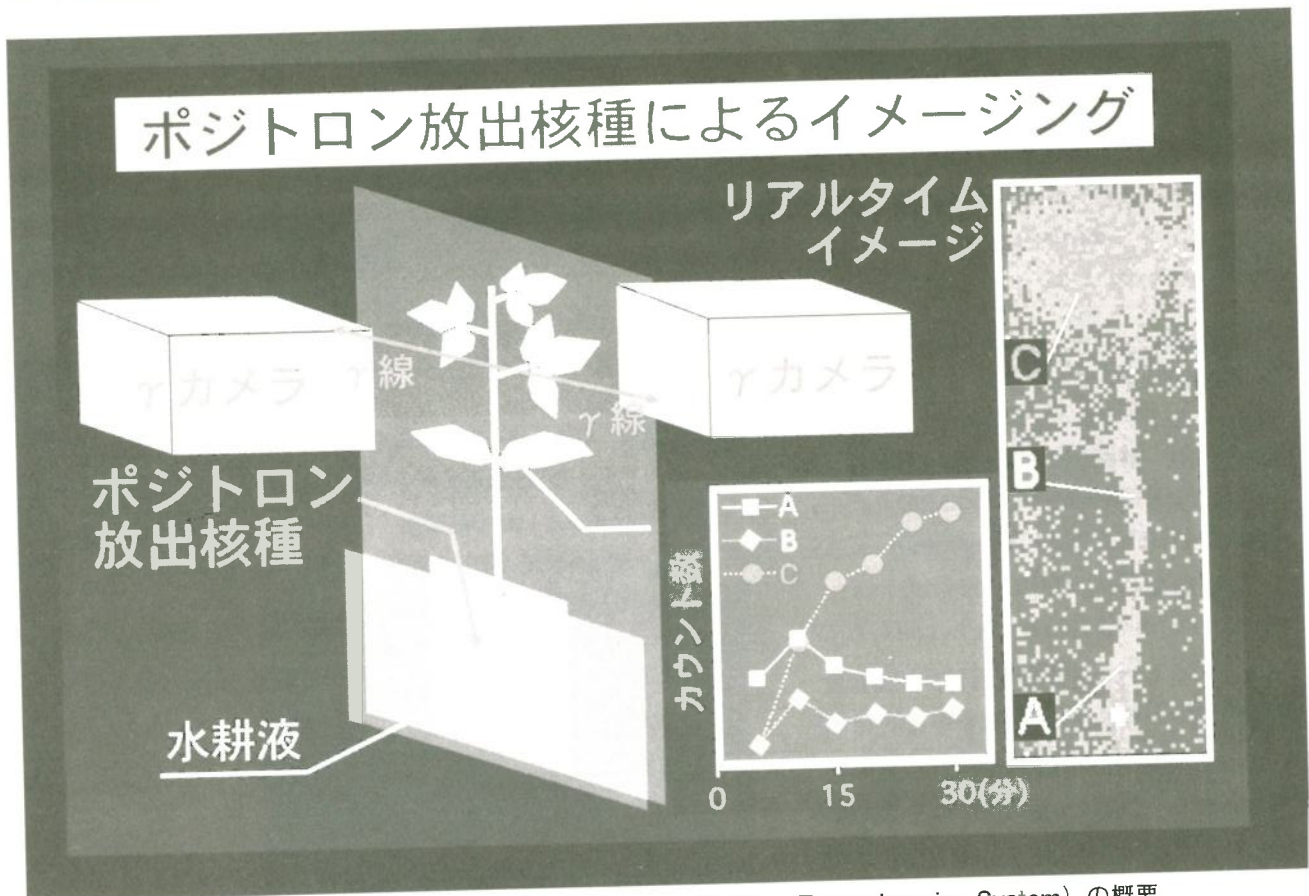


図1 PETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System) の概要

ポジトロン放出核種は消滅する際、180度反対方向に2本のγ線を放出する。そこで、水をポジトロン放出核種で標識して植物に吸収させると、γ線を頼りにリアルタイムにおける水の動きをイメージとしてとらえることができる。

の一部、 10^{-15} ほどの原子が ^{18}F に変換される。 ^{18}F はポジトロン放出核種であり、110分の半減期で減衰するが、消滅する際に180度反対方向に2本のγ線を放出する。このγ線を計測すると植物中の水の動きをリアルタイムで画像化することができる。本手法はPETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System) と呼ばれるがその概要を図1に示した。医療分野では、ポジトロン放出核種の利用はPET法として発展してきているが、植物のような平面のもののイメージングには新たな検出器の開発が必要である。本研究で用いたγカメラ(微小のシンチレーション検出器を並べたもの)の分解能は、このシステムとしては非常に高いがまだ2.4mmほどである。

植物に ^{18}F 標識水を与えたところ、水はまず地上部の最下部の茎を通りその上の節に一

旦留まるが、またその上の茎、次に葉へと移動していくことが連続画像として捉えられるようになった。この画像から任意の点におけるγ線強度を測定するとその箇所の経時的な水分量の変化を知ることができる。そこで、アジア・アフリカの半乾燥地の重要な穀物であるマメ科のササゲ(図2)について調べたところ、茎の一部が貯水組織として機能していること、乾燥処理下でも他の植物と比較して水分吸収活性が非常に高く維持されることなどが示された(図3)^{9, 10)}。

しかし、水の分子数と比較して ^{18}F 原子は 10^{15} 分の1ほどしか存在しないものの、 ^{18}F 標識水が本当に水の動きそのものを示しているのかがこの手法の大きな疑問点であった。つまり、酸素原子から生成されたフッ素原子はF⁻イオンとなるが水分子の動きに追隨しているのだろうかという点である。微量な放射

性元素はラジオコロイドと呼ばれ、マクロの原子とほぼ同じ挙動を示すだろうと推測しているものの断定はできない。そこで、次に、水構成元素の同位体で水を標識することを試みることにした。酸素原子はそのほとんどが ^{16}O で構成されているが、加速器を利用すると ^{15}O を生成することができる。この ^{15}O は ^{18}F と同様、ポジトロン放出核種であるため、 ^{18}F の場合と同じ測定系を用いることができる。しかしこの方法の最大のネックは ^{15}O の半減期が僅か2分という、非常に短時間なことである。 ^{15}O 標識水を製造するためには窒素ガスを重水素ビームで照射し、その中に極僅か生成した ^{15}O 標識炭酸ガスを ^{15}O 酸素ガスに変換させ水中を通す。その際の交換反応により生成した ^{15}O 標識水を植物に吸収させてその移行をみるわけである。半減期が2分ということは、20分で半減期の10倍、つまり放射能は2 10 分の1、1/1000となってしまう測定が困難となる。そのためまずできる限り大量の ^{15}O 標識水を作ること、また測定は20分間とすることとなったが、この20分間で良い実験結果が得られるのだろうか不安であった。

とにかく被爆を覚悟した実験が始まった。結果として問題となるような量の被爆はなかったが、大量被爆が予想される場所は、私を含め、できるだけ若くない人が担当した。驚いたことには ^{15}O 標識水の動きは ^{18}F 標識水と比較してゆっくりであった。やはり ^{18}F 標識水と ^{15}O 標識水の挙動は異なったのである。 ^{15}O 標識水はまるで遊びながらのように茎中をゆっくり上がっていった。20分の測定では下から3番目の茎、つまり、第一本葉と第二本葉の間までは水が上がらず、標識水はほとんど測定できなかった。イメージングプレートを用いたラジオグラフィでは一番下の茎の水だけが検出された(図4)。この実験の最大の利点は、 ^{15}O からの放射能が30~40分も経つとほとんど検出されなくなるということである。つまり同じ植物を用いて何回も同じ実験を繰り返すことができるので、その分実験誤差が少なくなる。朝から始まって夕方ま

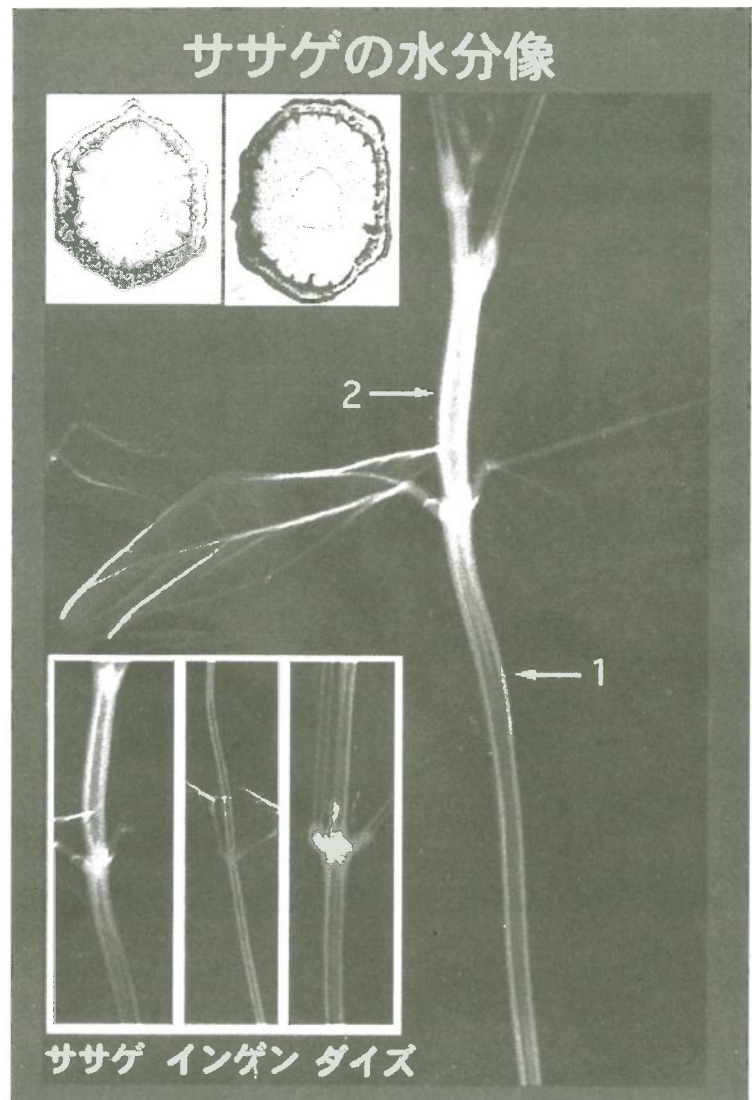


図2 中性子線によるササゲの水分像

植物試料に中性子線を照射すると、水分量が多いところほど中性子線が通り抜けにくいため、より白い像となり水分分布像を得ることができる。ササゲは他のマメ科植物と比較すると、初葉節と第一本葉節の間の水分含量が多く、貯水組織として機能していることが確かめられた。本貯水組織は他のマメ科植物と比較して(下図)ササゲ特有のものであり、一節下の茎と比較すると柔組織は発達しており個々の細胞が大きくなっている(上図)。

で経つと不思議なことが判った。植物は朝7時には明るくし夜7時からは暗い条件で生育させている。昼間の条件は一定なのに昼間、午後1時~3時ごろが最も水分吸収活動が高い時間帯なのである¹¹⁾。夕方になると活性が低くなるのかあまり水分を吸収しなくなる。植物は非常に規則的な生活を送っているのである(図5)。生きた植物の活動は決まった時間に実験を行わないと再現性が示されない

