

平成14年5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91号

MAY 15, 2002



ホールクroppサイレージ用水稻新品種  
『クサホナミ』(関東飼206号)

## 目 次

### 総 説

- 化学発光法によるウシ潜在性乳房炎の早期・簡易診断法の開発 ..... 1  
高橋秀之 (独立行政法人・農業技術研究機構 動物衛生研究所)

### 国内情報

- 泌乳牛乳腺の見事なサイクル変動を基に創製した2種類の乳房炎防除剤の開発 ..... 5  
熊谷勝男・小峯健一・具 健三・浅井健一・黒石智誠・小峯優美子  
(株式会社ティーセル研究所)
- 稲発酵粗飼料用の水稻新品種「クサホナミ」の育成 ..... 10  
根本 博 (独立行政法人・農業技術研究機構 作物生研究所)
- 酵母が生産するバイオサーファクタント-界面の花形役者, 省エネからガン治療まで ..... 13  
北本 大 (独立行政法人・産業技術総合研究所 環境調和技術研究部門)
- 中山間地域対応自脱型コンバインの開発 ..... 17  
杉山隆夫 (生物系特定産業技術研究推進機構)

### 地域の先端研究

- 酸化チタン光触媒による養液栽培の培養液の浄化・殺菌 ..... 21  
深山陽子<sup>1</sup>・橋本和仁<sup>2</sup> (<sup>1</sup>神奈川県農業総合研究所 <sup>2</sup>東京大学先端科学技術研究  
センター・<sup>(財)</sup>神奈川科学技術アカデミー)

### 文献情報

- 核移植クローン技術による  $\alpha$ -1, 3-Galactosyltransferase ノックアウトブタの作製 ..... 26  
L. Lai et al. (Science, 295, 1089-1092, 2002)  
抄訳: 横尾正樹 (東北大学大学院 農学研究科)
- 蛋白質分解における X-Propyl Dipeptidyl Aminopeptidase と Non-Specific Aminopeptidase  
の相乗作用 ..... 27  
T. Byun et al. (J. Agric. Food Chem., 49, 2061-2063, 2001)  
抄訳: 西村新吾 (カルピス株式会社 基盤技術研究所)
- NOはABAのシグナル伝達物質? Yes or No? ..... 28  
S. J. Neil et al. (Plant Physiology, 128, 13-16, 2002)  
抄訳: 岩井純夫 (鹿児島大学 農学部)
- KNAT1とERECTAはシロイヌナズナの花序構造を制御する ..... 29  
S. J. Douglas et al. (The Plant Cell, 14, 547-558, 2002)  
抄訳: 春原英彦 (東京大学大学院 農学生命科学研究科)
- 血液・血管系の形態形成や病態とゼブラフィッシュの接点 ..... 30  
C. Thisse et al. (Science, 295, 457-462, 2002)  
抄訳: 玉井忠和 (マルハ株式会社 中央研究所)

### 海外便り

- マメ科植物における共生窒素固定根粒形成機構の解析  
- デンマーク・オーフス大学での在外研究 - ..... 31  
梅原洋佐 (独立行政法人・農業生物資源研究所)

### 生研機構からのご案内

- 融資制度のご案内 ..... 34

#### 表紙写真説明

ホールクローブサイレージ用水稲新品種「クサホナミ」(関東飼206号)は, 独立行政法人・農業技術研究機構で育成され, 極晩性で関東以西の地域での栽培に適した飼料用品種である。また, 耐倒伏性に優れ, 多肥栽培, 湛水直播栽培に適し, 牧草のチモシー乾草に匹敵する飼料特性を持っている。詳細については, 本誌国内情報10頁をご覧ください。



◀ 総説 ▶

## 化学発光法によるウシ潜在性乳房炎の 早期・簡易診断法の開発

独立行政法人 農業技術研究機構 動物衛生研究所  
高橋 秀之

乳房への細菌侵入に際し、乳汁体細胞数が増加する前に乳汁貪食細胞の殺菌能が高まることに着目し、乳汁貪食細胞が放出する化学発光量を判定指標とした乳房炎の早期・簡易診断法を確立し、それにもとづいて乳房炎診断装置を開発した。また、その診断法を主な指標にしてサイトカインによる潜在性乳房炎の治療効果を調べた。

### 1. はじめに

ウシの乳房炎は、罹りやすい上に極めて治りにくい病気のため、世界的に共通して家畜の最難治疾病の一つとされている。その年間被害額は、北海道で約4百億円、日本全体では約1千億円は下らないと概算される。また、その被害額の約8割は臨床症状を示さずに乳汁体細胞数などが増加する、いわゆる潜在性乳房炎によるとされている。とりわけ、黄色ブドウ球菌などによって起こる潜在性乳房炎は、乳房組織内に微小膿瘍や肉芽腫を形成して慢性化の経過をたどりやすいため、治癒率は極めて低い。そのため、細菌侵入を早期に発見し、菌の組織定着前に治療や対策を施すことが極めて重要であるが、しかし、そのため高精度且つ簡便な早期診断手法はこれまで開発されていない。

本稿では、乳房内への病原細菌の侵入に際し、末梢血の貪食細胞が乳房内に浸潤し始める前に乳汁貪食細胞の殺菌能が上昇すること、及びその殺菌の際に化学発光を起こすことに着目して発光量を判定指標とした乳房炎の早期・簡易診断法を確立した。また、その方法にもとづいて乳房炎診断装置を開発したので、その概要を紹介する。更に、その方法を主な診断指標にして貪食細胞を活性化作用を持つサイトカインであるGM-CSFを潜在性乳房炎罹患乳房に投与し、治療効果を調

TAKAHASHI Hideyuki

〒305-0856 つくば市観音台3-1-5

べたので、それについても紹介する。

### 2. 化学発光の原理

化学発光 (chemiluminescence, CL) とは、化学反応により分子が不安定な励起状態となり、この状態から元の安定な基底状態に戻る際に熱を伴わない光を放出する現象 (ルミネセンス現象) を示す。この現象は、ウミホタル、ホタル、夜光虫の発光あるいはウニの受精時の発光など、生物界では古くから知られている現象である。近年、この種の現象が生物体内の物質代謝反応過程においても日常的に起きており、且つそのほとんどが酸化反応であることが知られるにつれ、光を増幅して定量的にとらえることによって生物や物質の代謝活性を把握しようとする方法が開発された。この方法が化学発光 (CL) 法である<sup>3)</sup>。

### 3. 貪食細胞の貪食・殺菌作用と 化学発光

好中球やマクロファージ (Mφ) といった貪食細胞には、生体に侵入してくる病原体を効率よく殺すための様々な機能が備わっている。すなわち、これらの貪食細胞は感染巣や炎症巣の近くの血管に粘着した後に血管外に遊出し、感染巣に向かって遊走する。そこで病原体を貪食し、貪食空胞内に活性酸素と殺菌蛋白や酵素を放出し病原体を殺して消化す

る。このような一連の作業が滞りなく行われることによって細菌感染に対する初期の防御機構が成立する。貪食細胞が酸素依存性の殺菌によって活性酸素を放出する際に微量の化学発光を起こすことが知られている。また、その化学発光量は活性酸素放出量に比例して放出されることも知られている<sup>2)</sup>。

#### 4. 化学発光にもとづく乳房炎診断

正常な乳汁にも、乳腺上皮細胞、好中球、好酸球、好塩基球、Mφ、リンパ球、プラズマ細胞などの体細胞が僅かながら存在している。乳房内に病原細菌が侵入すると、それを食い止めようとして乳汁中の好中球やMφといった貪食細胞の殺菌能が速やかに上昇し、続いて末梢血などの貪食細胞が乳腺組織や乳汁中に集まってくる。なかでも、好中球は異物侵入に対する防御作動が最も速やかであり、しかも圧倒的な数によって細菌侵入を食い止めようとして働く<sup>1)</sup>。好中球による病原細菌の殺菌処理は、主に活性酸素によって行われ、またそれに比例して化学発光を起こすことは前述した通りである。そこで、乳汁中の貪食細胞が放つ化学発光能を判定指標とした乳房炎早期診断法を開発した<sup>4, 5)</sup>。また、その測定原理を元にしてポータブルタイプの乳房炎診断装置を製作した(図1)。化学発光による乳房炎診断法は、乳房への細菌感染の際に、末梢血から乳房への貪食細胞の流入前に乳汁中の貪食細胞の抗菌活性が上昇することをとらえることができるため、(1)病原細菌の乳房への侵入を極めて早い段階(乳



図1 乳房炎診断装置(試作2号機)

汁体細胞数の増加前)で検出できる特徴を持っているが、加えて、(2)初乳や重度乳房炎のような高粘張性や凝集性の高い乳汁も測定できる、(3)乳房炎を客観的に具体的数字で判定できる、(4)測定操作が簡単である、といった特徴も備えている<sup>6)</sup>。

#### 5. 従来の乳房炎診断法と乳汁化学発光法との比較

酪農現場で日常的に行われている乳房炎診断方法として、主にCMT変法、電気伝導度法、酵素法、体細胞数法などがある。CMT変法、電気伝導度法及び酵素法は、乳房炎感染後の乳汁の変性または組成変化をとらえているので、乳房の感染早期を検出するのは難しい。これに対して乳汁化学発光法は、細菌侵入に感応して乳汁中の貪食細胞の殺菌能が上昇することをとらえているので、極めて早い段階で乳房の細菌感染を検出できる。細胞計数機による体細胞数測定では、感染早期から中期までの乳房炎を診断することが出来る<sup>6)</sup>。しかし、形態学的に一括して細胞数を計測するため、乳房炎と直接関係ない細胞まで測定されてしまう。これに対して、乳汁化学発光法は病原細菌を殺処理するために機能亢進された貪食細胞の殺菌能(活性酸素放出能=化学発光量)を測定するので、乳房炎に直接関与している細胞の機能を検査することができる。また、細胞計数機では初乳のような高粘張度の乳汁や、ブツを沢山含む乳汁は目詰まりして測定がほとんど不可能であるが、乳汁化学発光法では測定チューブ内の溶液全体から発せられる光(フォトン)の数を計測するので、このような乳汁でも測定が可能である。

#### 6. 乳汁化学発光法の酪農現場への応用

##### (1) 搾乳方式変換時の乳房炎発症予察への応用

図2は、1酪農場の35頭の乳牛を用いて搾乳方式をロータリーミルクングパーラからバ

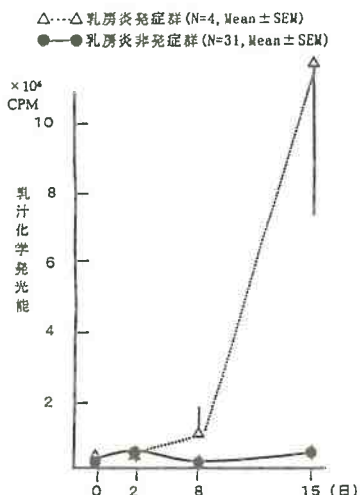


図2 乳房炎発症牛の乳汁化学発光能の変化

乳房炎発症牛の乳汁化学発光能は搾乳方式変換8日目から上昇し、診断可能である。一方、従来法のCMT変法では15日目で診断可能であった。

ラレルミルクングパーラに移行した時の乳房炎の発生状況を調べた結果を示している。乳房炎陰性の牛では、実験全期間を通じて乳汁化学発光能はほぼゼロであった。一方、乳房炎が陽性に転じた牛では、陽性と判定される約1週間前から乳汁化学発光能の上昇が始まっていた。この結果は、乳汁化学発光法が従来の乳房炎診断法よりもより早い段階で乳房炎発症を予察できる可能性を示している。

(2) 乳房炎の集中検査への応用

図3は、2軒の酪農家の乳牛47頭を用いて集中的に乳房炎検査を行った結果を示す。乳汁化学発光能の上昇は、10万個/ml以上の乳汁体細胞数の増加と良く相関している。また、乳汁体細胞数が約50万個/ml以上でないとCMT変法では乳房炎陽性と判定されないが、乳汁化学発光能は約10万個/mlから上昇が始まっている。このことは、乳汁化学発光能の検査によって感染早期の乳房炎も摘発が可能であることを示している。

(3) 乳質及び乳房炎定期検査への応用

図4は、1酪農場で2週間毎に行っている乳質及び乳房炎定期検査に合わせて行った乳汁化学発光能の検査結果を示す。合乳(個体

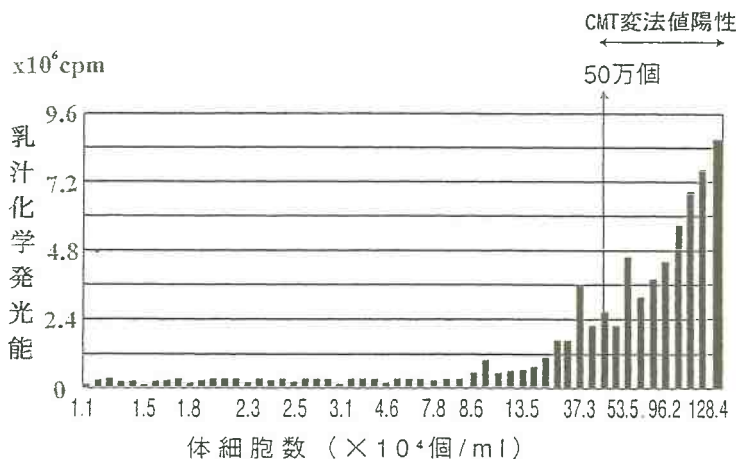


図3 乳汁CL能、乳汁体細胞及びCMT変法値との相関性

牛No.	合乳CL能 × 10 <sup>6</sup> cpm	CMT 変法	分房	分房CL能 × 10 <sup>6</sup> cpm	CMT 変法
948	0.12	-	右前	0.12	-
562	0.24	-	後	0.10	-
555	0.30	-	左前	0	-
556	0.36	-	後	7.87	+
559	0.39	-	右前	0.06	-
474	0.46	-	後	6.15	+
440	0.88	-	左前	0.11	-
540	1.47	-	後	0.09	-
534	3.57	-			