ササゲとインゲンの水分吸収能

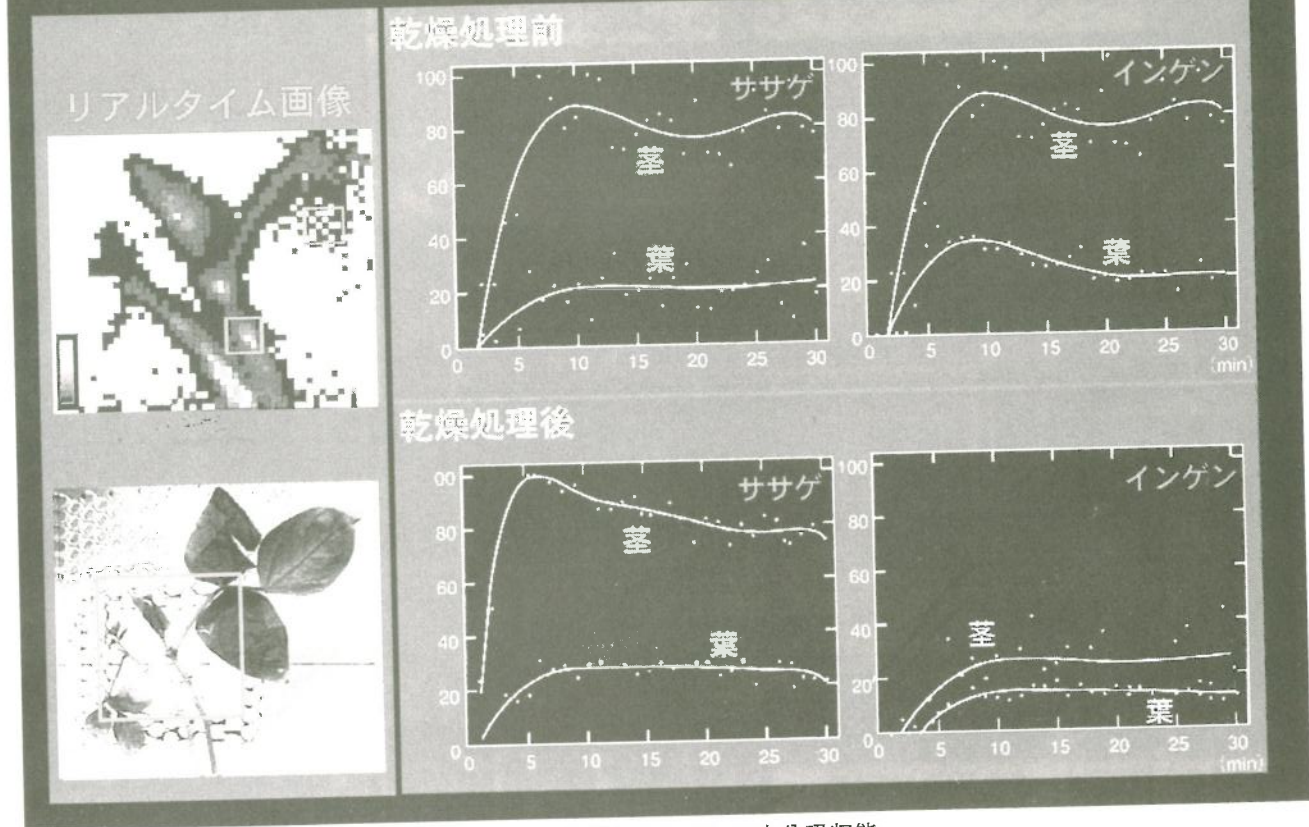


図3 ササゲとインゲンの水分吸収能

ポジトロン放出核種である、 ^{18}F で水を標識し、ササゲに1分間だけ吸収させ水分動態をPETIS法にて測定した。ササゲの貯水組織の茎および葉における水分吸収の変化をインゲンの場合と比較すると乾燥処理後もササゲの水分吸収能が高いことが示された。

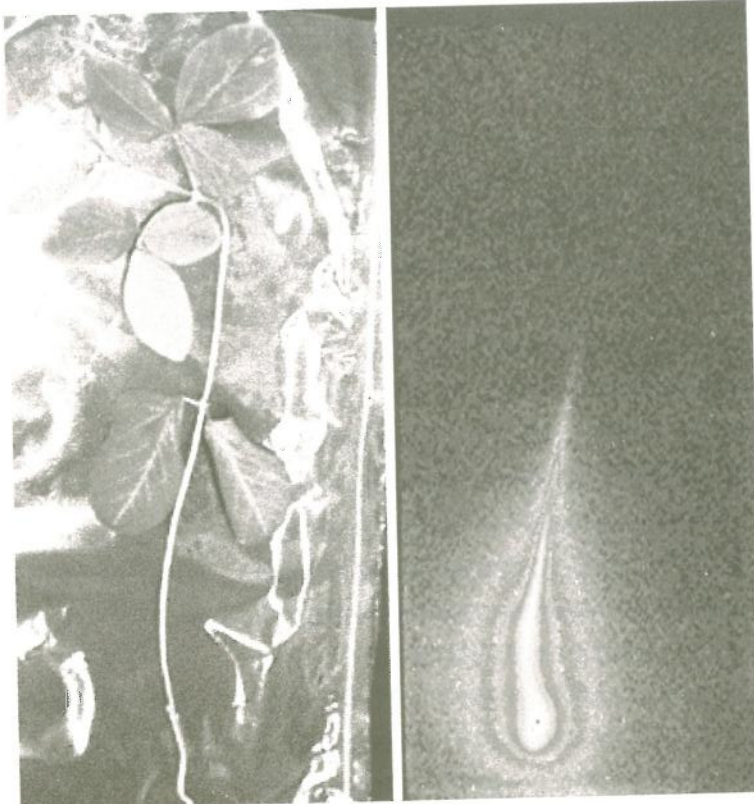


図4 植物に吸収された ^{15}O 標識水のBAS像

^{15}O 標識水を5分間根から吸収させ根を切り取った後（根には多量の ^{15}O が存在するためバックグラウンドが高くなる）10分間イメージングプレートに露光させたものである。半減期補正は行っていないが、 ^{15}O 標識水のほとんどは第一本葉（矢印）より上には移動していないことが示されている。

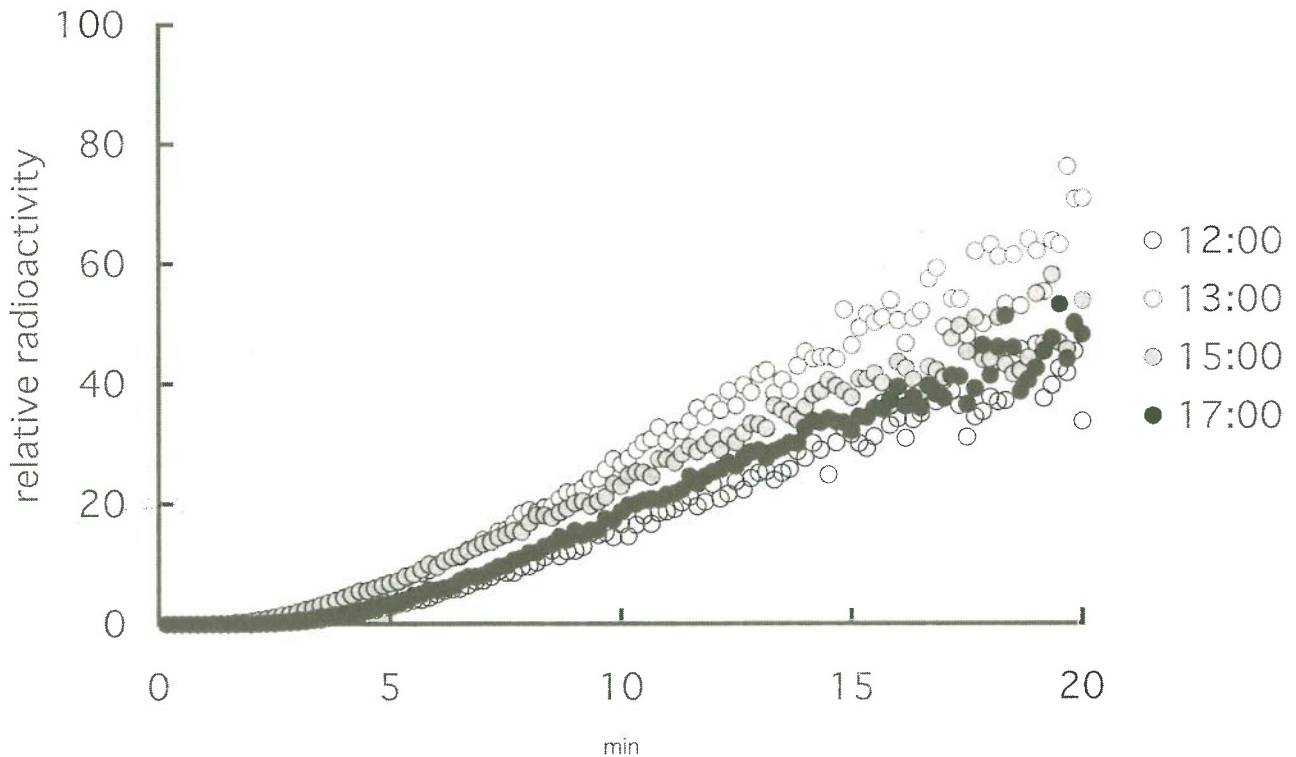


図5 ダイズにおける ^{15}O 標識水の吸収動態の日周変化

ダイズに ^{15}O 標識水を与え続けながら地上部への水の移行を調べた。ダイズの地上部の最下部の茎(根と初葉間)への水分移行は午後1時が最も高いことが示された。

ことが示唆されたのである。現在、本PETIS法を用いた水の動態研究をさらに進めている最中である。

3. おわりに

我々は水の可視化のためまず中性子線を用いた水のイメージングを重ねて行ってきた。同法ではここでは述べなかったが2次元の像のみならずCT断面像を積み重ねた3次元的水分布、特に土壌中の根極近傍の水分量の変化、すなわち根の部位による活性変化が明らかとなってきた。そして次にリアルタイムの水の動態を調べるためPETIS法を試みてきた。いずれの手法においても生きた植物の活動を何とか知ることができないかが発想の原点であった。また、ミクロな因果律がマクロでも成り立つかという疑問も常に抱いている。水の動きに代表された、生きた植物の活動とは遺伝子発現に頼る解明から離れた日常の植物の活動である。この活動の中に我々人

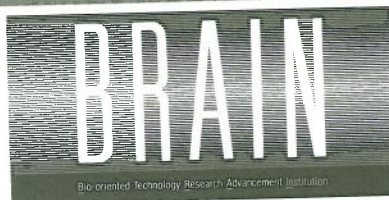
間に例えれば脳の働きのような、まだ知られていない生理活動が存在するように思える。我々は水と平行して植物生育過程の元素動態も調べているが、その結果、一つの植物個体中の元素の動態にもきちっとしたリズムがあり、また全生育過程を通して異なる組織間の濃度差のみならず一つの組織内の濃度勾配がシステムティックに保たれていることが判ってきている。動物のように中枢神経系を持たない植物の分散系における個体全体の統合性の保持、ホメオスタシスの有様を調べるためには、水と元素の動きが一つの切り口になると考えられる。

最後に、これらの研究を進める上でお世話になっている日本原子力研究所ならびに浜松ホトニクス株の연구원の方々に深く感謝の意を表したい。

文献

- 1) Nakanishi, T.M. et al. (1997), J. Plant

- Phys. 151, 442-445
- 2) 中西友子(1998), 化学と生物, 36, 789-797
- 3) 中西友子(2000), 原子力eye, 46, 84-88
- 4) Nakanishi, T.M. et al. (1997), Bioimages, 5, 45-48
- 5) Nakanishi, T.M. et al. (1998), Holzforschung, 52, 673-676
- 6) Nakanishi, T.M. et al. (1993), Radioisotopes, 42, 30-34
- 7) Nakanishi, T.M. et al. (1999), Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. A424, 136-141
- 8) Furukawa, J., Nakanishi, T.M. et al. (2001), Nondestr. Test Evaluation, 16, 335-343
- 9) Nakanishi, T.M. et al. (1999), J. Radioanal. Nucl. Chem., 242, 353-360
- 10) 中西友子 (1998), 放射線と産業, 80, 21-25
- 11) Nakanishi, T.M. et al. (2001), Radioisotopes, 50, 163-168