\*印の分房から、黄色ブドウ球菌を分離

図4 乳汁化学発光法 (CL法) を用いた乳房炎牛の発見

乳)を用いて行った従来のCMT変法の結果では、9頭すべてが乳房炎陰性と判定されたが、乳汁化学発光能では2頭が高い値を示した。そこで、その2頭の各分房ごとの乳汁化学発光能とCMT変法を改めて測定し直したところ、潜在性乳房炎に罹っている乳房を発見することが出来た。このように、従来の定期検査と平行して行うことで、従来の方法では見落とされていた潜在性の乳房炎を見つけたことが可能である。

7. 乳汁化学発光法を診断指標にした サイトカインによる乳房炎治療の試み

最近の乳房炎の予防や治療に関する研究では、従来の乳房炎軟膏などの抗生物質に頼らない方法が種々試みられている。その中の将

来有望な治療法の一つとして、サイトカイン療法があげられる。この療法がこれまでの療法と根本的に異なる点は、動物が本来持っている感染防御機構の根幹部位を賦活または制御して病気を治そうとする点にある。また、サイトカインは本来その動物が持っている生理活性物質のため、薬剤耐性や薬剤残留等の問題を回避できる点にある<sup>7)</sup>。我々は動物衛生研究所が主査のプロジェクト研究「組換えサイトカインによる家畜疾病防除技術の開発」に参画し、貪食細胞を活性化する牛組換えサイトカインのrBoGM-CSFを乳房炎罹患乳房内へ投与してその効果を調べる実験を行

っている。それによれば、最も治りにくい黄色ブドウ球菌由来の潜在性乳房炎でも、感染早期であれば完治が可能であることが明らかになりつつある(図5)<sup>6)</sup>。

### 8. おわりに

前述したように、乳房炎による経済的損害の内、約8割は潜在性乳房炎由来の産乳量や乳質の低下によるとされている。そのため、乳房への細菌感染や感染早期の潜在性乳房炎の摘発をいかに効率良く行うかが重要な意味を持っている。今後、乳汁化学発光法を乳房炎診断手法の一つとして用いて乳房の細菌感染の早期診断や早期の潜在性乳房炎診断を迅速に行い、抗生物質などの薬剤やサイトカインなどの生理活性物質を組み合わせて投与する手法が開発されるならば、新たな乳房炎対策の道も開かれると思われる。

### 謝辞

本研究は、有限会社トッケンとの交流共同研究及び農林水産技術会議・プロジェクト研究「高品質乳」及び「サイトカイン」において行われたものである。畜産草地研究所業務第一科、家畜改良センター岩手牧場、滋賀県家畜保健衛生所を初めとする諸機関及び関係各位に深謝致します。

### 文献

- 1) 金ヶ崎史朗 他 (1994), 臨床検査, 38 : 401-407
- 2) 中野稔 他 (1984), スーパーオキシド, 74-77, 医歯薬出版, 東京
- 3) 高橋秀之 (1998), 畜産技術, 520 : 38
- 4) 高橋秀之 他 (1999), 乳房炎診断装置, 特許第2995205号
- 5) Takahashi, H. et al. (2001), Mastitis Diagnosing Apparatus, U S Patent No.: 6,297,045 B1
- 6) Takahashi, H. et al. (2001), JARQ 35 (2) : 131-136
- 7) 横溝祐一 (1996), 臨床獣医, 14 (8) : 39-45

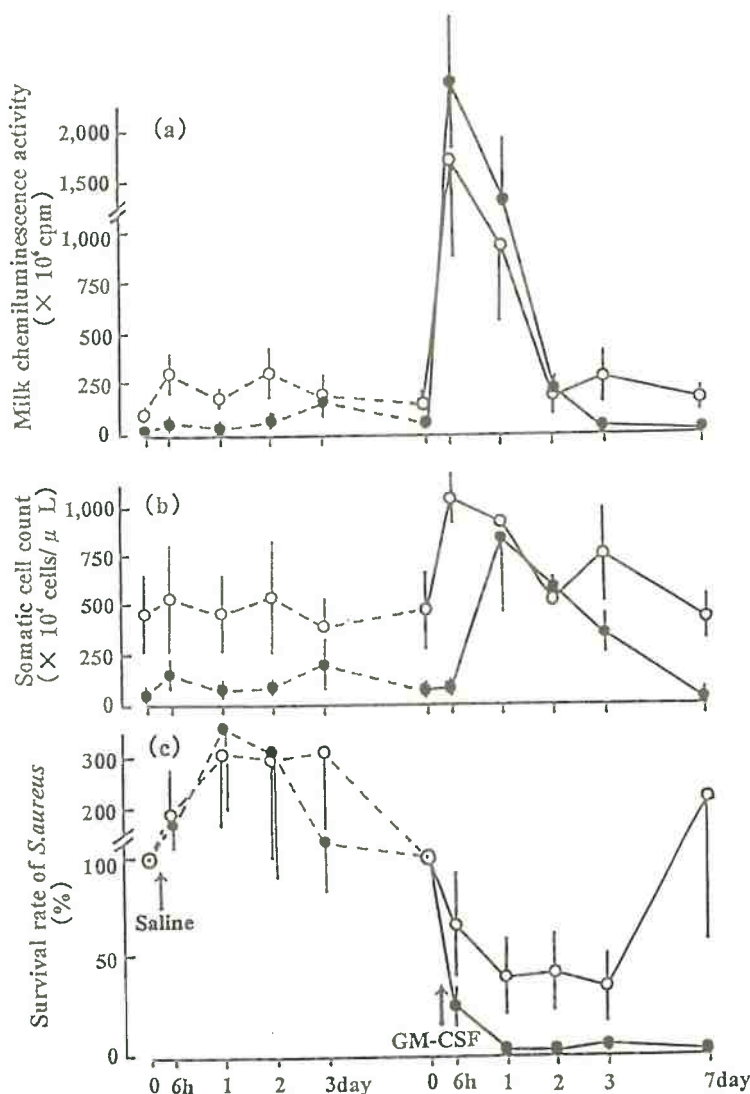


図5 黄色ブドウ球菌由来の潜在性乳房炎罹患乳房へのrBo GM-CSF (400 μg) 投与に伴う乳汁化学発光能, 体細胞数及び黄色ブドウ球菌生残率の変化 治療群 (●; mean ± S.E. of 3 animals) 非治療群 (○; mean ± S.E. of 4 animals)



## ◀国内情報▶

## 泌乳牛乳腺の見事なサイクル変動を基に創製した 2種類の乳房炎防除剤の開発

株式会社ティーセル研究所

熊谷 勝男・小峯 健一・貝 健三

浅井 健一・黒石 智誠・小峯 優美子

ホルスタイン泌乳牛乳房炎の防除法を研究した。乾乳期での発症には、生理的に乾乳導入早期に、その産生誘導が必須であり、乳腺内濃度が急激に上昇する乳汁蛋白の1つである、ラクトフェリン(Lf)製剤を更に、罹患乳房内に投与することによって、明瞭な乳房炎防除効果を得ることが出来た。一方、泌乳期乳房炎には、植物甘草由来するグリチルリチン(GL)製剤を投与することによって、泌乳期の乳房炎の防除効果を得ることの出来ることを発見した。前者は、主として乳腺内の白血球(顆粒球)の食菌機能の亢進に基づいて防除するものであり、後者は、乳腺粘膜組織の胸腺外T細胞からのインターフェロン $\gamma$ やIL-12の産生を刺激して、“自然免疫”臓器としての乳腺の活性化を促し、且つ、感染乳腺でのホスホリパーゼA2を含むアラキドン酸代謝系酵素による炎症作用を抑制して、乳房炎感染を防御するものと考えられる。いずれの製剤も、それぞれの時期の乳腺免疫組織に作用して、その活性化を促すものであり、これまでの抗生物質療法のみ頼った治療法とは一線を画す新療法である。本研究は、さらに、LfやGLの製剤の乳腺内投与の前に、単独で十分ではないが、直接の感染菌の除菌を促すことが出来る、旧来の抗生物質投与を併用することにより、抗生物質単独では完治不能であった、反復性且つ慢性の難治性の乳房炎にも、著しい防御効果をもたらすことも見出した。上記の我々の研究成果は、ホルスタイン泌乳牛の乳房炎は、これまでの抗生物質治療のみでは完治不能であり、然るべき、乳腺粘膜組織の感染傷害の治療も視野に置かなければならないということを示唆するものである。

### 1. はじめに

細菌感染症を主とする感染性乳腺症である乳房炎は、1929年のDr.フレミングによる世紀のペニシリンの発見に始まる数々の抗生物質の開発に基づいて、それらの除菌剤の感染乳腺中への投与による化学療法でその疾患から大いに守られてきている。しかし、現在、世界中の泌乳牛には、乳房炎という疾患はなくなっておるところか、現在でも、泌乳牛乳房は4分房の中の1分房の割合で絶えず、乳房炎に罹患しているとも云われている。その結果、世界中の酪農産業の発達は少なからず障害され、これに関わる極めて多くの酪農家にも多大の心労と計り知れない経済的損失を

KUMAGAI Katsuo, KOMINE Kenichi

KAI Kenzo, ASAI Kenichi

KUROISHI Toshinobu, KOMINE Yumiko

〒989-3204 仙台市青葉区南吉成6-6-3

与えてきている。このような現況を打破すべく、本研究所は、1997年2月に生研機構の肝入りで設立された。以来、5年余、これに立ち向かって以下のような成績は挙げた。

### 2. 泌乳牛乳腺の感染防御に働く 免疫機構の研究

実際は、ホルスタイン泌乳牛は、これまでの長年の産業育成の過程から、極めて多量の乳汁を持続的に寄与してくれる酪農牛として育てられて来ているのであるが、何故、かくも多くの泌乳牛乳腺が、微生物感染による乳房炎に罹患するのであろうか。何と云っても、その最大の理由は、今日の泌乳牛乳腺は、想像以上に過大な産生を営む乳腺に発達分化させられているからであろう。しかし、酪農界自らが感染防御機構の研究に、いささかの怠りがあったからではないのかとも思われる。

しかし、私共は、実際はそんなものではなく、日常のように搾乳している泌乳牛乳腺であるのに、免疫臓器としての乳腺そのものの免疫機構の解明は、これ迄の智識では、そう容易なものではなく、その結果、乳房炎防除の研究がさっぱり進まなかったことにあったのではないかと思うのである。このような背景から、私共がまず最初に行った研究は、泌乳牛乳腺の感染防御に働く、乳腺粘膜臓器内の防御組織の構成の開明である。その結果、私共が思うに、見出された特筆すべき現実には、ホルスタイン泌乳牛乳腺粘膜臓器の免疫組織は、その泌乳サイクルに応じて驚くべき程の変動を伴っているということにあったのである。つまり、よく知られているはずの泌乳牛の泌乳活動期（年間約10ヶ月）と乾乳期（2ヶ月）の乳腺粘膜内の細胞構成は相互に全く異なることであった（図1）。つまり、非感染性で健康な泌乳活動期の乳腺内の主たる細胞は、リンパ球（全体の約60%）であり、そのリンパ球に特徴的なのは、CD8<sup>+</sup>T細胞と

$\gamma\delta$ T細胞を主とした、胸腺外T細胞群であるということであった。我々は、これらの特異的T細胞分布は、乳房内に発達した巨大な乳腺の上皮細胞内に分布している乳腺上皮内リンパ球（Mammary gland intraepithelial lymphocyte : mIEL）に由来するものであることも、免疫組織学的に明瞭に示している。それらの乳腺内のT細胞のCD4<sup>+</sup>TとCD8<sup>+</sup>T群を比較すると、圧倒的にCD8<sup>+</sup>T細胞が多い。これは乳腺では、CD4<sup>+</sup>Tより、CD8<sup>+</sup>Tや $\gamma\delta$ Tがより活発に働いていることを意味する。このT細胞の組成は、腸管粘膜のIELの細胞構成とも類似しており、機能の類似性も推察できる。ところが、そのような泌乳期の乳腺が、乾乳期に導入されると、乳腺内で、上皮細胞がアポトーシスによって消失することに伴って、当然、mIELは消失するが、この変化に伴い、乳腺内細胞の組成は血液由来細胞に変わるのである。そして、 $\gamma\delta$ TとCD8<sup>+</sup>TのmIELTリンパ球の組成は、血液からのCD4<sup>+</sup>T細胞中心の構成に変化するのである。

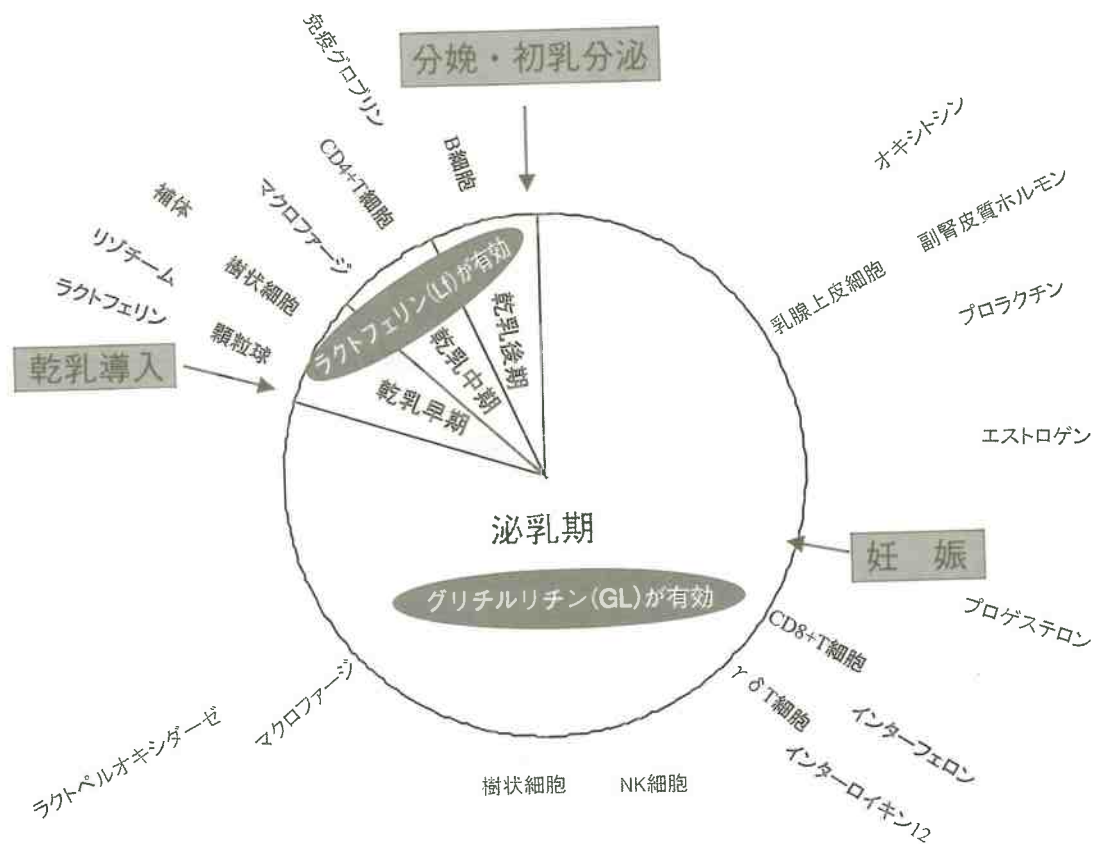


図1 泌乳牛乳腺の泌乳期サイクルとその防御機構



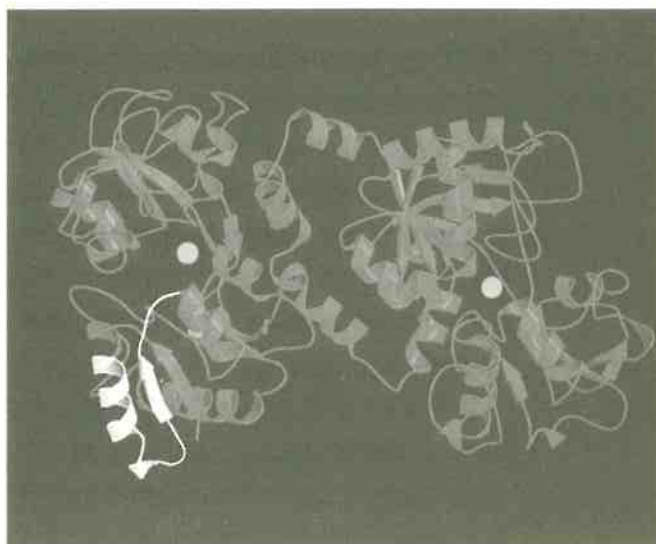
変化はそれにとどまらず、全細胞数の増加が起こるが、この細胞増加で最も重要なことは、増加する細胞の主体は、リンパ球よりは、むしろ、多型核白血球、つまり、顆粒球(PMN) (CD11b<sup>+</sup>細胞) へと変動するのである。このような、泌乳牛乳腺内に検出される細胞組成変化の詳細と、その意味は実際のところ、あまり議論されていなかったのである。[ここまでの乳腺の免疫組織学的研究は、東北大学院・農・機能形態学分野の山口高弘教授とその研究室の方々との共同研究である]

### 3. 乾乳導入早期でのラクトフェリン(Lf)の産生と、その乳房炎防御機構

以上の泌乳期と乾乳期乳腺内の相互の細胞構成と、これに加えるに液中の液性成分の分布と、その違いも図1にまとめてみた。つまり、健康泌乳牛乳腺は分娩仔の飼養、発育に働く多くのミルク蛋白の産生を促すホルモン分子や多彩なミルク成分の他、分娩後の自己の乳腺の保持、発達に必須の蛋白分子も産生している。泌乳牛乳房炎の研究にとって、最も重要な液性因子の代表は、図2に示したラクトフェリン(Lf)分子である。本分子は、母体血液中のトランスフェリンと同様の鉄結合性蛋白であり、本分子には、グラム陰性菌の発育阻止や、ブドウ球菌に結合して、その増殖を抑制する活性があり、さらに、リンパ球を含む各種白血球に作用して、それらの活性化作用や増殖分化を促す作用がある。このLfは、乾乳導入期でのCD11b<sup>+</sup>顆粒球の乳腺内への移入と、その増殖に一致して、泌乳期濃度に見出される量の200倍にも増加する。そのLf量は、乾乳直後から急激に上昇を示し、ピークは20,000  $\mu$ g/mlの多さに達する。本分子は、引き続き起こる泌乳期乳腺の乾乳期への導入誘導にも関与しているものと思われる。

Lfは、前記したように、抗菌活性や白血球に対する活性化作用などの有益な生理作用を持ち、乾乳導入後の乳腺の機能形成にも必須の役割を有する乳汁蛋白と考えられる。

また、このLf濃度の増加する時期は、乳汁



(白色の部位がファクトフェリン。●は鉄イオンを示す)

図2 ウシラクトフェリンの分子構造

中白血球中の、補体第3成分(C3)レセプター(CD11b)を発現している顆粒球細胞が増加して、これらの細胞が感染防御の主役として働いている時期である。従って、当然、これらの細胞は補体C3分子を介した活発な食作用によって除菌作用を営んでいる時期である。

Lf分子は、また、乾乳期乳腺の進行に伴って、乳腺内でのCD4ヘルパー型T細胞やB細胞の分化増殖に基づいて、抗体(各種免疫グロブリン)の分化増殖も促すのである。この抗体産生反応は、勿論、感染した各種細菌の特異抗原の感作に基づいて産生分泌されるが、その抗体産生反応は、乾乳前期から産生分泌しているLfが関与して増強しているものと思われる。

一方、我々は、上記の如く、Lfは泌乳牛乳腺を乾乳期に導入する過程を促したり、免疫グロブリンの産生を助成したりする機能をもつ他に、その産生細胞の主体は、この時期に乳腺中に多量に移入される食菌機能を持つ、顆粒球であることをも示している。従って、Lfを乳房炎罹患乳房に投与することによって、直ちに、その感染症の防除の効果が得られる可能性を期待出来るのである。従って、そのような実験を行ってみた。つまり、発症乳房炎に10~500mg/分房を投与し、感染乳房への本剤の単独投与による乾乳期乳房炎の

防除効果を試験したのである。その結果、本剤200mg/分房の投入が適正な濃度であることが分かった。従って、試験的治療実験として、まず、ブドウ球菌を主とした比較的感染早期の乾乳期乳房炎に対して、200mg/分房のLfを投与して、その効果を観察した。その結果、投与17例中全例に乳房炎発症率0%、ブドウ球菌有菌率11.8%という低値を導く、著しい乾乳期乳房炎の防除効果をもたらすことが示されたのである（対照の軟膏投与群29例では、発症率は50%、有菌率は55.2%といずれも高かった）。これらの防除効果に応じて、乳腺の炎症細胞(SCC)の減少、CD11b<sup>+</sup>顆粒球の増殖抑制、IgG1値の上昇等の炎症抑制反応も得られている。

次いで我々は、抗生物質による数度の治療にもかかわらず除菌出来ず、乾乳期での、主として黄色ブ菌感染による難治性の慢性乳房炎に対し、Lf投与試験を行った。しかし、これらの抗生物質の数度の治療にもかかわらず完治せず、乾乳期に再発する黄色ブ菌感染に

抗生物質(泌乳期用)の単独投与群とLf(200mg)単独投与群ならびにLfと抗生物質の併用群(Lf200mgを投与の3日前に通常量の泌乳期用抗生物質を3日間投入した)を用意して、各治療を行って比較検討した。それぞれの効果は、分娩後7日目での乳汁中の細菌汚染状況と乳房炎の臨床症状から評価した。その結果、Lf単独群には、抗生物質群での治療効果(22/42例:52%)より遥かに多い臨床症状の改善例(9/11例:80%)が得られたが、予め抗生物質による治療を行って、その後Lfの投与を行った併用療法群には、細菌の汚染状況ならびに臨床症状いずれでも、更に顕著な改善が認められ、結果として、全例(18/18例)が有効と判定され、特に、抗生物質単剤およびLf単剤の各治療群には全く認められなかった、著効例が67%(12/18例)も認められるという極めて高い治療効果が得られる結果となった。

#### 4. IFN- $\gamma$ の産生誘導と泌乳期Tリンパ球(CD8<sup>+</sup>T)の活性化を促すグリチルリチン(GL)の泌乳期乳房炎防御機構

泌乳牛乳腺は、図1の如く、泌乳活動の休止期である乾乳期から、乳腺活動の活発な泌乳期が誘導される。この泌乳期に発病する乳房炎防除には、我々は、Tリンパ球を刺激して、まずIFN- $\gamma$ の産生を促す作用の知られているグリチルリチンの利用を考えた。その理由は以下の如くである。つまり、GL(図3)は、既に、人間のウイルス性肝炎の防除剤として、静脈内投与による治療が実施されている植物甘草由来の製剤である。この他、GLには、マウスでは、レトロウイルスの感染を防御することや、肝内の胸腺外T細胞を活性化させる作用のあることなども報告されており、更には、火傷マウスではT細胞(Th1)を活性化することによって、ウイルス(ヘルペスウイルス、HSV)の感染防御の他に、キャンディダ菌の日和見感染症を防御する働きなども報告されている製剤である。そして、我々の目的としている泌乳牛の乳房炎は、その原因

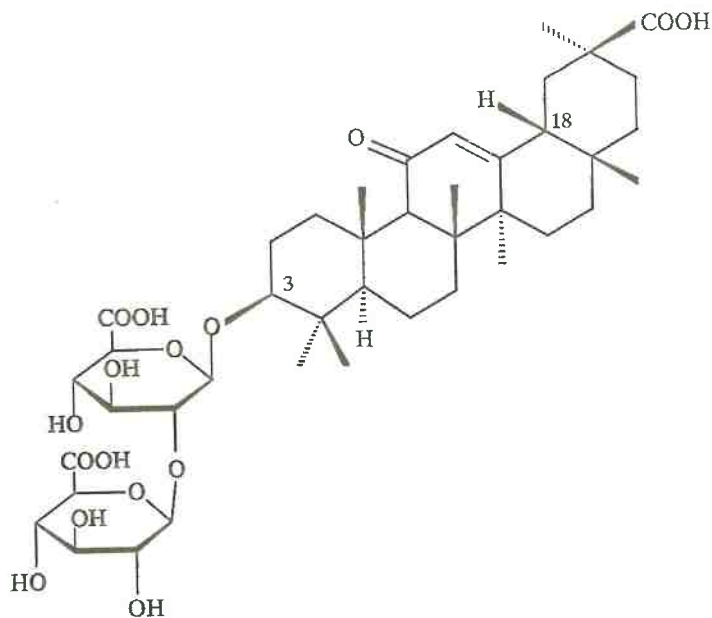


図3 グリチルリチン構造図

による難治性の慢性乳房炎は、Lfの投与にも抵抗して、完治出来ぬ例が殆どで、その確かな有効性を示し難かった。実際には、これらの慢性化した難治性の乾乳期乳房炎の多くは、極めて多量の感染菌を含んでいることから、抗生物質との併用療法を考えてみた。つまり、

菌は、なんと云っても、その主たる病原菌は、黄色ブドウ球菌から表皮性ブドウ球菌までの各種ブドウ球菌であること、そして、我々はこれらのブドウ球菌の殆どは、催炎性トキシンであるエンテロトキシンC (SEC) を産生しておることを知っている。そして、既に、本研究において、本毒素 (SEC) は、グラム陰性桿菌の産生するリポ多糖 (LPS) と共に、泌乳期の乳房炎の発症に働く催炎性因子であることを同定している。更に、我々は、GLはこれらの催炎性因子に基づくアラキドン酸カスケード炎症に対して抑制的に働く製剤であることもよく知っていることから、このGLが典型的な“自然免疫系”臓器である乳腺の細菌感染症である乳房炎に対する抗炎症効果を期待して、その効果を検証したのである。

まず、我々は、中軽症の乳房炎を発症している泌乳期乳腺内に、分房当たり400~500 mgの本剤を投与し、以後3週間にわたって乳腺内での抗炎症効果を追跡した。その結果、GL投与は、その翌日から早々と被験8分房の全ての乳房炎の発赤腫脹が軽減して、その確かな乳房炎炎症の防除効果が示されたのである。つまり、抗炎症剤GLは、明らかに、乳房炎炎症にも、その効果を発揮出来ることを知ったのである。

従って、引き続き我々は、泌乳牛農家から集めた、黄色ブ菌の感染を主とした重症例、あるいは、それまでも度重なる乳房炎の再発を繰り返している慢性症例を集めて、これらの乳房炎へのGL投与を行った。その結果は、GL単独投与では、しっかりした治癒例を見出すことが出来なかったのである。しかし、これらの多くの難治性泌乳期乳房炎には、明らかな乳腺の炎症反応の抑制が認められたことから、これと同様の慢性および難治性の新しい乳房炎を15例集めて、これらにあらかじめ抗生物質を投入し、その4日後にGL各600mg/分房を投与し、GLと抗生物質との併用治療効果を検討した。その結果、これらのGLの難治性泌乳期乳房炎の防除作用は、感染粘膜内に発生しているホスホリパーゼ、プロスタグランジン、その他のアラキドン酸カ