ブレイン テクノニュースの
バックナンバーご案内
第 84 号

2001 (平成13) 年 3 月15日発行

総 説

- マックベースクロニング法による
イネの遺伝子解析 ……矢野昌裕
- 国内情報
- 遺伝子破壊を利用したイネの機能解析 ……廣近洋彦
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 ……有村源一郎・高林純示
- 味覚センサーを用いた食品の味の
識別と定量化 ……都甲 潔
- 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 ……大越勝広・徳永智之
- DNA分析による放流ヒラメの
出身地の特定 ……藤井徹生
- 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 ……荒川昭弘

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 ……(抄訳：木村直子)
- 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 ……(抄訳：王 茜)
- 植物ゲノム初の完全解読なる ……(抄訳：岩井純夫)
- 細菌は、付着生物の初期幼体の餌と
成り得るか? ……(抄訳：山本 久)
- 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— ……原田久富美
- 生研機構からのご案内
- 平成13年度募集について

◀国内情報▶

環境負荷化学物質の環境モニタリング及び 環境汚染浄化を目的とした遺伝子組換え植物

神戸大学・遺伝子実験センター
大川 秀郎

環境負荷化学物質、即ち、ダイオキシン類、環境ホルモン、残留農薬などを特異的に認識する受容体及びそれらを介した遺伝子誘導発現系あるいは化学物質応答性プロモーターを用いて、(1) レポーター遺伝子(花の色素合成遺伝子など)または(2) 薬物代謝酵素遺伝子を誘導発現する遺伝子組換え植物を作出して、それらを、(1) ダイオキシン類、(2) 環境ホルモン、(3) 残留農薬などの環境モニタリング及び環境汚染浄化のために実用化する。

1. はじめに

「環境負荷化学物質」、即ち、環境において安定で長期に残留して生態系や人の健康に影響を与えることが心配されている化学物質にはダイオキシン類、環境ホルモン、残留農薬などがある。これらによる土壌、水質、農産物などの汚染の拡大は深刻な問題であり、これらの問題に対処する新技術の開発は早急に取り組むべき緊急課題である。

現在、環境負荷化学物質のモニタリングは、主に、多数の広範囲にわたるサンプリングとそれらの機器分析によって行われているが、機器分析は時間と経費が掛かり、それに変わる高感度、迅速、安価な測定法が求められている。一方、環境負荷化学物質による汚染の除去は物理化学的方法や微生物などを用いる方法が試みられているが、極低濃度の広範囲にわたる汚染の除去には新たな技術開発が必要である。とりわけ、環境モニタリングや環境汚染浄化には生物機能に基づいた新技術開発がパブリックアクセプタンスを得やすいと考えられる。

生物には環境負荷化学物質のような外来脂溶性化学物質を認識して除去する機能がある。例えば、ダイオキシン類は細胞内に侵入するとダイオキシン受容体(AhR)に結合して、それが薬物代謝酵素遺伝子の5'上流にあ

るダイオキシン応答因子(XRE)に作用して薬物代謝酵素を誘導発現し、その酵素の働きによってある種のダイオキシン類が代謝される^{1,2)}。また、外来脂溶性化合物のうちで、女性ホルモンであるエストロゲン様の作用を示す化合物は、エストロゲン受容体(ER)に結合して、それが遺伝子の5'上流にあるエストロゲン応答因子に作用してそれらの遺伝子を誘導発現する³⁾。一方、残留農薬にはそれらを特異的に認識する受容体の存在は知られていないが、それらによってある種の薬物代謝酵素遺伝子が誘導されて、誘導酵素が残留農薬を代謝することが知られている⁴⁾。

こうした受容体やそれを介した遺伝子誘導発現機能並びに薬物代謝酵素は哺乳動物においてよく研究されており、そうした機能が未開発である植物に付与・発現することによって、植物の化学物質応答機能や化学物質代謝機能を高め、そうした新機能性植物を環境負荷化学物質の環境モニタリングや環境汚染浄化に利用することが可能になる。

植物種のなかには、ほふく性のよい品種や根張り性のよい品種があり、こうした植物の機能を利用することによって、広範囲にわたる極低濃度の環境負荷化学物質を吸収・集積することができる⁵⁾。

2. ダイオキシン受容体

ダイオキシン類は脂溶性であって、しかも、

OHKAWA Hideo

〒657-8501 神戸市灘区六甲台町1-1

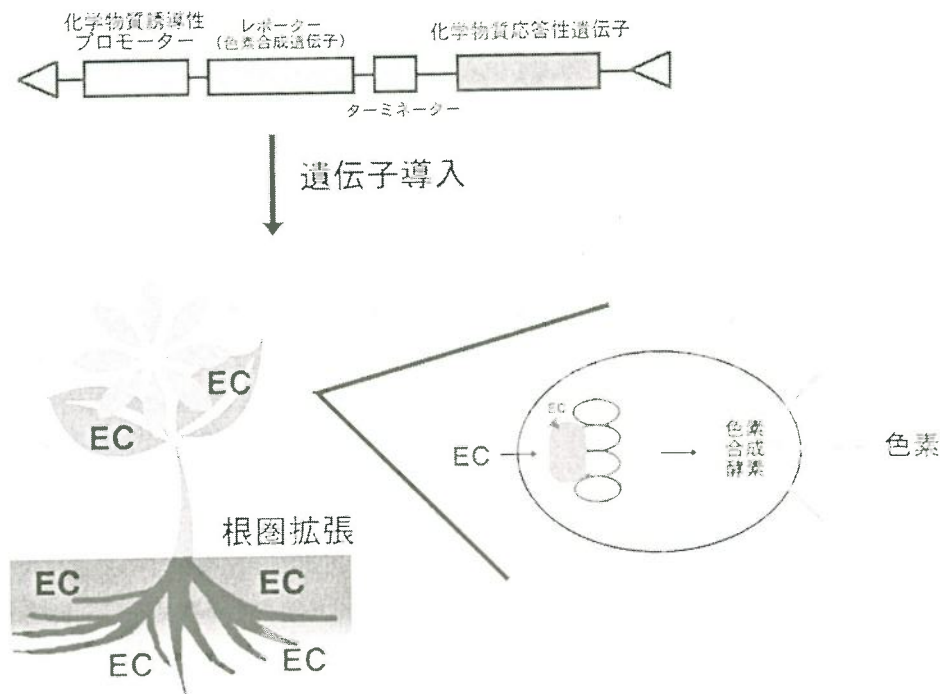


図1 環境負荷化学物質 (EC) の環境モニタリング用植物の作出

環境中において極めて安定であり、これまでのところ、最強の毒性を示す化学物質であると考えられている。ダイオキシン類は動物の体内に侵入するとダイオキシン受容体 (AhR) に結合して、それとArnt (AhRの核移行因子) とが二量体を形成して、薬物代謝酵素遺伝子の5'上流に存在するダイオキシン応答因子 (XRE) に作用して薬物代謝酵素 (CYP1A1) を誘導発現し、薬物代謝酵素はある種のダイオキシン類の代謝に関与していると考えられている。

植物においては、これまでのところAhRの存在は知られていないが、薬物代謝酵素遺伝子の5'上流にXRE様の配列が存在することが知られている。そこで、植物に、AhRとそれを介した遺伝子誘導発現系を付与し、その制御下で、(1) レポーター遺伝子 (花の色素を合成する遺伝子など) (図1) 及び (2) 薬物代謝酵素遺伝子 (図2) を誘導発現する遺伝子組換え植物を作出する。そのような植物はダイオキシン類に曝露すると、ダイオキシン類に応答して (1) レポーター (花の色素) または (2) 薬物代謝酵素を発

現することによって、ダイオキシン類をモニターする、または、ある種の化合物を代謝分解することができる。

植物にはほふく性のよいまたは根張り性のよい品種があるので、それらにこうした機能を付与・発現すると、広範囲から極低濃度のダイオキシン類を吸収・集積することができ、環境モニタリングや環境汚染浄化に有用である。

3. エストロゲン受容体

外因性内分泌攪乱物質 (ED), いわゆる「環境ホルモン」は動物の体内に取り込まれると、正常なホルモン作用に影響を与える化学物質である。それらのうち、女性ホルモンであるエストロゲン様の作用を示す化合物は、エストロゲン受容体 (ER) に結合し、それが遺伝子上流域に存在するエストロゲン応答因子に作用して様々な遺伝子を誘導発現する。植物においてはERの存在は知られていないが、外来物質で誘導発現する遺伝子の5'上流にはエストロゲン応答因子様配列の存

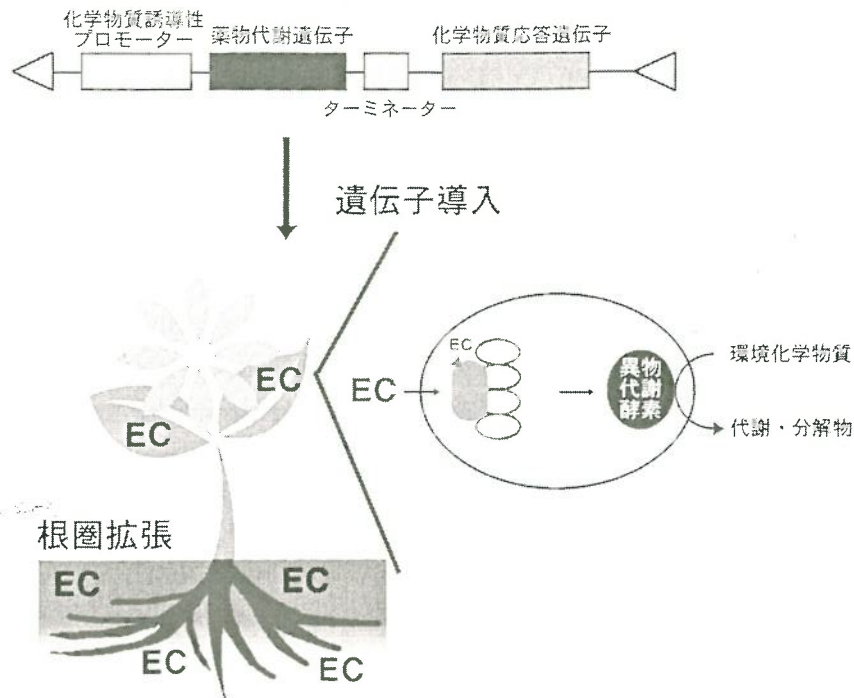


図2 環境負荷化学物質 (EC) の環境汚染浄化作物の作出

在が知られている。

最近、ロックフェラー大のNam-Hai Chuaらは⁶⁾ ERを介した遺伝子誘導発現系を付与した植物を作出し、それに、 β -エストラジオールなどを処理すると、 β -エストラジオールに応答してレポーター遺伝子を誘導発現することを報告している。このERを介した遺伝子誘導発現系を用いて (1) レポーター遺伝子または (2) 薬物代謝遺伝子を誘導発現する遺伝子組換え植物を作出することによって、これらをエストロゲン様化学物質のモニタリング、あるいは、それらの代謝分解に利用することができる。

4. 薬物代謝酵素

植物には除草剤の代謝に係わる薬物代謝酵素の存在が知られており、これらは除草剤選択性・抵抗性に重要な役割を果たしている。最近、除草剤の代謝に係わるチトクロームP450遺伝子 (CYP) の数種がクローニングされ、それらの機能が明らかになった。

タバコS 401細胞を2,4-Dで処理すると除草

剤クロロトルロンを代謝する活性が上昇する。そこで、タバコS 401細胞を2,4-D処理した後、cDNAライブラリーを作製して、それから新規P450cDNAをクローニングした。それらの内、CYP71A11は除草剤クロロトルロンのN-脱メチル化を触媒することが判明し、本P450分子種は除草剤選択性・抵抗性に重要であると考えられる。