スケード催炎性因子の抑制が認められた他、誘導された各種の炎症性サイトカイン (IL-8, IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  等) の抑制に基づくものであることも分った。例えば、IL-8の産生は、GL投与翌日には著しく抑制されて、検出値以下にまで低下している。その上、GLと抗生物質を同時投与すれば、被験乳汁中では、感染菌除去の著効が示されるのみならず、乳房炎の著効例は11/15、有効例3/15という、計14/15もの有効例を示す結果となった (対照とした抗生物質のみの投与群では、3/15の有効例が示されるに留まった)。[前記したように、乾乳期乳房炎防除剤であるLfでも、再発性や慢性の難治性乳房炎の防除に、抗生物質との併用療法が著しい効果をもたらすことも記した] このGLと抗生物質との併用による慢性乳房炎に対する著効成績は、NOSAI山形の板垣昌志氏との共同研究による。

## 5. 乾乳期乳房炎防除製剤Lfと泌乳期乳房炎防除製剤GLの各地酪農場での今後の治療効果の評価試験の実施

上記した、Lf、GL両剤単独での乾乳期と泌乳期での乳房炎防除効果の再現を確認する。つまり、本年度並びに明年度で、両剤の投与量、投与間隔等を含めて、被験農場、被験乳牛の拡大を計り、また、それぞれ単剤並びに抗生物質製剤との併用療法においての、抗生物質種やLfやGLの濃度の選定を行い、また、両治療法の試験項目を加えて、単剤並びに併用両試験法の内容を更に検討して行く。

## 謝 辞

共立製薬(株)会長・ティーセル研究所社長、高居百合子氏の本研究への深甚なる御支持と、東北大大学院・農・動物制御学分野太田實前教授の酪農科学全般にわたる御指導と共同での御研究、ティーセル研究所 谷山光司 管理部長、貝 恵 所長秘書、渡部貴子研究補助員、板坂路子研究補助員諸兄姉の心からなる御協力に深く感謝致します。



## ◀国内情報▶

## 稲発酵粗飼料用の水稲新品種 「クサホナミ」の育成

独立行政法人 農業技術研究機構 作物研究所  
根 本 博

茎葉を籾とともに稲発酵粗飼料として利用する新品種「クサホナミ（関東飼206号）」を育成した。クサホナミの熟期は極晩生で、関東以西の地域での栽培に適する。クサホナミの玄米収量は主食用品種より約30%多収であり、茎葉と籾を一緒にした株全重収量は約20%多収である。茎がたく耐倒伏性に優れ、多肥栽培や湛水直播栽培に適しており、稲発酵粗飼料としても輸入チモシー乾草並の飼料適性を備えている。

### 1. はじめに

米の生産調整が続く一方で、畜産では口蹄疫やBSE騒動により輸入飼料や資材への信頼が揺らいでいる。こうした中で、休耕田で水稲を転作作物として栽培し、稲発酵粗飼料（ホールクロップサイレージ）として家畜に与える給与法が注目を集めている。しかし、飼料用にはコシヒカリなどの食用品種は必ずしも適さないと考えられ、茎葉の繁茂性が高く、飼料適性や耐病虫性、そして多肥栽培への適応性を備えた稲発酵粗飼料向けイネ品種（以下、飼料イネと略す）が不可欠である。現在、飼料イネとして外国品種のTe-tepなどが九州地方で利用されている他に、「ホシユタカ」や「はまさり」等の品種が飼料用として開発されている。しかし、飼料イネ生産を全国で拡大するためには、より優れた飼料イネ品種が求められている。

こうした要望を受けて、2002年春に農業技術研究機構で開発された飼料イネ新品種「クサホナミ（関東飼206号）」について、その特性を紹介する。「クサホナミ」は同時期に命名登録された「ホシアオバ（中国146号）」、「クサノホシ（中国147号）」とともに、籾と茎葉の両方が多収で、栽培性に優れており、今後の国内における飼料イネ生産の基幹品種として期待されている。

NEMOTO Hiroshi

〒305-8508 茨城県つくば市観音台2-1-18

### 2. 「クサホナミ」の育成経過

クサホナミは玄米収量の高いアケノホシを母、茎葉の繁茂性の良い中国113号を父とする交配組合せから育成された飼料イネ品種である。1994年に中国農業試験場で交配とF<sub>2</sub>世代養成を行った後、農業研究センター（現作物研究所）に材料を移して系統選抜や特性評価を続けて来た。2000年から「関東飼206号」の名称で各地での現地栽培試験や乳牛等への給餌試験に供試された結果、飼料イネとしての適性が確認されたことにより、2002年3月に「クサホナミ（水稲農林378号）」として命名登録された。

### 3. 「クサホナミ」の特性

#### 1) 収量性

飼料イネ品種クサホナミの第一の特長は、茎葉も含めた多収性にある。育成地の作物研究所での移植多肥栽培では、玄米収量が食用品種の日本晴より約30%多収であったが、加工米用品種のタカナリには及ばなかった。しかし、茎葉と籾を一緒にした株全重では日本晴より約20%、タカナリより約15%多収であり、乾物収量で1.7t/10aに達した。こうした高い収量性から、茎葉も利用する稲発酵粗飼料用として他の品種よりも優れていると言える（表1）。

クサホナミは長く立った止葉を持ち、茎葉

が良く繁茂するため、一般品種とは一見して区別できる特徴的な草姿である（写真1）。また、葉や籾に毛茸がない無毛性であるため、水田での他品種との識別は容易である。稈長と穂長は日本晴より長いが、穂数は日本晴より少なく、極穂重型の草型である。特に、1穂当たり300粒近い籾が着生した大型の穂を持っている。茎は太く、耐倒伏性は日本晴よりも優れており、多肥栽培への適応性は高い。籾の脱粒性は一般品種並かやや劣る程度で、収穫時の籾の損失は少ないと考えられる。玄米の大きさは一般品種並であるが、外観品質が著しく不良で、米飯としての食味品質もコシヒカリやキヌヒカリより明らかに劣るため、米飯用には適さない。

## 2) 熟期

クサホナミの出穂期は育成地の茨城県では日本晴より約8日、タカナリより約16日晩生である。一穂の着粒籾数が多いため登熟には一般品種よりも日数が必要で、関東地方では出穂期は晩生の早に、成熟期は極晩生に分類される。熟期から判断して関東以西の広い地域で栽培が可能である。

## 3) 耐病虫性

飼料イネ生産では安全性と経済性から農薬の使用を抑えることが求められ、幅広い耐病虫性を備えた品種が不可欠である。クサホナミはいもち病真性抵抗性遺伝子が不明のため、葉いもちと穂いもちの圃場抵抗性は明確でない。しかし、2000年、2001年の国内各地での試験栽培ではいもち病の発病が全く認められなかった。また、白葉枯病抵抗性は日本晴並のやや強、縞葉枯病にも抵抗性である（表2）。しかし、茎の太い穂重型品種のため、ニカメイガによる被害が一般品種に比べてやや多いという観察もある。

## 4) 直播栽培適性

飼料イネ栽培では省力低コスト化のため、直播栽培を行う例が多い。クサホナミは育成地での湛水直播栽培では、日本晴より地上部

表1 クサホナミの生育特性（茨城県つくば市）

品種名	移植多肥栽培（1998～2001年）						
	出穂期 (月日)	稈長 (cm)	全重 (kg/a)	比較 比率(%)	玄米重 (kg/a)	玄米千 粒重(g)	TDN収量 (t/10a)
クサホナミ	8.24	93	214	119	69.9	20.3	1.21
日本晴	8.15	88	180	(100)	52.4	22.3	1.06
タカナリ	8.8	73	192	107	74.2	19.8	1.03

注)TDN収量は1999年の近赤外分析による推定値である(埼玉県畜産センター)。



写真1 クサホナミ（関東飼206号）

茨城県つくば市 作物研究所

表2 クサホナミの耐病性および諸耐性

品種名	白葉枯病 抵抗性	縞葉枯病 抵抗性	穂発芽 性	脱粒性	耐倒 伏性
クサホナミ	やや強	抵抗性	やや易	難	強
日本晴	やや強	罹病性	中	難	やや強
タカナリ	やや強	抵抗性	極難	やや難	極強

全重は約10%、玄米収量は約17%多収であり、移植栽培と同様に高い収量性を示した。湛水直播栽培で求められる特性の一つである発芽能力について、クサホナミは一般の食用品種並である。しかし、転び型倒伏抵抗性や押し倒し倒伏性に優れていることから、湛水直播栽培への適性は一般品種よりも優れていると考えられる。

## 5) 飼料適性

クサホナミにおける稲発酵粗飼料の乾物中の可消化養分総量 (TDN) 含量は、58～62%程度で日本晴などの食用品種並かやや多い程度である。しかし、面積当たりの乾物収量が多いため、TDN収量としては一般品種よりも多収で、1.02t/10aから1.2t/10aと推定される。畜産草地研究所での乳牛への給餌試験 (石田ら, 2000) によると、黄熟期に収穫したクサホナミの稲発酵粗飼料としての品質は栄養価、嗜好性ともに輸入チモシー乾草並であり、産乳成績はチモシー乾草にやや優るという結果であった。そのため、総合的な評価としてクサホナミの稲発酵粗飼料は輸入チモシー乾草並の飼料適性を備えていると考えられる。

## 4. クサホナミの栽培上のポイント

低コストで多収を求める飼料イネ生産では、栽培する品種に加えて、施肥や収穫などの栽培法でも、注意が必要となる点があると考えられる (坂井2001)。

## 1) 施肥法

多収を目的とする飼料イネ生産では、多肥栽培が前提となる。クサホナミの耐倒伏性は一般品種よりも優れているが、肥沃度の高い水田で極端な多肥栽培をした場合には、倒伏する危険がある。十分に地力を考慮に入れた上で施肥量を決めるとともに、中干し等により倒伏防止につとめる必要が

ある。

## 2) 収穫時期

飼料イネで良い発酵粗飼料を作るためには、食用品種の収穫期よりも早い黄熟期前後に収穫する必要がある。収穫が遅れると粉の消化率が低下し、稲発酵粗飼料の栄養価が低下する。

## 3) 病虫害防除

飼料イネ生産用の農薬は稲発酵粗飼料生産給与マニュアル (2002) のリストから選んで使用する。クサホナミは外国品種由来のいもち病真性抵抗性遺伝子を持っており、現在、国内のいもち病菌では発病しないと考えられる。しかし、いもち病菌のレースの変化によっては急に抵抗性を失う危険性があるため、いもち病の発生には充分気を付ける必要がある。また、茎葉が繁茂するため、株元でトビイロウンカや紋枯病などが発生した場合は被害が大きくなる危険性が高い。飛来状況などの情報に気を付ける必要がある。

## 文 献

- 1) 石田元彦ら (2000), 関東畜産学会報, 50 (1), 14-21
- 2) 坂井真 (2001), グラス, 14, 22-28
- 3) 稲発酵粗飼料生産給与マニュアル (2002), 稲発酵粗飼料推進協議会



## ◀国内情報▶

## 酵母が生産するバイオサーファクタント ～界面の花形役者，省エネからガン治療まで～

独立行政法人 産業技術総合研究所 環境調和技術研究部門  
北 本 大

微生物が作り出す両親媒性の物質は、バイオサーファクタントとよばれ、界面活性作用を始め様々な物性・機能を示す。酵母が生産するバイオサーファクタント（マンノシルエリスリトールリピッド）は、異なる舞台（界面）で多彩な役を演じ、優れたパフォーマンスを発揮する。その舞台は、氷蓄熱から遺伝子導入にまで及ぶ。

### 1. はじめに

界面活性剤は、国内だけでも年間100万トン以上生産され、あらゆる産業で利用されている。目の前のボールペンや缶コーヒーの中でも界面活性剤は不可欠な働きをしている。大部分の界面活性剤は、石油由来の合成品であるが、石けん、レシチン、サポニンなどの動植物由来の界面活性剤も、古くから利用されている。近年、地球環境保全、循環型社会といった観点から、こうした天然系の界面活性剤が一層注目されている。

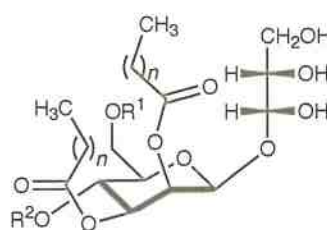
天然系の界面活性剤のうち、特に微生物によって生産されるものは、バイオサーファクタント（BS）<sup>1,2)</sup>と呼ばれる。BSは、1960年代に始まった石油発酵の研究で発見され、当初は生分解性・安全性の高い“界面活性剤”として着目されていた。最近、生理活性作用など既存の界面活性剤には見られないユニークな特性が次々と発見され、“新世紀の超機能性材料”、“花形役者”として各種産業への利用が期待されている。ここでは、我々が研究を進めてきた酵母が作るBS、マンノシルエリスリトールリピッド（MEL，図1）<sup>3)</sup>について、その特性と機能利用を紹介したい。

### 2. バイオサーファクタントの特徴

BSは、その親水基の構造から、1) 糖脂質

KITAMOTO Dai

〒305-8565 茨城県つくば市東1-1 中央5-2



MEL-A: R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = Ac  
MEL-B: R<sup>1</sup> = Ac, R<sup>2</sup> = H  
MEL-C: R<sup>1</sup> = H, R<sup>2</sup> = Ac  
(n = 6 - 10)

図1 マンノシルエリスリトールリピッドの構造

型、2) 脂肪酸型、3) アシルペプチド型、4) 高分子型に分類され、現在では数十種類のものが知られている。大部分のBSは細菌由来であり、酵母によって大量に作られるBSは、今のところ、MELとソホロリピッド（既に化粧品原料として実用化）だけである。

BSは、合成界面活性剤に比べ、1) 多数の官能基や光学活性点、2) かさ高い(bulkyな)構造を持つ。さらに、1) 低濃度で大きな界面活性、2) 緩やかで持続的な作用、3) 優れた配向性（液晶形成能）、4) 生理活性を発揮する。親水基（糖やペプチド）と疎水基（各種の脂肪酸）の組み合わせは実に「狡猾」であり、進化の過程で選び抜かれた構造が、合成界面活性剤には見られない「離れ技」を実現している。

### 3. 役者の発掘，大量生産

糖脂質型のBSは、生産性が比較的高く、

糖鎖に由来する機能も期待できることから、最も関心が持たれている。研究は、まず役者(糖脂質型BS)を探ることから始まった。大豆油を炭素源とする選択培地を用いて生産菌の探索を行ったところ、樹液より分離した酵母(*Candida antarctica* T-34株)が、MELを大量に生産することを見出した(図2)。グルコースなどの糖類を用いて培養した後、集菌・洗浄により得られる(静止)菌体を、疎水性の炭素源のみと混合攪拌するだけで、MELは容易に生産された。植物油を用いた場合、対原料収率は65%であったが、*n*-アルカンの場合には、87%まで向上し、蓄積量も140 g/Lに達した<sup>3)</sup>。

#### 4. 基本を押さえた役者

界面活性の基本は、表面および界面張力低下能である。MELは脂肪酸の鎖長が短い( $C_8 \sim C_{12}$ )にもかかわらず、非常に小さな臨界ミセル濃度( $2.7 \times 10^{-6} M$ )で、水の表面張力を72→28mN/mまで、水-ヘキサデカンの界面張力を53→2 mN/mまで低下させた。例えば、糖脂質型の合成界面活性剤であるシヨ糖



図2 マンノシルエリスリトールリピッドの生産

脂肪酸エステル( $C_{10}$ )では、臨界ミセル濃度は $2.5 \times 10^{-3} M$ で、表面張力は34mN/m程度である。さらにMELは、大豆油や*n*-アルカンに対して、糖脂質型の合成界面活性剤(Tween 80)よりも数倍大きな乳化活性を示した<sup>3)</sup>。

界面活性剤には抗微生物活性を示すものがあるが、MELは枯草菌や黄色ブドウ球菌などのグラム陽性細菌の生育を低濃度で阻害した。その作用濃度(数mg/L)は、シヨ糖脂肪酸エステル( $C_{10}$ )に比べ、1/100~1/200であった。従って、MELは、抗菌作用を兼ね備えた乳化剤としても利用可能である。

#### 5. 氷の番人、エコアイスの効率化

近年、氷蓄熱(エコアイス)が「地球に優しい」冷房システムとして広がっている。氷蓄熱は、氷が冷媒であるため安全性とエネルギー密度が高く、システムのコンパクト性にも優れている。唯一の問題は、貯蔵タンク内で氷の充填率を上げると、氷粒子の凝集が起き易くなり、採熱効率の低下、配管の閉塞等を招くことである。そこで我々は、氷粒子の凝集抑制に界面活性剤を利用することを考え、氷蓄熱モデルで、その効果を検討した。合成界面活性剤の中では、非イオン性、しかも糖脂質型の界面活性剤に、優れた凝集抑制効果が見られた。例えば、Span 80では、1000 mg/Lの添加で30%の氷充填率が達成できた。これに対しMELは、2.5mg/Lの添加で30%、10mg/Lの添加で35%という、極めて優れた効果を示した<sup>4)</sup>。MELの効果は、ベンチスケール実験(3000L貯蔵タンクを使用)でも確認された。これらは、BSが省エネルギー技術に利用可能であることを、初めて明らかにした例である。

#### 6. 白血病細胞を更正

MELは、各種のヒト白血病細胞に対して5~10  $\mu M$ で、増殖抑制、分化誘導活性を示した。この時、他の糖脂質型のBSであるソホロリピッド(SL)とサクシノイルトレハ

ロースリピッド (SLT-1, -3) についても同様に調べた<sup>7)</sup>。いずれのBSにも分化誘導活性があり、さらにその誘導方向が糖によって異なっていた (図3)。例えば、MELはいずれの細胞に対しても顆粒球系への分化を誘導したが、STL-1は単球系への分化を誘導した。

最近、MELは、ラット褐色細胞腫由来細胞 (PC12) に対して神経突起の伸長促進や分化誘導<sup>5)</sup>、悪性腫瘍であるマウス黒色細胞種 (B16) に対して増殖抑制、分化誘導、アポトーシス等を示すことも報告されている<sup>6)</sup>。

## 7. ヒトの抗体をがっちり補足

ELISA法を用いて、MELと糖タンパク質の相互作用を検討したところ、ヒト免疫グロブリン (IgG) に対して結合能を持つことが判った。さらに、MELを高分子ビーズに担持させ、この複合体とIgGとの結合を調べたところ、非常に高い結合定数 ( $1.4 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ) が得られた<sup>7)</sup>。この結合定数は、プロテインAアガロースとIgGの4倍以上であった。詳細な結合機構は検討中であるが、単一のMELとIgGとの結合ではなく、MELがある形態で集合・配向することによって、強い結合性を発現していることが予想された。

## 8. 確実な遺伝子の運び屋

MELのリポソーム (脂質から作られる微小なカプセル) の形成能を調べたところ、直径 $10 \mu\text{m}$ 以上の巨大なリポソームを容易に形成することが判った<sup>8)</sup>。リン脂質がリポソームを形成することは良く知られているが、天然の糖脂質の場合、単独で巨大リポソームを形成することは稀である。このことは、MELが親水-疎水バランス、配向性、パッキング性に優れていること示している。リポソーム形成能があれば、他の脂質と組み合わせ、各種の薬剤や遺伝子輸送担体へと応用することが可能である。

近年、ガン、難病の21世紀の治療法として、外来の遺伝子を体内に導入する遺伝子治療が

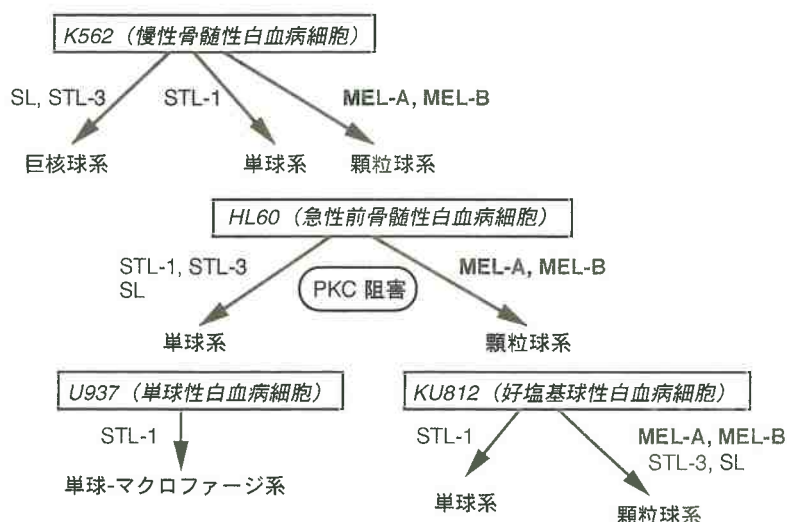


図3 バイオサーファクタントの分化誘導活性

注目を集めている。また、細胞への遺伝子の導入は、遺伝子の機能解析や、機能利用に不可欠な操作であり、現在の生命科学や医学では最も基盤的かつ重要な技術である。これまでの遺伝子治療では、遺伝子の「運び屋」としてウイルスが使われており、常にその病原性が懸念されている。一方、リポソームを「運び屋」とする新しい方法は、ウイルス法に比べ簡便で安全性は高いが、遺伝子の導入効率が非常に低いことがネックであった。DNAは陰イオンを持つため、陽イオン性のリポソームを用いると、両者の結合が促進される。そのため、様々な陽イオン性の高分子、脂質、糖などがリポソーム材料として検討されてきたが、これだけではブレイクスルーは達成されなかった。

そこで我々は、名古屋市立大学の中西 守教授のグループと共同で、新しいリポソームの開発を試みた。同グループにより合成された新規の陽イオン性脂質 (陽イオン性コレステロール誘導体<sup>9)</sup>) を基本材料とし、これにMELを添加し、リポソームを調製した。代表的な哺乳類の培養細胞 (NIH3T3, COS-7, HeLa) に対して、遺伝子導入実験を行ったところ、極めて高い導入効率が得られた。従来の市販のリポソーム (リポフェクチンなど) に比べると、その効率は50~70倍にまで向上し、リポソーム法としては世界最高レベルを達成した<sup>10)</sup>。詳細な導入機構は検討中である



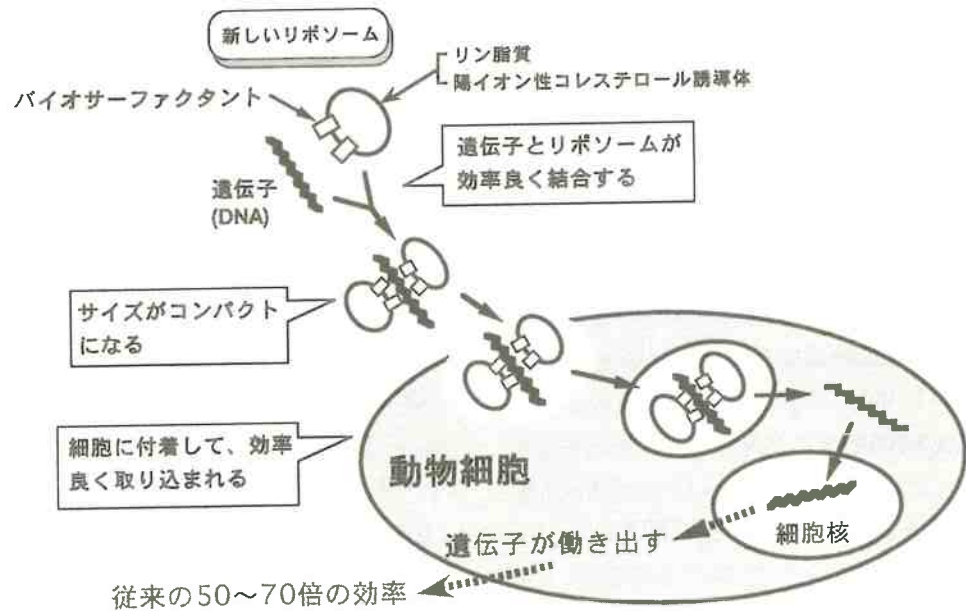


図4 リボソームを利用した細胞への遺伝子導入

が、MEL含有リボソームは、従来のものに比べ、1) DNAとの結合性が高い、2) サイズがコンパクト(適正)である、3) 細胞への付着や取り込みが起り易い、ことが推定された(図4)。

この画期的なりボソームを用いる手法によって、遺伝子導入操作が大幅に効率化され、ライフサイエンスにおける遺伝子機能の研究や、医療における遺伝子治療の研究を大きくスピードアップできるものと期待される。

### 9. おわりに

最近のバイオテクノロジーおよび周辺技術の急速な進展は、BSの実用化に明るい見通しを与えている。BSは、石油利用技術に端を発しているが、現在では、食品、化粧品、医薬品産業から省エネルギー、環境保全技術(バイオレメディエーション)まで、多岐の分野で利用が検討されている。環境適合性と多機能性を兼ね備えた材料であるBSは、近い将来グリーンテクノロジーのフラッグシップ製品となるかもしれない。今後の研究開発の進展に期待したい。

### 謝辞

本研究は、筑波大学の中原忠篤教授、磯田博

子博士、ルイ・パスツール大学の中谷陽一教授、名古屋市立大学の中西 守教授との共同研究の成果である。ここに深く御礼申し上げます。

### 文献

- 1) 北本 大 (2001) オレオサイエンス (日本油化学会), 1, 17-31
- 2) Banat, I. M. et al (2000) Appl. Microbiol. Biotechnol., **53**, 495-508
- 3) Kitamoto, D. et al (2001) Biotechnol Lett., **23**, 1709-1714
- 4) Kitamoto, D. et al (2001) Biotechnol. Progress, **17**, 362-365
- 5) Wakamatsu, Y. et al (2001) Eur. J. Biochem., **268**, 374-383
- 6) Zhao, X. et al (2001) J. Biol. Chem., **276**, 39903-39910
- 7) Im, J.-H. et al (2001) BMC Biotechnology, **1**: 5, 1-7
- 8) Kitamoto, D. et al (2000) Chem. Commun., **2000**, 860-861
- 9) Nakanishi, M. et al (2001) Adv. Drug Deliv. Rev., **52**, 197-207
- 10) Inoh, K. et al (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun., **289**, 57-61

## ◀国内情報▶

## 中山間地域対応自脱型コンバインの開発

生物系特定産業技術研究推進機構

杉 山 隆 夫

中山間地域の振興，活性化を図るため小区画で不整形なほ場や狭い農道に対応できる超小型の中山間地域対応自脱型コンバインを開発した。このコンバインは，5.9kWのガソリンエンジンを搭載した世界最小の乗用自脱型コンバインであること，収穫作業時は乗用であるが急傾斜な農道やほ場進入路での移動に対応するため降車して運転操作ができる安全性の高いコンバインであることなどの特徴がある。このコンバインを供試し，全国3地区で開発促進評価試験を行った結果，実用性が高いことが確認できた。