一方、タバコS 401細胞では、2,4-Dやその他の化学物質を処理するとCYP71A11遺伝子の転写が促進されることが判明した。そこで、タバコCYP71A11遺伝子の5'上流域1.6kbをクローニングしたところXRE様配列やER様配列の存在が明らかになった。

本プロモーターの下流にレポーター遺伝子 (緑色蛍光蛋白質, GFP) を結合してタバコに導入すると、トランスジェニックタバコは化学物質の処理によって特異的にGFPを発現した⁶⁾。

さらに、本プロモーターの下流に薬物代謝型CYP2C19のcDNAを接続して導入したトランスジェニックタバコは、除草剤クロロトルロンの処理によってCYP2C19を特異的に

発現し、CYP2C19はその基質である除草剤ピリブチカルブを代謝することが判明した。

即ち、CYP71A11は除草剤クロトルロンに応答して特異的に誘導されて除草剤を代謝する、除草剤選択性・抵抗性に係わる遺伝子であり、本化学物質応答性プロモーターは除草剤の環境モニタリング、環境汚染浄化に有効であることが判明した。タバコCYP71A11のほかにも、シロイヌナズナのCYP71B11、イネのCYP72A18、CYP72A21などを取得した。これらについてもCYP71A11と同様な機能が期待できる。

5. おわりに

環境負荷化学物質の環境モニタリング及び環境汚染浄化を目的とした遺伝子組換え植物の実用化に関する開発研究はまだはじまったばかりである。これまでに、除草剤、環境ホルモンなどを代謝するP450分子種を選定して、それらを、タバコ、バレイショ、イネなどに付与・発現することによってトランスジェニック植物を作出し、それらが、除草剤、環境ホルモンなどを代謝して、除草剤耐性を示し、また、残留農薬低減効果を示すことを明らかにした^{4, 5, 8)}。こうした遺伝子組換え作物は環境負荷化学物質に対する安全性確保に有効である。今後、遺伝子組換え植物を用いてこうした環境問題を解決することは、遺伝子組換え植物の将来の方向の一つとして極めて重要である。

文 献

- 1) James P. Whitlock, Jr., (1999) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **39**, 103-125
- 2) 三村純正, 藤井義明, (2000) *実験医学*, **18**, 737-746
- 3) 西川淳一, 今川正良, 西原力, (2000) *実験医学*, **18**, 731-736
- 4) H. Ohkawa, H. Imaishi, N. Shiota, T. Yamada, and H. Inui, (1999) *Pesticide Chemistry and Bioscience, The Food-Environment Challenge* (G. T. Brooks and T. R. Roberts, Eds), pp. 259-264, The Royal Society of Chemistry, Cambridge
- 5) 大川秀郎, 乾秀之, 大川安信, “植物と微生物による環境修復”, pp. 27-48, 日本土壤肥料学会編, (2000), 博友社
- 6) J. Zuo, Q.-W., Niu, and N.-H. Chua, (2000), *The Plant J.*, **24**, 265-273
- 7) J. Zuo, Q.-W., Niu, S.G. Møller and N.-H. Chua, (2001), *Nature Biotech.*, **19**, 157-161
- 8) H. Ohkawa, H. Inui, Y. Imajuku, H. Imaishi, and Y. Ohkawa, (2001), *Agrochemical Discovery, Insect, Weed, and Fungal Control*, ACS Symposium Series 774. (D. C. Baker and N. K. Umetsu, Eds), pp. 116-126, American Chemical Society, Washington, D.C.

◀地域の先端研究▶

完熟収穫型単為結果性トマト 「試交99-2」の育成

愛知県農業総合試験場 園芸研究所
大 藪 哲 也

完熟収穫に適して食味が優れ、ホルモン処理やマルハナバチによる交配などの着果作業が不要な単為結果性のトマト新品種を榊サカタのタネと共同開発した。本品種は、低温期、高温期とも安定した単為結果性を示し、栽培の省力化と低コスト化が期待できる。また、糖度が比較的高く、安定しており、完熟のおいしいトマトを求める消費者の嗜好に適する。さらに、萎ちょう病（レース1）、根腐萎ちょう病及びタバコモザイクウイルス（Tm-2a / +）に抵抗性を有し、環境にやさしい減農薬栽培、安全なトマト生産に寄与する。

1. はじめに

トマトが結実するためには、受粉、受精が完全に行われる必要があり、近年、農業生産の現場では、訪花昆虫であるマルハナバチの放飼による受粉が行われている。しかし、受粉しても、花粉の稔性が低く受精が困難な場合には、花房に外部から合成オーキシンを与え、子房内のホルモン濃度を高め、結実を誘導促進するホルモン処理が行われている。

マルハナバチの利用は省力効果が大きいですが、導入価格が高く、農薬散布にも様々な制限が伴う。また、生産施設内の温度を夜間は花粉稔性を維持するために13℃以上、昼間はマルハナバチの活動適温である28℃以下に制御する必要があり、温度条件によっては、着果が不安定となりやすい。

ホルモン処理作業は、全花に行う必要があり、花房当たりの着生花数が多いファースト型やミニトマトの品種等では、各花房の花が順次開花するのに合わせ、頻繁な処理作業が必要で、生産農家の労力負担が大きい。また、トマトの生理的状态や処理条件によっては、果肉のゼリー部が充実しない空洞果や、果形や果肉が異常を示す奇形果が発生し、商品価値が低下することがある。

こうしたマルハナバチの利用、ホルモン処

理の問題点を解決し、トマト栽培の省力化、低コスト化を実現するため、愛知県農業総合試験場では、1994年に、特産トマト品種のファーストで、遺伝的に単為結果性を示す「ラークナファースト」を育成した。さらに、今回完熟トマトへの消費嗜好の高まりの中で、食味が優れ、完熟収穫が可能な品種の育成を榊サカタのタネと共同で進め、2000年6月完熟収穫型単為結果性トマト品種「試交99-2」（商品名「ルネッサンス」）を開発した。

理の問題点を解決し、トマト栽培の省力化、低コスト化を実現するため、愛知県農業総合試験場では、1994年に、特産トマト品種のファーストで、遺伝的に単為結果性を示す「ラークナファースト」を育成した。さらに、今回完熟トマトへの消費嗜好の高まりの中で、食味が優れ、完熟収穫が可能な品種の育成を榊サカタのタネと共同で進め、2000年6月完熟収穫型単為結果性トマト品種「試交99-2」（商品名「ルネッサンス」）を開発した。

2. 単為結果性の遺伝子

わが国に導入された品種・系統の中で、単為結果性を示すものは、「Santiam（アメリカ、オレゴン州立大学）」、「Oregon Spring（同）」、「819-91（オランダ、スライス・ゲート社）」、「Miri（大阪府大）」などがあり⁴⁾、単為結果性遺伝子は、pat-1～pat-5が知られている。当場の育成品種「試交99-2」、「ラークナファースト」は、いずれもロシアの「Severianin」が有する単為結果性遺伝子 pat-2を、オランダで「Money Maker」に導入し、さらに改良を加えたLS-935（野菜茶試育成）から導入している。この遺伝子は劣性であるが、ホモに有する個体では、その発現は安定的で、各花房とも開花後自然に結実して肥大するので、実用場面では、着果処理作業の省力効果が期待される⁵⁾。

3. 単為結果性の発現

単為結果性品種「試交99-2」は、ホルモン処理やマルハナバチの放飼による受粉が不要で、放任状態でも安定して連続着果する。通常のとまと品種における受粉後の果実肥大は、柱頭に付着した花粉に含まれる少量のオーキシンが子房内のオーキシン生成を誘起する。さらに、受精が完了して種子が形成されると、胚乳や胚からのオーキシン生成が旺盛となり、果実の発育はいっそう促進される³⁾。

一方、pat-2遺伝子を有する単為結果性トマトは、花粉や胚珠などの花器、生殖細胞は形質的にも機能的にも正常で、受精すれば他の品種同様種子を形成する。しかし、通常のとまと品種と異なり、種子が形成されてもそれからのオーキシン生成は果実の肥大にほとんど影響を及ぼさないことが知られている。池田⁴⁾らは、単為結果性ナスで、受粉、受精にかかわりなく、子房の内生IAA含量が高く



図1 「試交99-2」の着果状況

維持されていることにより、果実肥大に必要なオーキシン量が十分に満ち足りていることを報告している。単為結果性トマトの場合、開花前から子房が肥大を開始しており²⁾、種子形成の有無にかかわらず、内生オーキシンレベルが上昇し、果実肥大が進むと考えられている。

4. 「試交99-2」の特性

「試交99-2」は、pat-2遺伝子をホモに保有し、完熟収穫型の果実形質とFusarium病及びタバコモザイクウイルスに抵抗性を示すF₁品種である。

(1) 単為結果性の経済効果

単為結果性を示すので、ホルモン処理、マルハナバチの放飼が不要で、低温期、高温期ともに安定して連続着果する(図1)。したがって、トマト栽培の全労働時間の約7~10%を占めるホルモン処理作業を省くことが可能となる。さらに、ミニトマト栽培では、ホルモン処理作業の経費は、労賃を入れて10a当たり年間約15万円、マルハナバチの放飼では同じく約14万円必要と試算されている⁴⁾が、そのコストが削減可能となる。



図2 「試交99-2」の果実

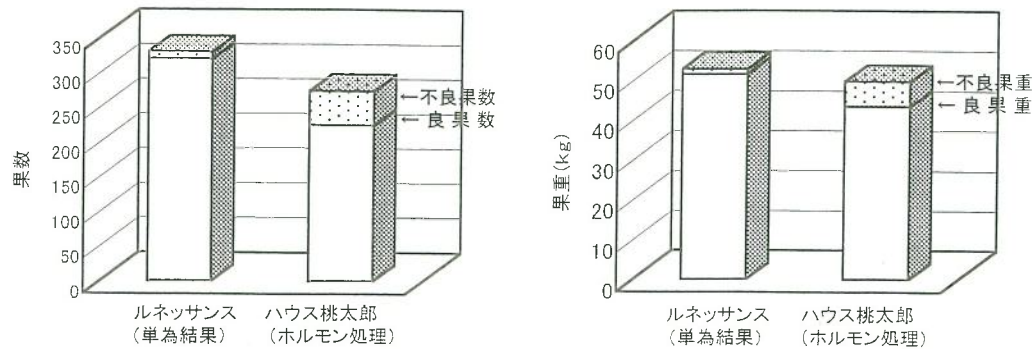


図3 早春から初夏にかけての「試交99-2」の収量性（半促成栽培・10株当たり）

(2) 果実特性

単為結果した本品種の果形は球形で、果重は160～170gである。果形の悪いものや、ゼリー部の発育が悪い空洞果の発生は極めて少ない。また、果実の着色の進み方もスムーズで、完熟状態では、果実の色は鮮やかな濃赤色となる。種子はなく、子室数は5～6室である（図2）。低温寡日照期や無機栄養成分の吸収力が衰え、草勢が衰えるとこの品種の場合、果頂部がとがりやすくなるが、単為結果性とは関係がない。品質面では、糖度がいずれの栽培時期あるいは栽培方法でも高く、酸度は他のトマト品種とほぼ同程度であり、食味は優れている。

(3) 収量特性

連続的に着果するので、収量性は安定している。愛知県下の試作では、低温期から高温期にかかる半促成栽培では、「試交99-2」の良果果数は、従来の完熟型品種と比べるとかなり多い特性を示す。また、良果重も、果数に比例して重くなる（図3）。さらに、夏季冷涼な中山間地の夏秋栽培でも降雨を避ける

ための簡易ハウスを利用すれば、収量が安定して多い結果が得られている。しかし、極端に高温期には種では収量性に変動がみられる。

(4) その他の品種特性

耐病性は、Fusarium菌による萎ちよう病（レース1）及び根腐萎ちよう病、タバコモザイクウイルス（TMV：抵抗性遺伝子型Tm-2a/+）に抵抗性を有している。

文献

- 1) 池田敬ら (1998), 園学雑67 (2), 123
- 2) 片岡圭子ら (2001), 園学雑70 (1), 100
- 3) 斉藤隆 (1984), 農業技術体系野菜編2, 基95-142, 農文協, 東京
- 4) 斉藤俊久 (1994), マルハナバチ利用技術研究会発表資料, 19-23
- 5) 菅原眞治ら (1990), 愛知農総試研報22, 125-131
- 6) 菅原眞治 (2001), 農業および園芸76 (3), 402-406

◀地域の先端研究▶

生物間相互作用を利用した 土壌細菌群集多様性の簡易診断法

石川県農業総合研究センター

森川千春

農作物の土壌病害の発生予測および発病抑止技術開発のために、土壌細菌群集の多様性を迅速・簡易・安価に診断する生物検定法として「土壌被覆培養法」を考案した。本法は指標菌として白紋羽病菌を植え付けた寒天培地を土壌で被覆して培養し、指標菌の菌叢生育程度から土壌細菌群集の多様性を推定するものである。

1. はじめに

土壌病害が多発する要因の一つとして、連作や化学肥料の多投入により、土壌微生物群集が単純化し土壌の有する発病抑止力が低下していることが考えられる。この単純化を避けるには、有効な輪作体系の確立や有機物施用による土作りを行い土壌微生物群集が有する発病抑止力を誘導・維持する必要がある。また、土壌伝染性の病原菌を根絶するために土壌消毒を行うと、病原菌以外の土壌微生物もともに減少するため、土壌の持つ発病抑止力も一時的に低下する。病原菌の再侵入に対して防衛力が低下しているため、作付けまでに土壌微生物群集の回復をはかる必要がある。

従来、これら発病抑止に関わる土壌微生物群集の多様性を診断するには、専門的な知識・技術、高価な器材、そして時間を必要とし、生産現場において個々の圃場の診断が不可能であった。土壌病害の発生を予測し回避するためには、作物の生育についていけるような“短期間”で、農家が支払うことも可能な“低価格”で、微生物の知識を有しない現場指導者でも調査可能な“簡易な手段”で結果の出せる診断手法が必要である。ここでは、土壌微生物のなかでも、特に細菌群集の多様性の簡易診断法について紹介する。

2. 土壌細菌群集の多様性評価

土壌細菌群集の変化を捉えるにあたって、現時点では、土壌呼吸量、バイオマス、生菌数等の定量的手法による評価が一般的である。しかし、これは土壌細菌群集の機能の“全体量”としてのアウトプットを見ているだけであり、その内訳としての土壌細菌群集の構造はブラックボックスとして残っている。土壌細菌の群集評価には、マクロな生物を対象として開発された“種”と“個体数”に基づく多様性概念を適用することができない。土壌細菌の大多数が種としての名前を持たず、全体数も判然としないからである。そこで土壌細菌の群集評価のために種などの“分類群”に依存しない、新しい基準を用いた多様性評価が試みられてきている¹⁾。すなわち、土壌から抽出されるDNA分子の全配列の多様さに基づく方法²⁾、DNA分子の特定部位をPCR増幅し、得られたDNA断片の配列の多様さに基づく方法³⁾、土壌抽出液の炭素源利用能に基づく方法⁴⁾、土壌から分離される脂肪酸組成の多様さに基づく方法⁵⁾、などである。

ここでは、土壌細菌分離株の炭素源利用パターンに基づいて群集全体の多様性を導き出す方法¹⁾を用いた。種々の炭素化合物の利用能力の差異は、土壌中での養分や生息場所の競合にも関係があると考えたからである。土壌から無作為に分離した20~50菌株を、それぞれBIOLOG社製の炭素源利用能検査パネルに注入し、24時間静置後、95種類の炭素化合

MORIKAWA Chiharu

〒920-3198 金沢市才田町戊295-1

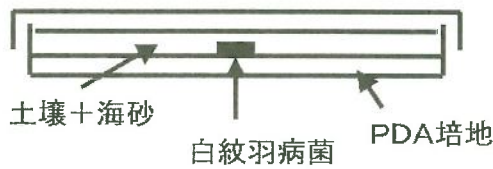


図1 土壌被覆培養法の処理方法

表1 細菌群集の多様性の異なる土壌を被覆培養した白紋羽病菌の菌叢生育

供試土壌	細菌群集の多様性指数	白紋羽病菌の菌叢生育	菌叢生育抑止率
A生土	2,000	6.9mm	73.5%
殺菌土	-	26.0	
B生土	1,200	9.6	62.2
殺菌土	-	25.4	
C生土	125	15.3	36.5
殺菌土	-	24.1	

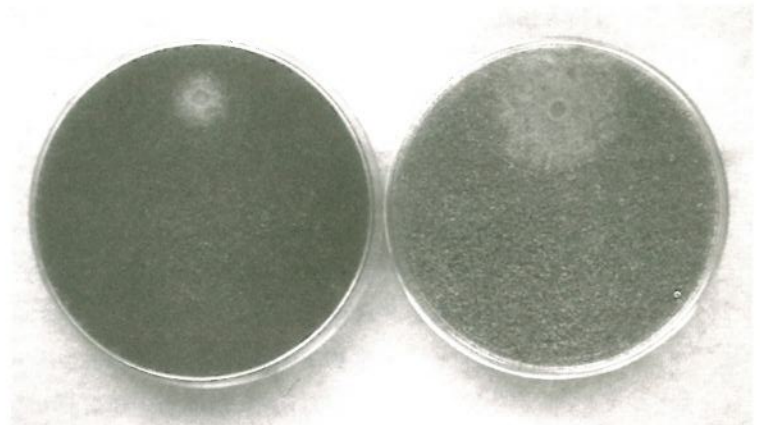


図2 生土(左)と殺菌土を被覆した場合の指標菌の菌叢生育差異 (菌叢生育抑止率=殺菌土での生育量-生土での生育量/殺菌土での生育量) 生土を被覆すると菌叢生育が抑止されているが、殺菌土では、その力が失われる。

3. 土壌被覆培養法による多様性の簡易評価

物についての利用の有無を1(有)と0(無)の2進数に変換し、この2進数で表された炭素源利用パターンを平均距離法を用いてクラスター分析して多様性指数を算出するものである。本法により土壌病害抑止型土壌において発病型土壌に比べ明らかに多様性の高い細菌群集が発達していることが検出されている⁶⁾。

ここでの土壌細菌群集の多様性評価の目的は、あくまで現場の農業生産に利することである。しかし、前述の炭素源利用パターンに基づく多様性指数の算出法では、精度は高く研究手法としては有用であるが、特殊な機器を必要とし、1点当たり数万円の費用がかか

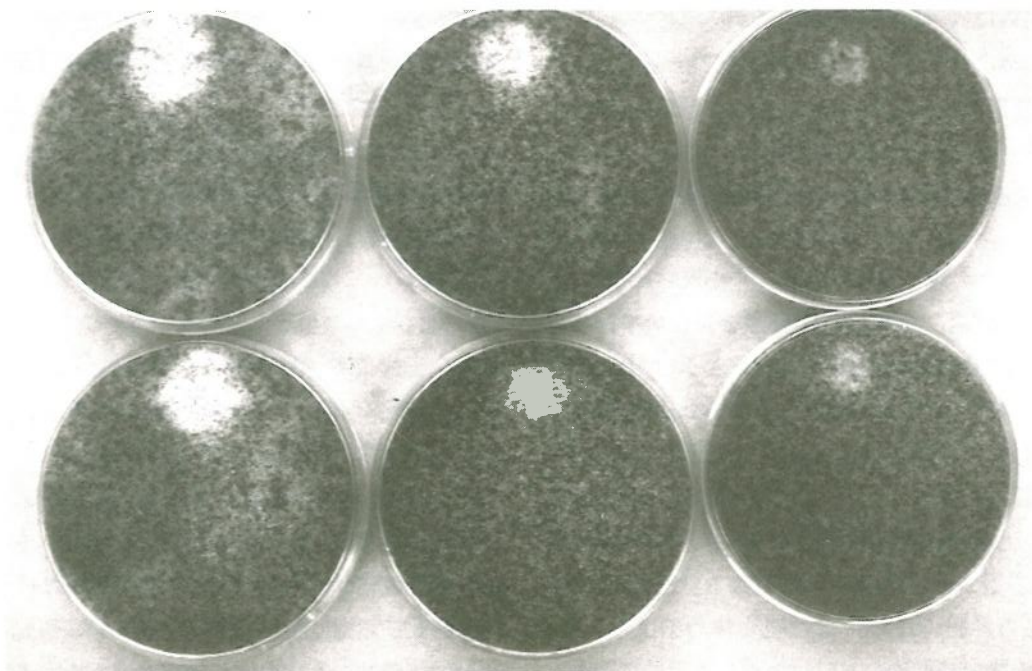


図3 細菌群集多様性の異なる土壌を被覆した場合の指標菌生育差異
左は長期連作畑、中央は水田輪作畑、右は水張り放任圃場の土壌である。
水田輪作を行った場合、多様性が高まるのがわかる。

るため、個々の農地の診断を考えると実用性が低い。そこで、“多様な微生物群集は特定の微生物の生育を抑制・排除するであろう”との考えから、土壌中を伸長生育し宿主作物に感染する性質を有する“白紋羽病菌”を指標微生物とした生物検定を行う「土壌被覆培養法」を考案した⁷⁾。圃場における“土壌細菌群集の多様性と土壌伝染性病害の発病抑制”という生物間相互作用を、培地上での“土壌中の微生物による指標菌の生育抑制”という生物間相互で簡易判定するものである。

本法は、寒天平板培地（PDA培地）に指標微生物として白紋羽病菌を植え付けた翌日、この培地に診断する土壌（15~20meshの海砂で10倍に希釈）を被覆する。これを3日間培養した後、菌糸生育を計測し、土壌中の細菌群集により白紋羽病菌の生育がどの程度抑制されるかを調べて土壌細菌群集の多様性を推定するものである（図1）。

結果は、同じ土壌を殺菌して被覆した場合の生育量に対する生育抑制率として表す（図2）。土壌細菌群集の多様性が高いほど白紋羽病菌の生育は強く抑制され、多様性が低いほど生育抑制率も低くなる（表1、図3）。実施には、簡易な無菌設備があればよく、1点あたり千円以内、4~5日間で結果が出る。

4. ハス腐敗病の発生と土壌細菌群集多様性の関係

ハスの地下茎（レンコン）を腐らせる“ハス腐敗病”が発生し、農家を悩ませている。病原菌は卵菌類のピシユームと子のう菌類由来の不完全菌のフザリウムであり、分類学的に全くかけ離れた両病原菌に対し、有効な薬剤はない。また、あったとしても、水田状態の土壌に薬剤を浸透させるのは不可能であり、水系への汚染も懸念される。そのため本病の抑制のためには“植物体の抵抗性”や“土壌の発病抑制力”に頼るしか手段はない。そこで土壌被覆培養法を用いた土壌細菌群集構造評価の最初の応用の場となった⁸⁾。