## 1. はじめに

水稲収穫作業の機械化の発展は目覚しく，水稲の約99%が機械によって収穫されており，大半がコンバイン収穫である。しかし，中山間地域に目を移して見ると，小区画で不整形なほ場，傾斜水田，幅が狭く急傾斜な農道，農業従事者の高齢化，耕作放棄田の増加等に代表されるような厳しい農業条件により，機械化の進展が平地農業地域に比べて大幅に遅れている。中山間地域は，国土の約70%，全耕地の約40%を占めており，水源涵養，洪水の防止，土壌の侵食や崩壊の防止など中山間地域の多面的役割は大きい。そのため食料・農業・農村基本法の中でも中山間対策が大きな柱の一つとなっており，中山間地域等直接支払制度も平成12年度から実施されている。そこで，中山間地域の振興，活性化を図るため，平成10年度より三菱農機株とヤンマー農機株に委託して中山間地域の小区画ほ場や狭い農道に対応し，かつ水稲収穫作業の軽労化や効率化が可能となる安全性の高い超小型の自脱型コンバインの開発を行い，実用化の見通しが得られた。ここでは，開発した中山間地域対応自脱型コンバインの構造，性能等について報告する。



写真1 中山間地域の概要

## 2. 中山間地域の概要

開発研究を進めるに当たり，中山間地域の状況，現地が要望するコンバイン等を把握するため現地調査，資料調査を行った。

その結果，調査した中山間地域は，写真1に示すように稲作経営規模が零細であり，ほ場一筆の面積も大半が1～5a程度と非常に小さく，かつ不整形であった。また，農道やほ場への進入路は1.2m程度と狭く，傾斜も15～30度と急であった。そのため，従来のコンバインが利用できないことから，収穫体系はバインダとハーベスタ体系が主体であった。一方，中山間地域農業に携わる農業従事者は65歳以上が50%を越えており，平地地域に比べて高齢化が顕著であった。そのような状況で，現地で要望されているコンバインは，①機体幅が狭く，小型軽量の乗用自脱型コン

SUGIYAMA Takao

〒331-8537 さいたま市日進町1-40-2

バイン, ②急傾斜にも対応可能な安全性の高いコンバイン, ③湿田走行性が高く, 小回りがきき, 運転操作が容易なコンバイン, ④安価で, 耐久性の高いコンバイン, であった。

### 3. 中山間地域対応自脱型コンバインの開発

#### 1) 中山間地域対応自脱型コンバインの設計指針

中山間地域の調査結果を基に, 次のような設計指針を策定し, 開発を行った。

- ① 2条刈りの自脱型コンバインとする。
- ② 小区画ほ場や狭い農道に対応するため, 機体幅が1200mm程度の小型のコンバインとする。
- ③ ほ場で収穫を行う場合, コンバインに乗って運転操作を行うが, ほ場へ進入あるいはほ場から退出する場合やほ場からほ場へ移動するために畦畔を乗り越える場合, さ



写真2 中山間地域対応自脱型コンバインの概要

らに傾斜農道を上ったり, 下ったりする場合に, コンバインを降りて運転操作が可能なコンバインとする。

- ④ 軽トラックに積載可能な構造を有するコンバインとする。
- ⑤ 稲麦に対しても穀粒損失や損傷粒, 夾雑物が少ない実用性の高いコンバインとする。

#### 2) 中山間地域対応自脱型コンバインの構造概要

開発したコンバインを写真2に, 主要諸元を表1に示す。中山間地域対応自脱型コンバインは, 5.9kWのガソリンエンジンを搭載した刃幅600mmの2条刈り乗用自脱型コンバインである。本コンバインは, 中山間地域の小区画ほ場や狭い農道に対応するため, 従来のコンバインよりも小型で軽量の乗用自脱型コンバインであり, 一部部品(刈取部, カッタ)を取り外せば軽トラックに積載できる質量となっている。また, 変速段数は前進3段, 後進1段であり, 穀粒処理は袋詰め方式, わら処理はシリンダカッタによる切断方式となっている。さらに, 収穫作業時はコンバインに乗って運転操作を行うが, 畦畔乗り越え時やほ場進入, 退出時, 傾斜農道移動時には安全性を考慮してコンバインを降りて運転操作が行えるような構造となっている。

#### 3) 開発機の性能と評価

- (1) 生研機構附属農場における作業性能試験結果

表1 中山間地域対応自脱型コンバインの主要諸元

機体の大きさ	全長 (mm)	2,285	脱穀部	脱穀方式	下こぎ式		
	全幅 (mm)	1,265		こぎ胴径×幅 (mm)	365×333		
	全高 (mm)	1,260		選別部	形 式	風力・揺動選別方式	
	質量 (kg)	430(345*)		穀粒処理部	形 式	袋詰め方式	
エンジン	形 式	空冷ガソリン機関	吐出口数	1+予備1			
	定格出力(kW/1rpm)	5.9/1,800		操作部	前方操作部 (乗用作業時)	操向・刈取部昇降レバー 作業クラッチレバー ギヤシフトレバー ブレーキ、アクセル等	
走行部	形 式	クローラ式	後方操作部 (歩行作業時)		操向レバー 駐車ブレーキ		
	クローラ	幅 (mm)	230		その他	排わら処理装置	シリンダカッタ
		接地長 (mm)	690			自動化装置	こぎ深さ制御装置
刈取部	変速方式	ギヤシフト式	刈取条数 (条)	2			
	刃幅 (mm)	600	刃幅 (mm)	600			

\*) 刈取部とシリンダカッタを取り外した場合の質量。





写真3 中山間地域対応自脱型コンバインの作業風景（島根県鹿足郡柿木村）

生研機構附属農場において、小麦（農林61号）、水稲（朝の光、ゆめみのり）を供試して作業性能を調査した。試験結果を取りまとめると次の通りである。

- ① 小麦、水稲を供試した結果、各部の作動は円滑で、順調に収穫作業を行うことができた。
- ② 小麦（農林61号）を供試し、作業速度を0.2～0.9m/sまで変えて作業精度試験を行った結果、穀粒損失は1.2～1.9%であった。また穀粒口の損傷粒割合は0.0%、夾雑物割合は0.1～0.2%であった。
- ③ 水稲（朝の光、ゆめみのり）を供試し、作業速度を0.2～0.4m/sまで変えて作業精度試験を行った結果、穀粒損失は0.6～2.8%程度であった。また、穀粒口の損傷粒及び夾雑物割合は、それぞれ0.0～0.5%程度、0.0～0.3%程度であった。また、約5aのほ場（平地）を供試して作業能率試験を行った結果、平均作業速度は0.4m/s、ほ場作業量は約5.4a/hであった。

## (2) 中山間地域における開発促進評価試験結果

### ア. 作業状況と性能

作業風景を写真3に示す。開発促進評価試験における作業状況と性能は次のとおりである。

- ① 供試したほ場は、いずれの地区も平均2aの小区画ほ場で、ほ場の進入路の傾斜角は20度を越える場所も多かった。また、進入路の幅は1.3～1.5m程度であり、1m程

度の狭いところもあった。

- ② 前記条件下で試験を行った結果、1日当たりの作業時間や収穫面積は、農家が使用している乾燥機に左右され、それぞれ3.6時間/日程度、9.2a/日程度であった。
- ③ 作業速度は、いずれの地区も1速(0.2m/s程度)が主体であった。
- ④ 作業能率は、手刈り、手こぎも含むほ場作業量が約3a/hであった。生研機構で実施した平地での能率試験結果（ほ場作業量：約5.4a/h、5aほ場を供試）の約60%程度であった。
- ⑤ 作業精度（穀粒損失、損傷粒、夾雑物）は、普及センター担当者の観察で、いずれの地区も「無」～「少」という評価であり、少なかった。
- ⑥ いずれの農家も収穫時は乗用であったが、ほ場への出入時は歩行で行う場合が大半であった。

### イ. 現地試験農家の評価

開発促進評価試験における現地試験農家の中山間地域対応自脱型コンバインに対する評価を取りまとめると次のとおりである。

- ① 石垣や畦畔の際まで刈れるため、田植機で植えたところは収穫が可能であること。
- ② ほ場での小回りが非常に容易で、2m程度の幅があれば旋回可能であること。
- ③ 手刈り面積が少なくて済むこと。
- ④ 倒伏稲に対する引きこし性能が高いこと。
- ⑤ 湿田走行性も高いこと。
- ⑥ 操作が簡易で、慣れるまで時間がかからないこと。
- ⑦ 急傾斜な農道、ほ場進入路も安全作業が可能等、3地区とも順調に収穫作業ができ、実用性が高いという評価であった。

### (3) まとめ

以上から、開発した中山間地域対応自脱型コンバインの高い実用性が確認できた。

## 4. おわりに

中山間地域対応自脱型コンバインは、当然のことながら中山間地域のバインダ利用農家

や歩行コンバイン利用農家が利用するものであり、中山間地域の収穫作業の効率化、労働負担の軽減、安全な作業の実現に大きく貢献できると思われる。また、本コンバインが超小型で小回りの利く高性能なコンバインであることから、中山間地域だけでなく、平地地域の小規模農家の収穫用や坪刈り用コンバインとして収量計測用にも利用できるとと思われる。

開発した中山間地域対応自脱型コンバインは、開発研究並びに開発促進評価試験において実用性が高いことが確認できたことから、高性能農業機械実用化促進事業に移行し、平成14年7月から市販される予定である。

文 献

- 1) 農林水産省編 (1997.9) : 中山間地域の位置づけと中山間地域農業のあり方について、農林水産省 食料・農業・農村基本問題調査会農村部会 (第4回) 資料
- 2) 農林水産省構造改善局 (1994.6) : わが国の農地の現況—第3次土地利用基盤整備基本調査、農林水産省構造改善局、486p
- 3) 杉山隆夫, 他 : 中山間地域対応自脱型コンバインの開発 (第1報) (1999.4), 第58回農業機械学会講演要旨, p299~300
- 4) 杉山隆夫, 他 : 中山間地域対応自脱型コンバインの開発 (第2報) (2001.4), 第61回農業機械学会講演要旨, p47~48



ブレイン テクノニュースの  
バックナンバーご案内  
**第 90 号**

2002 (平成14) 年 3 月15日発行

総 説

トランスジェニック・ニワトリの作出に向けて  
.....堀内浩幸・古澤修一・松田治男

国内情報

ポストゲノム時代のバキュロウイルスを用いた  
タンパク質生産系 .....鈴木健夫  
体細胞クローン雄牛の精子テロメア長の正常性  
.....宮下範和

重イオン突然変異誘発法による植物の品種改良  
.....阿部知子・吉田茂男・鈴木賢一・久住高章

納豆の糸引き成分の合成開始物質の発見と  
今後の展望 .....伊藤義文・木村啓太郎

高温誘導性の活性酸素消去遺伝子で低温に強い  
イネを作る .....佐藤 裕・猿山晴夫  
地域先端研究

食感も滑らかで大豆臭の少ない生大豆粉の  
新製法開発 .....大野彰一

文献情報

移植卵巣の生殖能—移植用器官の凍結バンクの  
実現化にむけて— .....(抄訳：木村直子)  
酵母によるsiderophoreの取り込み

.....(抄訳：北垣浩志)  
シロイヌナズナの突然変異体三量体Gタンパク質  
βサブユニットは葉、花、果実形成に影響する  
.....(抄訳：春原英彦)

プロスタグランジンD合成酵素により誘導される  
腎臓尿管細胞のアポトーシス .....(抄訳：土田貴正)  
海外便り

水分ストレス下の樹木における木部形成時に発現  
する遺伝子の解明—スウェーデン・スウェーデン  
農業科学大学における1年間— .....安部 久  
生研機構からのご案内

- 平成14年生研機構の一般公開のお知らせ。
- 平成14年度各種募集について。

## ◀地域の先端研究▶

酸化チタン光触媒による養液栽培の  
培養液の浄化・殺菌

<sup>1</sup>神奈川県農業総合研究所 <sup>2</sup>東京大学先端科学技術研究センター・  
<sup>2</sup>(財)神奈川科学技術アカデミー  
 深山 陽子<sup>1</sup>・橋本 和仁<sup>2</sup>

環境保全的見地から有機質培地を用いた循環式養液栽培を行うと、循環培養液への有機物混入及び病害拡散が問題となる。これらの対策のために、排出培養液の有機物分解と殺菌を酸化チタン光触媒を用いて行った。光触媒反応に必要な光源は太陽光のみとし、野外に設置した水槽に酸化チタンを塗布した多孔質基材と排出培養液を入れ、処理した結果、目的を達することができた。

## 1. はじめに

現在のトマト養液栽培は、鉍物を加工したロックウール培地を使う方式が主流である。しかし、使用した後のロックウールは産業廃棄物としての処分が必要であり、環境保全の観点から、自然還元しやすいヤシガラ、モミガラなどの天然の有機質資材の代替培地が望まれている。また、栽培作物に与えた培養液のうち作物が吸わなかった余剰液は排水となり、河川や地下水の汚染につながる可能性が指摘されている。それゆえ、排水を再利用する循環式への切り換えが望まれている。

しかし、ヤシガラなどの有機質培地を用いて、排水を出さずに循環利用するためには、培養液中に有機質培地や作物から溶出する有機汚染物の分解、有害病害拡散防止のための殺菌を行うことが必要となるが、その方法は未だ確立されていない。

ところで、酸化チタン光触媒は有機物分解、殺菌効果が生じ、防汚、脱臭、抗菌などに用いられており、空気清浄機、トイレや浴室の抗菌タイル、自動車のボディコーティング、照明器具など多方面への応用・商品化が進んでいる。

そこで、有機質培地を使用し、かつ培養液を再利用することによって、産業廃棄物とな

Miyama Yoko, Hashimoto Kazuhito

〒259-1204 平塚市上吉沢1617

〒153-8904 東京都目黒区駒場4-6-1

るロックウールと排水の両方の問題点の解決を図るため、酸化チタン光触媒を用いた培養液の浄化・殺菌効果について検討した。

光触媒を利用した水処理装置には、コンパクトな装置の中で酸化チタンに紫外線ランプなどを当てながら行うものが多い。しかし、装置が高価になるとともに処理費用も高くなり、人手をかけず大量かつ安価な処理が求められる農業用液体の処理には適さない。ここでは、低コストかつ農家が簡易に作成できる装置の開発を目指し、太陽光のみを利用する方法で処理を行い、栽培試験を行った。

## 2. トマト養液栽培における培養液浄化・殺菌

## 2.1 有機質培地からの排出培養液中の有機物濃度

有機質培地のうち普及・導入が進んでいるヤシガラを培地に用いてトマト（品種：ハウス桃太郎）を栽培した。栽培期間は1999年9月～2001年3月とし、1999年9月3日、2000年1月7日、2000年8月31日、2001年1月18日に植え替えた。培養液は、生育段階に合わせて1株当たり200～2000mL/day/plantの範囲で、給液に対し排水が20%程度になるよう調節しながら与えた。培養液はかけ流し式を採用し、定期的に排水培養液中のTOC（全有機体炭素）と吸光度（Abs. 370nm）を測定した。

その結果、排水培養液のTOCは培地使用初



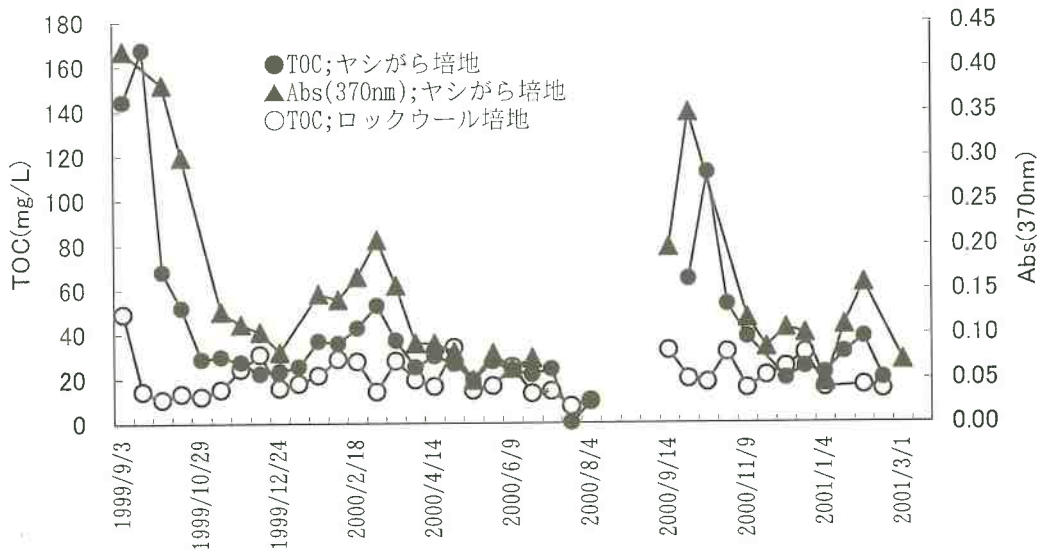


図1 排培養液の全有機体炭素 (TOC) と吸光度 (Abs. 370nm) の経過

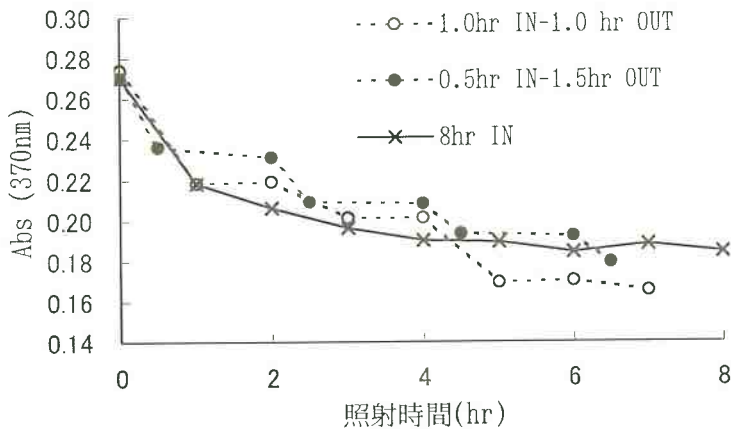


図2 ブラックライト下での排培養液の吸光度 (Abs. 370nm)

○; 1.0hr IN-1.0hr OUT...排培養液を1時間浸し1時間抜く作業の繰り返し。●; 0.5hr IN-1.5hr OUT...排培養液を0.5時間浸し1.5時間抜く作業の繰り返し。×; 0.8hr IN...排培養液を8時間浸した。いずれもフィルタは連続照射する条件下に置いた。

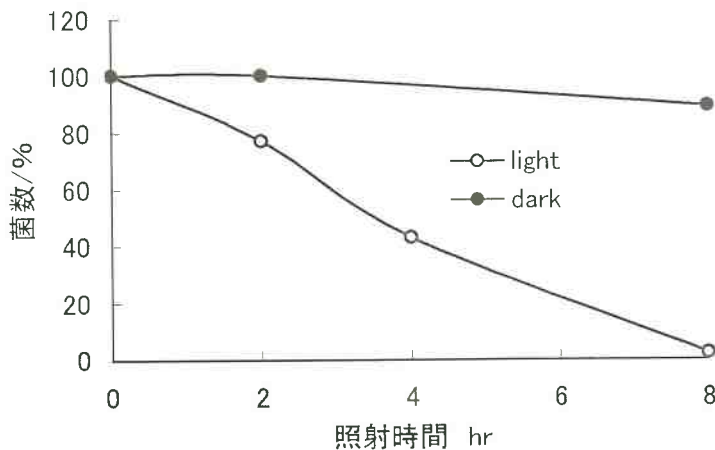


図3 ブラックライト下での一般細菌数の経過

○; light...光照射 ●; dark...暗黒

期及び高温期に他の時期より高く、おおよそ 20~200mg/Lの範囲で変動し、吸光度は TOCとほぼ同様に経過することがわかった (図1)。

## 2.2 供試した酸化チタン

酸化チタンは白い粉末である。光が当たる面積が多くとれたほうが反応は進む。我々は室内試験を積み重ねた結果、多孔質基材に酸化チタンを塗った酸化チタン光触媒セラミックフィルタ (以下、光触媒フィルタ: 写真1参照) を用いるのがよいという結論を得た。

## 2.3 室内試験

### 2.3.1 浄化効果の結果

ステンレス製容器にヤシがら培地からの排出培養液と光触媒フィルタを入れ、ブラックライトで上から太陽光レベルの紫外光を照射した。光照射により吸光度は下がり、有機物分解が行われていることが推察された。また、一定時間ごとに処理液を除去したほうが分解は速くなることがわかった。(図2)

### 2.3.2 殺菌効果

ステンレス製容器に光触媒フィルタを入れて液中の菌数を調べた。光照射により時間が経過するとも一般細菌数は下がり、殺菌効果があることがわかった。(図3)

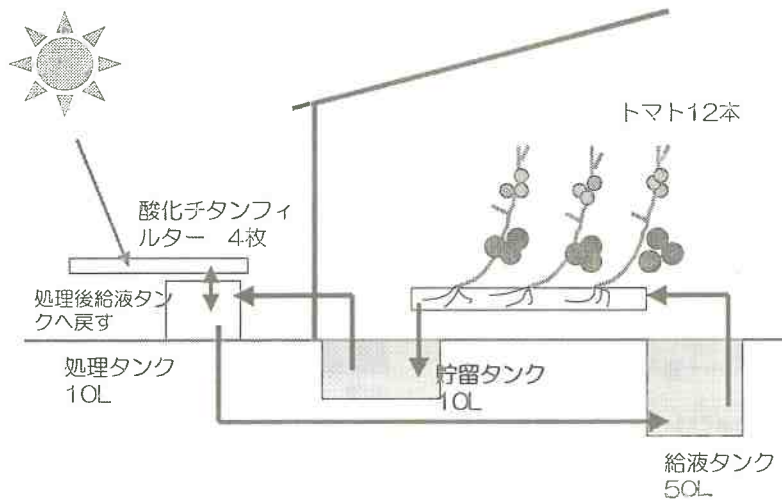


図4 栽培実験装置の概略



写真1 処理水槽

#### 2.4 栽培実証試験

まず、最初に、浄化の効果に着目して行った。

##### 2.4.1 作成した装置及び試験方法

光触媒処理実験に用いた処理装置は、太陽エネルギーは比較的希薄エネルギーだが、面積で補って十分に実用的な処理効果が確保できるような装置にした。

実験装置は、給液タンク、貯留タンク、処

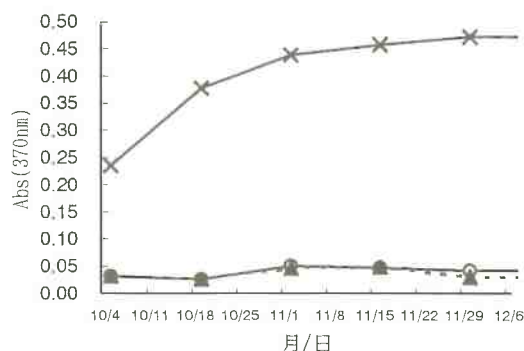
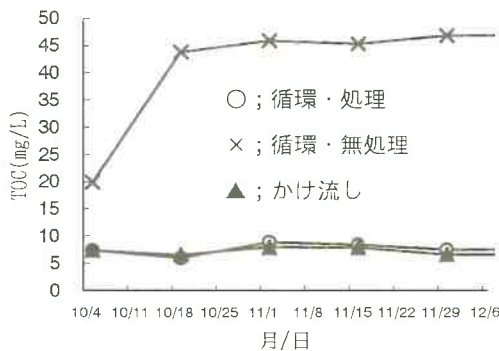


図5 給液タンク内の全有機体炭素濃度 (TOC) および吸光度の経過

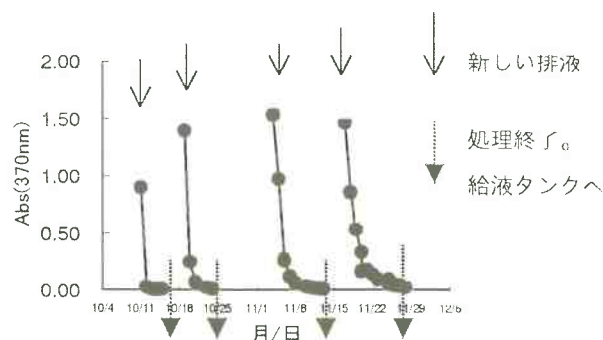
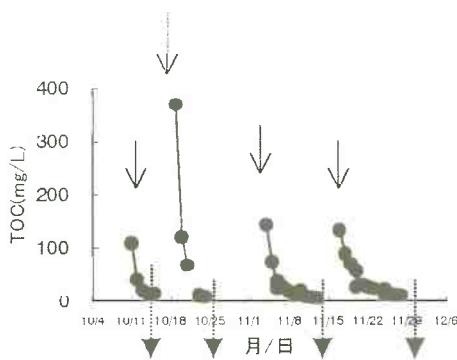


図6 処理タンク内培養液のTOCおよび吸光度

理タンクの3つのタンク，植物を植える発泡スチロール製栽培容器，光触媒処理を行うステンレス製水槽を有する。(図4)栽培容器底部には排出培養液回収用の溝を設けた。光触媒処理を行う水槽は温室の外に設置した。水槽内には光触媒フィルタ(295mm×245mm×20mm：盛和工業製)を4枚置いた(写真1)。培養液の流路は，給液タンク→栽培容器→貯留タンク→処理タンク+光触媒水槽→給液タンクとした。

試験区は，酸化チタンによる排出培養液処理を行った区(循環・処理区)の他に排出培養液の処理を行わず再利用した区(循環・無処理区)，排出培養液を利用しない区(かけ流し区)を設け，計3試験区とした。

トマト(品種：ハウス桃太郎)は2001年8月20日に播種し，栽培容器にヤシガラ培地を充填した後，同年10月5日に12本定植した。

トマトに給液する培養液を生育段階に合わせ，給液タンクからの給液に対し排液率20%



写真3 排液の光触媒処理を行った養液栽培トマト

程度になるように量を調節しながら与え，植物が吸収しなかった排出培養液を貯留タンクに溜めた。

貯留タンク内の排出培養液の量が10Lに達したら，排出培養液を処理タンクに移し，処理を行った。処理は，7時から16時まで(11月26日以降は9時から16時まで)の間，1時間ごとに処理タンク内のポンプを作動させ，排出培養液を水槽の中に移動させた(7時から8時，9時から10時，11時から12時，13時から14時，15時から16時までポンプ作動。他の時間帯は停止)。このとき排出培養液の水深をセラミックフィルタの厚さと同じ20mm程度に保つようオーバーフローは処理タンクに回収した。処理後，排液は光触媒処理を行う水槽で蒸発した分の水を追加してから給液タンクに戻した。

なお，実験中は天候にかかわらず装置を運転した。処理タンクに混入した雨水は培養液として利用した。

#### 2.4.2 有機物分解効果及びトマト収量

給液タンク内の培養液のTOCと吸光度は培養液かけ流し式の給液タンク内の値と同程度に保たれ，有機物分解速度が実用レベルに達していると考えられた(図5)。

処理タンク内でTOC及び吸光度は日数を経るとともに低下しており，処理により有機物が分解されていることが明らかとなった(図6)。なお，処理タンク内の排液量は晴天時には少なくなり，雨天時には増加した。処理後，酸化チタンフィルタの裏側が褐変するが(写真2)，褐変したフィルタは反転し