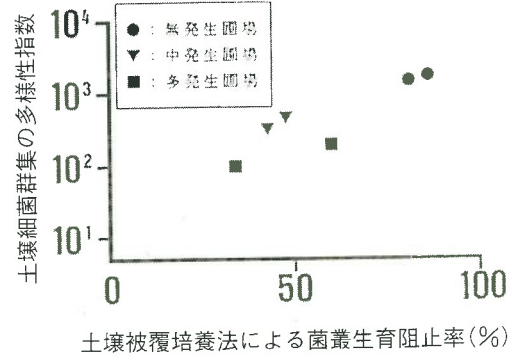


図4 ハス腐敗病の発生と土壌細菌群集および菌叢生育抑制率の関係

腐敗病の発生程度と土壌細菌群集の多様性指数、および土壌被覆培養法による菌叢生育抑制率の関係を調査した結果、腐敗病発生圃場では多様性指数、菌叢生育抑制率ともに低く、発生しない圃場では多様性指数、菌叢生育抑制率ともに高かった（図4）。さらに、レンコンの収穫方法には、落水して鍬で掘り取る“鍬掘り”と湛水状態でポンプの水圧を利用し周囲の泥を吹き飛ばして浮き上がらせ収穫する“水掘り”があるが、“水掘り”のほうで腐敗病の発生が多い。多様性を調査すると掘り取り前は、おしなべて“水掘り”圃場で多様性が高い。しかし掘り取り後に“水

表2 レンコン掘り取り方法と土壌細菌群集の多様性の変化

	細菌群集の多様性指数	
	掘り取り前	掘り取り直後
水掘り圃場A	1,330	947
水掘り圃場B	560	314
鍬掘り圃場	992	1,220

掘り”圃場で多様性が低下し、“鍬掘り”圃場で多様性が上昇するという逆転現象が見られた（表2）。鍬掘りでは、掘り取り直後の“傷口”があるときに多様性が高くなり発病抑制力が高まっているものと考えられる。水掘りでの変化は、水圧による土壌の深層までの単層化、鍬掘りでの現象は、落水による好気・嫌気条件の変化などによると考えられるが、この多様性の変動に関する詳細なメカニズム解析は今後の課題であり、ハス腐敗病の

抑制への重要な糸口になると考えている。現時点では少なくとも、ハス腐敗病の発生は土壤細菌群集の多様性と密接な関係があることが明らかになっており、この多様性は土壤被覆培養法により推定が可能である。

5. 土壤消毒診断

土壤被覆培養法は土壤消毒の効果の診断へも活用できる。土壤消毒を行うと、消毒直後には菌数の減少とそれに伴う多様性の低下から、菌叢生育抑止率が低下していなければならない。しかしこのままでは、病原菌の再増殖・再侵入に対して抑止力が働かないため、播種・定植までには、土壤微生物群集が回復、つまり、多様性と菌数が増加している必要がある。土壤消毒直後に土壤被覆培養法を実施し、菌叢生育抑止率が低下していれば、消毒は成功であり、菌叢生育抑止率に変化がなければ消毒は失敗である。また、作付け前に土壤被覆培養法を実施し、菌叢生育抑止率が消毒実施前程度に回復していなければ、まだ播種・定植には早いということになる。一昨年から農業改良普及員および農家と共同で土壤消毒法の改良についての試験を行っている。その結果、湛水・太陽熱消毒を行う際、米糠や稲ワラを土壤に混和することにより消毒効果が向上する（おそらくは発酵熱による）とともに、これらを餌とする微生物が増殖するため消毒後の多様性の回復も早いということが土壤被覆培養法により確認された⁹⁾(表3)。この米糠のような“微生物の餌”の選択・改良を行うことによって、殺菌効果を高め、微生物群集の復活も早める、安定した土壤消毒法を確立することができると考えている。

6. おわりに

土壤被覆培養法は、土壤細菌群集の多様性の差異をシャーレに視覚化できるため、数値データを並べるよりは農家には理解しやすいのではないかと考える。本法を活用することにより、現場指導者や農家の方々に、土壤微

表3 太陽熱土壤消毒の処理法の違いと菌叢生育抑止率の変化

	(%)					
	乾燥 状態	湿潤 状態	湿潤+ 稲ワラ	湿潤+ 米ぬか	薬剤	無処理
消毒直後	66	71	53	37	79	-
作付直前	85	81	84	82	83	82

注) 消毒直後の値は低いほど、作付直前の値は高いほど、良好な土壤消毒が行われたと考えられる。

生物の世界から見た“土作り”に思いをはせていただくとありがたい。今後は糸状菌群集の評価法の確立を目指すとともに、土壤微生物の有する発病抑止力のメカニズムを究明していきたい。

文 献

- 1) 横山和成 (1996), 土と微生物, 47: 1-7
- 2) Torsvik, V., Salte, K., Sorheim, R. and Goksoyr, J. (1990), Appl. Environ. Microbiol., 56, 776-781
- 3) Ward, D. M., Weller, R. and Bateson, M. M. (1990), Nature, 345, 63-65
- 4) Garland, J. L., and Mills, A. L. (1991), Appl. Environ. Microbiol., 57, 23 51-2359
- 5) Tunlid, A., Hoitink, H. A. J., Low, C. and White, D. C. (1989), Appl. Environ. Microbiol., 55, 1368-1374
- 6) 横山和成・庄司正・平工美由紀・千葉佳朗 (1997), 日植病報, 63, 218
- 7) 森川千春・佐藤健司・横山和成・松本直幸 (1998), 土と微生物, 52, 89
- 8) 森川千春・横山和成・庄司正・松本直幸 (1999), 土と微生物, 53, 137
- 9) 清水恵美・北 安代・森川千春 (2000), 北陸病虫研報, 48, (印刷中)

◀文献情報▶

DNAマイクロアレイを用いた卵胞発育における遺伝子発現解析

Application of complementary DNA microarray (DNA chip) technology in the study of gene expression profiles during folliculogenesis

Hung-Ching Liu, Ph.D., Zhiming He, M.S., and Zev Rosenwaks, M.D.

Center for Reproductive Medicine and Infertility, Well Medical College of Cornell University, New York, New York

Fertility and Sterility Vol. 75, No. 5: 947-955 (2001)

近年ゲノムシーケンスプロジェクトの進展により、各生物で全遺伝子構造解析がなされ明らかにされつつある。これらの成果を受けて開発されたDNAマイクロアレイ法は、細胞内で発現している多くの遺伝子を一度にモニターすることが可能である。スライドガラス上に数百から数千個のcDNAスポットを固定し、サンプル細胞由来のRNAから得たcDNAプローブをハイブリダイズさせ、このハイブリのシグナル強度によりそれぞれの遺伝子の転写量を測定する。この新技術は細胞機能に関与する遺伝子探索や、投薬治療などによる細胞の遺伝子発現の変化の評価に非常に有効である。

本論文ではこのDNAマイクロアレイを利用しマウス卵胞発育に関与する遺伝子群のプロファイルを行っている。14日齢B6D2F-1の幼若マウスから前胞状卵胞を採取し、ゴナドトロピン (FSH, LH) および血清存在下で10日間体外培養し、胞状卵胞を得た。この胞状卵胞はhCG (絨毛性性腺刺激ホルモン) とEGF (上皮増殖因子) 添加により体外で排卵卵胞を得ることが可能で、これらの卵胞が正常に発生することも確認している。前胞状卵胞および胞状卵胞由来のRNAからcDNAプローブを作成し、DNAアレイで発現解析を行

った。588個の遺伝子について調べた結果、前胞状卵胞では39個、胞状卵胞では61個の遺伝子発現を確認した。このうち18個の遺伝子は両方の卵胞で高いレベルで発現していた。これらの遺伝子の種類は癌抑制因子、細胞周期制御因子、シグナル伝達因子、アポトーシス関連タンパク、細胞表面抗原、転移タンパク、ハウスキーピング遺伝子であった。胞状卵胞への発育に伴い発現抑制された遺伝子が15個、発現上昇しているものが46個あった。興味深いことに、3種類の熱ショックタンパクの遺伝子が11-100倍高いレベルで発現していた。熱ショックタンパクは細胞がいろいろな環境ストレスにさらされた時に分子シャペロンとしてタンパクの折りたたみや構造変化に関与する。これらの結果から熱ショックタンパクが卵胞形成に役割をなしていることが推察された。また4種類の転写因子に関連した遺伝子発現量が100倍以上に上昇していた。このことは胞状卵胞では迅速な細胞増殖と分化がなされるよう、mRNA合成が盛んに行われていることを示していた。今後同定された遺伝子の卵胞発育における特異的機能についてさらに探求するとともに、卵胞発育や卵母細胞の成熟に関与するゴナドトロピンとそのレセプター、ステロイドジェネシス、増殖因子、アポトーシス、細胞周期関連遺伝子をターゲットにしたDNAチップを特注し、これらの発現について検討を行う予定であることが述べられていた。

このようにDNAマイクロアレイは各組織の細胞における遺伝子発現および環境による発現量の変化を大量に解析できるのみならず、全体的に見渡せることがメリットである。今後さらに遺伝子、タンパクのみならず細胞内代謝物 (糖類、脂質など) の解析へのマイクロチップの応用は強力なツールになると考えられている。

(抄訳：木村直子, KIMURA Naoko, 東北大学大学院農学研究科)

◀文献情報▶

ゲノム発現解析により明らかとなった出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) のリン酸蓄積とポリリン酸の代謝システムにかかわる新しいコンポーネント

New components of a system for phosphate accumulation and polyphosphate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* revealed by genomic expression analysis.

Nobuo Ogawa, Joseph DeRisi, and Patrick O. Brown

Mol. Biol. Cell. 2000 Dec; 11 (12): 4309-21

リン酸は、生物において核酸や脂質、タンパク質、糖質など様々な細胞構成成分の合成、代謝に必要とされる重要な栄養素である。このため、生体内のリン酸の貯蔵、代謝等の制御は非常に重要である。出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) では、低濃度 (~0.2mM リン酸) のリン酸環境下で培養を行うと、補償摂取という特異的なリン酸の蓄積がみられる。これにはPHO制御経路が深く関与している。PHO制御経路は、低リン酸環境下で活性化される。今回、PHO経路により活性化される遺伝子群を同定することで、出芽酵母でのリン酸代謝経路、特にリン酸の蓄積およびポリリン酸の代謝に関連する遺伝子の網羅的解析が行われた。

著者らは、高リン酸 vs 低リン酸環境下の遺伝子発現を3系列、親株 vs 様々なPHO経路活性化変異株の遺伝子発現を5系列比較することにより、PHO経路により発現誘導される遺伝子を同定した。その結果、すでにPHO制御下であることが明らかであった9遺伝子すべてを含む80遺伝子を同定した。この中には、リン酸代謝にかかわると思われる新規な12遺伝子も含まれていた。

これまで、大腸菌等のバクテリアでは、Polyphosphate kinase (PPK) がポリリン酸

の合成を担っていることが明らかであった。しかし、出芽酵母ゲノム中にはこのホモログが存在せず、全く別のシステムがあるものと予想されていた。そこで、著者らは、今回新たに同定されたYFL004w familyの4つの遺伝子 (*PHM1*, *PHM2*, *PHM3*, *PHM4*) に着目し解析を行った。まず、これらの遺伝子破壊株を作成し、解析を行ったところ、すべての破壊株は、低リン酸培養下で親株と変わらず生育した。しかしながら、ポリリン酸の蓄積に異常が見られた。出芽酵母は低リン酸環境下で、ポリリン酸 (~100Pi) を蓄積するが、これらの変異株ではポリリン酸の含量が低下するか、あるいは全く見られなかった。また、ポリリン酸は液胞で合成蓄積される物と考えられているが、これらの遺伝子産物は、液胞膜に局在していることが明らかとなった。以上の事から、出芽酵母の *PHM1*, *PHM2*, *PHM3*, *PHM4* は、液胞でのポリリン酸の蓄積に関与していることが強く示唆された。

ポリリン酸の合成は、酵母の生理学上大きな意味を持つ物と思われる。そこで、無リン酸培地から、低リン酸培地へ移したときの各 *PHM* 変異株のリン酸取込み速度について解析を行った。その結果、親株では低リン酸培地へ移した後25分経ってもリン酸の取込みが低下しないのに対し、各 *PHM* 変異株では、移行後5分でリン酸の取込みが急激に低下することが明らかとなった。以上のことから、ポリリン酸の合成は、酵母のリン酸補償摂取に大きく関与していると思われる。

今回、出芽酵母のマイクロアレー解析により、真核微生物でのポリリン酸の合成の一端が明らかとなった。さらに、今回同定されたPHO経路活性化遺伝子群を見てみると、菌体外からのリン酸の取込み、菌体内での遊離のリン酸増加、さらに液胞中でのポリリン酸の蓄積にかかわる遺伝子が含まれていることが明らかとなった。今後、本解析をきっかけに、真核生物のリン酸代謝経路の全体像が明らかにされることが期待される。

(抄訳 岩下和裕, IWASHITA Kazuhiro, 独立行政法人酒類総合研究所)

◀文献情報▶

有機リンゴは甘いか、酸っぱいか

Sustainability of three apple production systems.

J. P. Reganold, J. D. Glover, P. K. Andrews and H.R. Hinman

Nature Vol.410, 19 April 2001, 926-929

昨今は有機農法流行りである。近代農法が農薬と金肥の大量投与により、生物の多様性を減少させ、土壌構造を破壊させ、時には人間の健康をも害してきたという事実は率直に認め反省しなければならないが、農学の徒としては、近代農法は一切を否定するかの如き論調にも同調しかね、消費者の受け入れる有機農法は日本農業の生き残る一つの方策かもしれないという気はするものの、高温多湿の日本で、曲がったキュウリにそっぽをむく消費者相手に、無農薬の有機栽培はそんなに簡単ではありませんよと口にてて、有機農法の大合唱には限界を超えた畜産廃棄物処理あるいは食品廃棄物処理の方策という一面も垣間見られ、有機物の土壌への過剰投棄のもたらす負の側面もお忘れなくと言いたくもなるのである。それはさておき、リンゴの有機栽培に関する研究報告が、なんとNature誌上を飾った。エポックメイキングな研究を掲載することを使命とする本誌が有機栽培を扱ったのは、これが旬だという編集者の判断があるのだろう。まさに時代である。

日本でもおなじみのゴールドデンリシャスを米国ワシントン州ヤマキ溪谷で1994~1999年の6年間栽培したその収支決算報告である。有機物を一切使用しない従来法と、有機物のみを施用し薬剤としてはBT剤とフェロモントラップを使用し除草剤の代りにパークマルチで対応する有機農法と、その折衷型の3つの栽培区を設け栽培している。まず、従来法が無施用というのに驚かされるが、知人に問い合わせたところ米国のリンゴ栽培では普通有機物の施用はしないとのことであった。日本では従来法でも有機物は施用するの

で、ここにいう折衷型か。過去6年間の累積生産量は3つの栽培法でなんと差はない。品質面からみると、有機リンゴは硬く糖-酸比が高い。折衷法は貯蔵6ヶ月後の味がいいという結果がでた。保水性などの土壌の物理化学性は予想されるように有機栽培が一番よく、ついで折衷法、従来法の順である。労働時間は従来法と折衷法ではほぼ同等であり、有機栽培ではその1.4倍を要する。エネルギー(労働、肥料、収穫物など全てエネルギーに換算)のアウトプットとインプットの比は、従来法、折衷法、有機栽培でそれぞれ1.11, 1.13, 1.18となる。この結果から有機栽培は経済的な環境にやさしい農法と結論づけているが、データの取り方次第でこれくらいの値は簡単に動くと筆者は思うのだが。

経営面からみてみよう。有機リンゴは50%のプレミア付きで売れると仮定すると、6年間の利益は有機農法が一番高く、次いで従来法、折衷法となる。プレミアなしとすると、従来法が一番儲かり、有機農法は儲けが少ない。即ち、プレミアが認められれば有機リンゴは太刀打ちできる。ただ、現在の米国では50%のプレミアが受け入れられるかも知れないが、有機リンゴの生産量が増加すれば必然的にプレミアは低下せざるを得まい。消費者が生態系を維持するコストとしてのプレミアをどの程度負担するかには有機農法の今後がかかっているといえよう。

と、守旧派の筆者は揚げ足取りばかりやってきたが、生産性から環境に対する影響、経済的側面までと有機農法を全体的に捉えようとする著者の姿勢は素直に評価しなければなるまい。関心の有る方は筆者の紹介文なんぞに惑わされずに原報を一読されることをお勧めする。

(抄訳 岩井純夫, IWAI Sumio, 鹿児島大学農学部)

◀文献情報▶

シロイヌナズナの
*Asymmetric leaves1*は葉
パターン形成とstem cell
の機能を仲介する

Asymmetric leaves1 mediates leaf patterning
and stem cell function in *Arabidopsis*

M. E. Byrne, R. Barley, M. Curtis, J. M.
Arroyo, M. Dunham, A. Hudson, R. A. Mar-
tienssen

Cold Spring Harbor Laboratory, 1 Bung-
town Road, Cold Spring Harbor, New York
11724, USA

Nature 408, 967-971 (2000)

植物の発生において、中心的な役割を担っているのは茎頂分裂組織 (Shoot Apical Meristem: SAM) である。そのため、SAMの遺伝的制御を解析することは、植物の発生を理解する上で非常に有用である。SAMの機能 (stem cellの維持と葉などの側生器官が出来る始原細胞の分化) は、主にホメオボックス遺伝子によって担われており、特に、トウモロコシの*KNOTTED1*遺伝子と相同性の高い*kn1-like homeobox (KNOX)* 遺伝子ファミリーは、細胞が未分化なSAMで発現し、器官分化した細胞では発現が抑制されることが知られている。本文献で著者らは、シロイヌナズナの変異体*asymmetric leaves1 (as1)* の解析を行い、葉形成、SAMの遺伝的な制御機構についての考察を試みている。

*as1*は既知の変異体で、葉の形態が特徴的である。正常な植物体の葉は滑らかな葉縁を持つが、*as1*の葉はまるでハサミで切り刻まれたかのような形になり、この葉形は遅くに形成された葉ほど顕著である。また、葉脈パターンも異常である。葉以外には、コチレドン、花器官の発生にも異常を示している。

*as1*変異体の表現型は、*KNOX*遺伝子欠損変異体と多くの点で類似している。そこで、*ASI*のポジショナルクローニングを行った。すると、*ASI*はキングヨソウのmybドメイン

を持つ転写因子遺伝子*PHANTASTICA*と高い相同性を持つことが明らかとなった。これは以前より*Atphan*として知られており、*ASI*は*Atphan*であることが明らかとなった。

さらに、RT-PCR, *in situ* hybridization, 二重変異体の解析から、SAMのstem cellでは、*KNOX*遺伝子として知られる*STM*は*ASI*をネガティブに制御し、器官始原細胞では*STM*はダウンレギュレートされ、*ASI*が発現できるようになり、そして、*ASI*はシロイヌナズナの*KNOX*遺伝子*KNAT1*と*KNAT2*を抑制的に制御するようになることが示唆された。

一方、*STM*と関係のあることで知られている他の*KNOX*遺伝子 (*CLV*, *WUS*, *CUC2*を含む) は、すべてSAMで発現しており、分裂組織機能に必要である。*CLV1*, *CLV3*, *WUS*の変異は、*as1*に相加的な相互作用を示しており、*ASI*がこれらの遺伝子とは独立に働いていることが示唆される。このことは、分裂組織の細胞運命の決定するために、「*ASI*と*STM*」から「*WUS*と*CLV*」へ、パラレルなパスウェイが存在することも意味している。

以上のように*ASI*遺伝子はシロイヌナズナの葉形成での役割だけではなく、SAMの機能にも深く関与することが示唆された。

SAMと葉形成の遺伝的制御の解析は、近年飛躍的に進んでおり、今後の展開が期待される。また、今回取り上げたのは双子葉植物であったが、単子葉植物の同様の解析も非常に気になる場所である。

最後に、*as1*と似た表現型を示す変異体*as2*の解析を報告した文献(1)も発表されたので、参考にしていただきたい。

参考文献: 1) E. Semiarti et al., *Development* 126, 1771-1783 (2001)

(抄訳: 春原英彦, SUNOHARA Hidehiko, 東京大学大学院農学生命科学研究科)

◀文献情報▶

腸管出血性大腸菌O157：
H7のゲノム塩基配列Genome sequence of enterohaemorrhagic
Escherichia coli O157 : H7

Perna NT, Plunkett G 3rd, Burland V, Mau B, Glasner JD, Rose DJ, Mayhew GF, Evans PS, Gregor J, Kirkpatrick, HA, Posfai G, Hackett J, Klink S, Boutin A, Shao Y, Miller L, Grotbeck EJ, Davis NW, Lim A, Dimalanta ET, Potamouisis KD, Apodaca J, Anantharaman TS, Lin J, Yen G, Schwartz DC, Welch RA, Blattner FR Genome Center of Wisconsin, and Department of Animal Health and Biomedical Sciences, University of Wisconsin, Madison 53706, USA.

Nature 408, 967-971 (2000)

生鮮品を取り扱う水産、食品業界にとって、梅雨入り前は品質管理に神経過敏となる。多くの犠牲者を出した腸管出血性大腸菌O157の集団食中毒事件は記憶に新しく、食中毒に対する消費者の関心も高い。魚介類を原因食品とする食中毒としては腸炎ビブリオによるものが有名であるが、O157にもシーフードソースを原因食品とする感染事例がある。O157は病気が重症化すること、有効な治療法が無いこと、大規模な流行が起こる危険性があることなどから病原性や検出法などについて盛んに研究が進められている。

最近、O157の病原性や検出法を明らかにする新たな試みについて、その成果が報告された。ウイスコンシン大学のPerna NTらはO157の中でも、ベロ毒素を産生し、溶血性尿毒症症候群などの重篤な症状を引き起こすO157:H7のゲノム塩基配列を解読した。昨今ヒトゲノムの解読完了により脚光を浴びているゲノム解析であるが、O157:H7のゲノムと、共通の祖を持つが病原性を持たない実験株大腸菌K-12のゲノム塩基配列を比較することによって、病原性に関わる可能性のある遺伝子の同定や、従来のものより優れた菌検出法の開発等が期待される。比較によって

O157:H7には様々な大きさの菌株特異的遺伝子クラスターの存在が明らかとなり、そこに新しい遺伝子が1387個発見された。つまり、これらの中に毒素遺伝子の可能性があるものや代替代謝経路の遺伝子、数種のプロファージ、その他新たな機能をもたらす遺伝子が含まれていることになる。今後これらの遺伝子と選択性の高い物質を開発することで検出の道具としたり、毒素や代替代謝経路の遺伝子特定、遺伝情報の遮断を行うことで、より効果的な治療法の開発が可能になると考えられる。

(抄訳：室田一貴，MUROTA Kazuyoshi，マール株式会社中央研究所)

◀海外便り▶

積雪・凍結地帯における土壌・根圏の水・熱の 季節変化の動態予測手法の開発

—カナダ・サスカチュワン大学における一年四ヶ月半—

独立行政法人農業技術研究機構 北海道農業研究センター

広 田 知 良

1. はじめに

1999年9月～2000年9月までの1年間と2000年11月～2001年3月中旬までの4ヶ月半の計1年4ヶ月半、カナダのサスカチュワン州にあるサスカチュワン大学にて研究する機会を得た。カナダのサスカチュワン州は大規模な小麦や牧草、カノーラ畑が広がる大平原のプレーリ地帯の真ん中にある。州の面積は日本の国土の約1.7倍を有し、約半分は森林、3分の1は農地である。人口は逆に日本のおよそ100分の1の100万人余りである。サスカチュワン大学はこの州の人口の最大都市であるサスカツーン市（約22万人）にある1907年に設立された総合大学で、学生数は聴講生も含めると合計2万人足らずの規模となる。サスカチュワン州は農業が主産業であることも背景にあり、カナダでは農学関係の大学と言えばサスカチュワン大学という評判である。また、この大学のもう一つの特徴として、キャンパス内には国や州あるいは民間の研究機関が100以上も存在し、農業、コンピュータ、通信、バイオテクノロジー、環境分野と様々な分野が集まって、さながらミニ筑波といった雰囲気である。

2. 在学研究の背景と概要

筆者が現在勤務している北海道あるいは在外研究先のカナダは同じ亜寒帯気候区に位置しており、それぞれ我が国や世界の重要な穀物類の主産地となっている。しかし、これらの地域は冬の期間、雪や凍土に覆われるため、

HIROTA Tomoyoshi

〒062-8555 札幌市豊平区羊ヶ丘1

作物の生育期間が極めて限定されている。したがって、これらの地域の積雪や土壌凍結に関する情報は農業上重要である。特に、少雪地帯では土壌凍結が発達する。例えば、土壌融解の時期を知ることは、早春の農作業や耕地管理計画の立案に必須である。また、土壌凍結深や凍結期間の長さは越冬後の小麦や牧草の生育に強く影響して生産量を左右する。このため、品種導入に際しての適地判定には土壌凍結に関する情報が不可欠である。そこで本研究ではアメダス等の一般気象観測データから農耕地の土壌凍結深を推定できるモデルを開発し、さらに凍結期間、融解時期の評価にも供せる方法の開発を行うことを目的とした。筆者の関連する研究は、同じキャンパス内にあるカナダ国立水文研究所にも多くの専門家がいる。筆者も自然と、この水文研究所のメンバーと共同で研究活動を行うことになった。本研究では凍土の推定に最も重要な要素となる地中への熱の動態についてのモデル開発およびそれに必要なデータセットを得るため長期の気象および土壌凍結過程の観測を、国立水文研究所が長年に渡って気象観測している草地で行った。ここは、表面状態は均一かつ広大で平坦、まさに地表面と大気のエネルギー交換過程を観測するのに最適な所である。滞在中の、二回の冬とも気温は-30℃を下回る記録が観測される一方、積雪深は約20cmと深くなく、凍土は発達し、最高凍結深は2m以上に達した。これらの気候条件は日本国内の観測ではなかなか得ることができない条件で、私にとっては貴重なデータセットとなった。モデル開発は数学的な誘導解析に基づいて従来提案されている方程式系よりさらに簡潔な形式でなおかつ計算精度も高

い、新しい地中熱流量の数学的形式を見い出した。この開発した新モデルをここで取得した観測データによって検証したところ、モデルは観測データを良く再現できることを確かめた。本モデルは、非常に簡易でかつ精度も高く、一般気象観測データからの土壌凍結深や凍結期間の推定法への応用が十分に期待できることが明らかとなった。

3. サスカチュワン州の二つの農家とのお付き合い

私も研究生活以外では農業が盛んな州であるサスカチュワンならではの経験をした。私

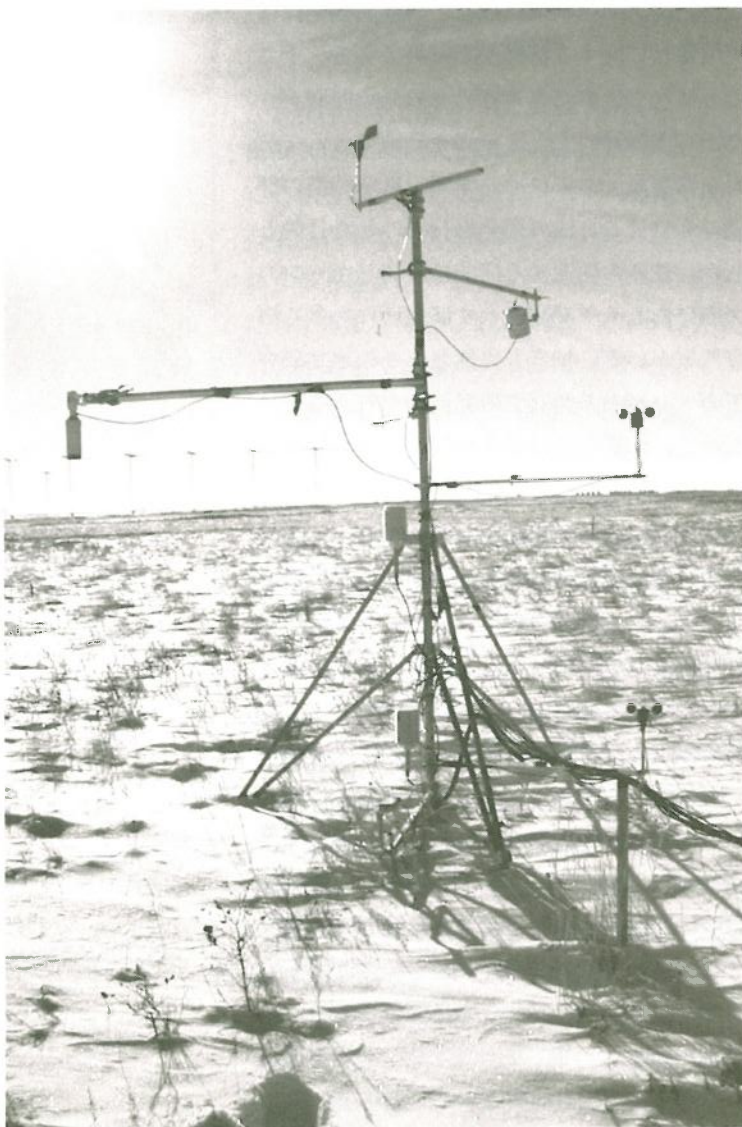


写真 厳冬期の気象観測風景

が所属した工学部農業生物資源工学科では、10月～4月の間の農閑期に、農家の方でtemporary professorとして学生に講義をしている珍しい教官がいる。幸いなことに私はこの方と教官室を同居することになり、農家訪問も含めて気軽にお付き合いすることができた。一般の大学の教官と同室するのとは違った貴重な経験を得た。彼の年は私とほぼ同じ三十代中頃であり、彼自身はこの大学で農業機械学の修士号を修得した。当地では、冬はほとんど農業活動できないからこそ、逆に大学教官として冬を過ごすスタイルを取ることができるのである。学生も農業のプロからより具体的に学ぶことができるのも非常に良い。彼の祖先はイギリスから来た祖父とウクライナから来た祖母によって約100年前からこの地に農業を始め、現在、三兄弟共同で農業経営している。全部で1100haの農地を所有しており麦、カノーラ、Pea、オーツ、FLAX（油取り用の種）を栽培し、肉牛も飼っている。サスカチュワン州では典型的なスタイルである。彼の言葉で非常に印象に残ったものの一つに、ここでは農家の子供は大学で高い教育と技術を身につけるのがCommon Senseであると言ったことである。

一方で偶然の出会いから、カナダ人の男性と日本人の女性の夫婦二人で農業（主に肉牛を飼育、約150haの土地を所有）をやっている方とも家族ぐるみで親しくお付き合いさせて頂いた。お二人は親も含めて農業経験が全くなく、1990年代の半ばから全く見知らぬ土地（人口250人の小さな村）に移り住み、ゼロから始められた、非常にチャレンジング精神のある一家であった。カナダの地に移住してくる日本人の中には、このプレーリでの農業生活にあこがれる人も多い。しかし、なかなか実際に踏み出せるものではない。彼らの生活はまさにテレビドラマの「北の国から」と「大草原の小さな家」を掛け合わせたような暮らしである。農業を始める前は、夫の方は海のダイバーや森の植林の仕事に携わり、自然を幅広く良く知っており、農業を始める前は二人でいろいろな地を旅して見聞を広げ

ている。また、お二人とも非常に勉強熱心で最新の農業に関する研究成果や科学に対する関心も非常に高い。彼らの視点からすると、大規模機械化農業で集落に住む傾向にあるカナダの農家は自然に対してあまりに無知であり、無頓着な面があるように感じるようである。私は、いつも彼らのピーフと手作りのビール、そして明け方にまでおよぶ農業、科学、生活、日本と北米の文化の違い等様々な語らいが楽しみで、しばしばこの一家を訪問した。さらに、彼らの農地でも簡単な気象測器を持っていき土壌凍結の観測を行った。私はこの結果も解析して研究発表をすることも大変楽しみにしている。農業が主要な産業であるサスカチュワンでも農業離れの問題は深刻であり、最盛期は13万人であった農家人口は現在、半減して6万人である。この減少傾向は未だ止まっていない。そんな中、彼らのスタイルはこれからの新しい農家としての生き方について示唆を与えているように感じた。

4. 終わりに

サスカチュワン州は世界有数の穀倉地帯であるが、冬ばかりでなくその他の季節も気候的には決して恵まれているとはいえない。一年を通して雨は多くなく、年降水量は400mm足らずで土壌水分は不足している。そのため、いも、とうもろこし、大豆類は頻繁な水やりが可能な農家の裏庭や庭付き家庭の菜園で育てられている程度である。夏の気象変動も激しく、夏真っ盛りの暑い日から急に翌日でも平気で夜間に気温は氷点下になることもある。だからこそ、私の専門分野である農業気象の立場からすると、多くのやるべき研究テーマがあると感じた。

最後に今回の在外研究に際しまして、科学技術庁、農林水産省の関係者の方々には大変御世話になりました。ここで改めてお礼を申し上げます。



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

地域の先端研究

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央

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

生研機構からのお知らせ

融 資 事 業

企業等におけるバイオテクノロジー関係の研究開発事業で、主に応用研究段階から実施する試験研究に対する最長15年の長期・低利、研究向きの融資制度です。

一般融資制度と特別融資制度の2つの制度があり、一般融資制度では企業等の研究開発に対するリスクを軽減するため、試験研究の成功度が低くなった場合には、成功度合いに応じて貸付利率を低減します。

特別融資制度は、事業化を目指した主に応用段階から実施する試験研究を対象とし、成功度合いに応じて貸付元本を減免する融資制度です。

募集期間：一般融資制度（下期） 8月から9月
特別融資制度 4月から9月

相談は、随時受け付けています。

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



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

高温高压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

編集後記

- ◆そろそろ梅雨明けを迎えこれから猛暑の季節になりますが、ブレインテクノニュース第86号をお届けします。
- ◆本号の総説は、マイクロチャネルを応用した血液レオロジー計測に関連した事項を菊池佑二氏（食品総合研究所）にご紹介いただき、関連した話題を中嶋光敏・小林 功両氏（食品総合研究所）に、その他の国内情報では植物の水のイメージングを中西友子氏（東京大学大学院）、環境負荷化学物質のモニタリング植物について大川秀郎氏（神戸大学）にご紹介いただいた。地域研究として、大藪哲也氏（愛知県農業総合試験場）にトマトの新品種「試交99-2」（その果実写真を同氏のご厚意により表紙写真に使用させていただいた）、森川千春氏（石川県農業総合研究センター）に土壤細菌群多様性診断法を、さらに海外便りとして広田知良氏（北海道農業研究センター）にカナダにおける亜寒帯地域の気象・土壌

観測・予測の研究、また文献情報では木村直子氏（東北大学大学院）、岩下和裕氏（酒類総合研究所）、岩井純夫氏（鹿児島大学）、春原英彦氏（東京大学大学院）、室田一貴氏（マルハ（株）中央研究所）にそれぞれご紹介いただいた。

お忙しい中をご執筆下さった研究者各位に、改めて深甚の謝意を申し上げます。

- ◆バイオテクノロジーを含む日本の科学技術研究は、経済に先んじてグローバル化が進展し、日本の先端研究すなわち世界の先端研究の様相となっています。本誌はこのような環境下における多分野のバイテク研究情報発信を使命と心得ており、一層の誌面充実を目指しています。研究者各位のご協力、ご鞭撻をお願いする次第です。

- ◆次号は、総説として“酵母の科学”を取り上げ関連の研究情報を掲載する予定です。ご期待下さい。 (島山記)

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86号）

平成13年7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