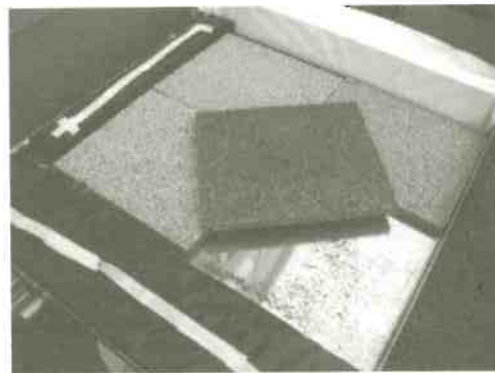


写真2 処理後の光触媒フィルタ(光が当たらない裏側は褐変している)

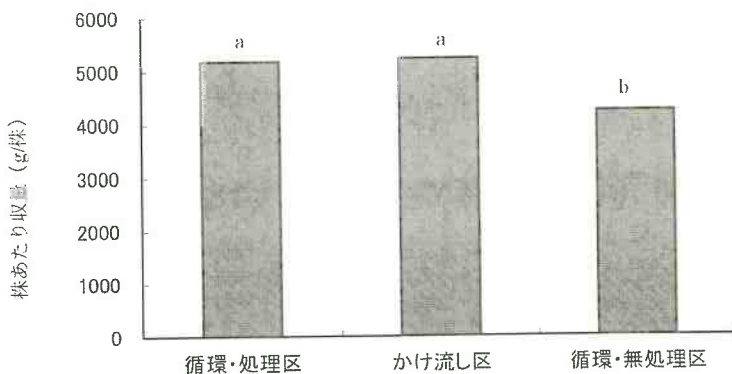


図7 株あたり収量調査の結果(平成14年3月末現在)



ておくと数時間以内に再び白色に戻った。

平成14年3月現在、光触媒処理をした培養液を用いているトマトは順調に生育している(写真3)。また、循環・処理区とかけ流し区では同等の収量が得られている。一方、循環・無処理区は他の2区より収量が劣っている。(図7)

### 3. おわりに

以上より、今回検討した野外設置型光触媒処理装置の排出培養液浄化処理能力は目標とする値(給液タンク内の培養液中有機物濃度が元の液と同等)を達成していると考えられる。

今後、筆者らは同実験装置を用いて、引き

続き培養液浄化効果を調べるとともに、培養液に植物病原菌を添加し、光触媒処理による病害抑制効果を調査する予定である。

また、本研究で実施したある程度広い面積を使い、太陽光を利用した光触媒処理は、養液栽培の培養液浄化・殺菌に限らず、農畜産業分野での広範囲の応用が可能と考えられる。

### 文 献

- 深山陽子ら(2000), 会報光触媒, 3, 72-73
- 深山陽子ら(2001), 会報光触媒, 6, 158-159
- ・橋本和仁ら(2002), 最新光触媒技術と実用化戦略, (株)ピーケーシー, 印刷中



## ブレイン テクノニュースの バックナンバーご案内 第 89 号

2002(平成14)年1月15日発行

#### 巻頭言

新時代の研究開発に向けて……………堤 英隆

#### 総 説

魚類のゲノム研究と分子生物学の最近の動向—フグとゼブラフィッシュを中心に— ……鈴木 徹  
国内情報

海藻を微粒子化し、稚魚や貝の飼料として利用するマリンサイレイジを開発 ……内田基晴・村田昌一  
ヒトボランティア介入研究によるリンゴの

健康増進効果の解明 ……………田中敬一

新たな需要を見込んだサツマイモ新系統「関東

116号」,「関東117号」の特性—従来用途向け

育種への新たな視点の導入— ……………中谷 誠

人工シャペロンによる変性タンパク質の活性化

—タンパク質リフォールド手法の開発—

……………町田幸子・林 清

#### 地域の先端研究

マルチプレックスRT-PCRを用いたリンドウに

感染する3種類の植物ウイルスの同時検出法

……………黒田智久・鈴木一実

鶏の新用途開発:新たな畜産振興に向け

ペット用鶏「プチッコ」を作出 ……………吉村 敦

#### 文献情報

抗体がプリオンの増殖・伝播を抑制し、培養細胞の感染プリオンを消滅させる …(抄訳:横尾正樹)

微生物由来の多糖の分解性 ……(抄訳:水野征一)

余は如何にして二倍体となりしか(抄訳:岩井純夫)

ポリコムは植物の発生初期で花芽形成を抑制する

……………(抄訳:春原英彦)

脂肪食がアルコールによる肝臓障害を抑制する

……………(抄訳:吉戒和剛)

#### 海外便り

魚類の免疫系調節機構の内分科学的解明

—アメリカ・ハワイ大学海洋生物学研究所

での1年間 ……………矢田 崇

生研機構からのご案内

21世紀型農業機械等緊急開発事業による新規開発機

械・装置の公開,並びに研究報告会の開催について。

BES(牛海綿状脳症)に関する正確な知識の普及につ

いて。生研機構基盤研究推進事業成果発表会の紹介。

## ◀文献情報▶

核移植クローン技術による  
 $\alpha$ -1,3-Galactosyltransferase  
ノックアウトブタの  
作製Production of  $\alpha$ -1,3-Galactosyltransferase  
Knockout Pigs by Nuclear Transfer CloningLiangxue Lai, Donna Kolber-Simonds,  
Kwang-Woop Park, Hee-Tae Cheong, Julia  
L. Greenstein, Gi-Sun Im, Melissa Samuel,  
Aaron Bonk, August Rieke, Billy N. Day,  
Clifton N. Murphy, David B. Carter, Robert  
J. Hawley, Randall S. PratherDepartment of Animal Science, University  
of Missouri, Columbia, MO 65211, USA*Science*, 295, 1089-1092 (2002)

1996年7月、体細胞クローンヒツジ・ドリーが誕生して以来、その体細胞クローン動物の作出技術は畜産分野のみならず、最近では医学生物分野への応用に関心が集まっている。特に、ヒトの臓器移植のための代替臓器提供動物作出への応用が期待されており、臓器提供ドナー動物としては大きさや血液生化学値などの生理条件がヒトに近いブタが注目されている。しかし、ブタからヒトへの臓器移植では拒絶反応の問題があり、それが大きな障害になっている。その原因は、ブタの細胞の表面にはヒトには存在しないある種の糖 ( $\alpha$ -1,3-Galactosyl) が存在しているため、移植の際、そのエピトープを認識した抗体をヒトの免疫系が産生し、超急性拒絶反応を起こしてしまうためであると考えられている。本論文では核移植によるクローン技術を用いることで、この糖を産生する酵素である  $\alpha$ -1,3-Galactosyltransferase (GGTA1) 遺伝子をヘテロで欠損させたトランスジェニッククローンブタの作出に成功したことを報告している。

核移植に使用するドナー細胞には、ヒト細胞へのブタ内在性レトロウィルスの感染性が陰性であることが確認されたミニブタ細胞が

使用された。妊娠37日の胎児細胞 (オス1頭、メス3頭) から細胞系列を作製し、GGTA1 遺伝子を、G418耐性セレクションカセットが挿入されたexon 9を含むターゲティングベクターで相同組換えすることによって破壊した。G418選抜培養によって得られた細胞クローンのうち8クローンにおいてデザインどおりの相同組換えが起こっていることがRT-PCRを用いた分析で確認できたため、各胎児細胞由来のクローンから1クローンずつ選択して、これらをドナー細胞に使用した。レシピエント卵へ核移植し、仮親への移植の結果、7頭のトランスジェニッククローンミニブタが生まれ、4頭が生存可能であった。出生時の体重は通常のミニブタと比べ小さく、そのうちの3頭は心肺系などに異常が見られたが、残りの1頭では異常は見つからず、身体的、臨床的に正常であったと報告している。

臓器移植は、臓器不全の末期患者に対する治療法として普及してきているが、需要に供給が追いついていないのが現状であり、このような状況から異種臓器移植の研究が本格的に進められてきた。本論文において、異種臓器移植時の拒絶反応に関与する抗原性を低下させた動物の作出、しかもヒトへの臓器提供動物として最も期待されていたブタにおいて成功したことは、今後の異種臓器移植の研究において非常に大きな意味をもっていると言える。筆者らも最後に述べているように、次のステップはGGTA1をヘテロではなく、ホモで欠損させたブタを作出することである。近い将来、このノックアウトクローンブタが現在の世界的な移植臓器不足問題を解決してくれるかも知れない。

(抄訳：横尾正樹, YOKOO Masaki, 東北大学大学院農学研究科)

## ◀文献情報▶

## 蛋白質分解における X-Propyl Dipeptidyl AminopeptidaseとNon- Specific Aminopepti- daseの相乗作用

Synergistic Action of an X-Propyl Dipeptidyl  
Aminopeptidase and a Non-Specific Amino-  
peptidase in Protein Hydrolysis

Tony Byun, Lene Kofod, and Alexander  
Blinkovsky

Novozymes Biotech, Incorporated, 1445  
Drew Avenue, Davis, California 95616

*J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 2061-2063

風味は食品における重要な要素の一つである。蛋白質分解によって生じた短鎖ペプチドやアミノ酸は、それを含有する食品固有の風味を形成している。また、一般的に長鎖ペプチドは苦味を形成する。それゆえに、食品の風味改善には長鎖ペプチドを分解することが重要となってくる。必須アミノ酸の中でも、特にプロリンは特徴的な形をしているために、酵素分解の切断部位を制限する要因となっている。更に、プロリン含有部位は酵素分解の制限部位になっているにもかかわらず、強い苦味を持っているため、それを遊離させることが風味改善で重要になってくる。

近年、筆者等は *Aspergillus oryzae* 由来の新規酵素 Non-specific monoaminopeptidase (以下AP) と X-propyl dipeptidyl aminopeptidase (以下X-PDAP) がプロリン含有ペプチドの加水分解において強力な相乗作用を示すことを発見した。APはN末端のプロリンを高い効率で切断する。それに対して、X-PDAPは、N末端のX-Pro配列を有効に遊離させる事が判明した。本検討では、多様なアミノ酸構成をしているというだけでなく、N末端にAla-Proを含んでいるという理由で、ペプチドAPGDRIYVHPFを分解基質として選択した。AP単独で反応させた場合は、遊離アミノ酸は生じなかった。それに対して、

APとX-PDAPを同時に加えた場合は、X-Pro (ここでは、Ala-Pro, His-Pro) 結合以外の全てのペプチド結合が完全に切断される事が判明した。また、カゼイン、大豆蛋白質、グルテンの酵素分解において、APとズブチリシンを同時に加えた場合の加水分解度 (degree of hydrolysis : 以下DH) は54, 54, 47%, X-PDAPを更に加えた時のDHは69, 72, 64%であり、非常に高いDHが得られた。酵素を組み合わせる事で相乗的に蛋白質分解が行え、現在行われている化学薬品を用いた加水分解に置き換えることができる可能性が示された。

現在、食品分野では、蛋白質を酵素処理する事により生じた機能性ペプチド生成に関する検討が盛んに行われているが、風味改善、苦味除去は重要な課題の一つとなっている。本検討を応用することで、課題克服のきっかけになる可能性がある。今後の報告に期待したい。

(抄訳：西村新吾, NISHIMURA Shingo, カルピス(株)基盤技術研究所)

## ◀文献情報▶

## NOはABAのシグナル伝達物質? Yes or No?

Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells.

Steven J. Neil, Radhika Desikan, Andrew Clarke, and John T. Hancock

*Plant Physiology*, 128, 13-16 (2002)

NOはアミノ酸の一種アルギニンより生成される水溶性の気体で多くの動物組織で重要なシグナル伝達物質として働くことはよく知られている。NOが植物でも刺激伝達物質として作用することが明らかになったのは、ごく最近、1998年のことである (Delledone et al)。病原菌による植物細胞の壊死、いわゆる過敏感反応はNOによって誘導されたアポトーシスによること (A. Clark et al, 2000)、環境ストレス耐性をひきだすこと (C. Mata et al 2000) などが明らかにされるに及んで、NOは植物科学においても最もホットな化合物となった。C.C. Mata等は同論文の中でNOが気孔を閉孔させることも示しており、NOは前に述べたように有名なシグナル伝達物質であることから、何らかのシグナルによるものであろうとしているが、その何かまでは明らかにしていない。ここに紹介する論文はそのシグナルが何かを示したものである。

著者等はC.C. Mata等の結果の追試から始める。エンドウでもNO発生剤のSNPにより気孔が閉じることを確かめる (Mata等はソラマメ使用)。次ぎに、NOスキベンジャーのPTIOと合成阻害剤のL-NAMEを供与しておいた葉にABAを与えても気孔が閉じないことを明らかにする。更に、NOと結合すると蛍光を発するDAF-2DAを用いた実験で、ABAを投与すると孔辺細胞の細胞質が蛍光を発し、そこにPTIOを与えると光らなくなる。すなわち、ABAはNOを発生誘導し、そのNOは気孔を閉孔させる。言い換えると、NOはABAにシグナル伝達物質である。

それではNOはシグナル伝達経路のどこに位置するか? cGMP合成阻害剤ODQによ

りABAとSNPによる気孔閉孔が妨げられること、cGMPの構造類似体で同じ作用を示す8-Br-cGMPはODQによる阻害を回復させること、cADPRの合成阻害剤であるnicotianamideはSNPとABAによる気孔閉孔を阻害することから、NOはcGMP及びcADPRの上流に位置することが分かる。また、ABAによる孔辺細胞でのシグナル伝達はCaによる系とよらない系があるが、Caのキレート剤であるEGTA-AMを投与してもSNPによる気孔閉孔は阻害されず、Caによらない系に関与しているのであろう。

この論文が発表されてすぐ時をおかずに、同趣旨の論文をMataは同じ雑誌に発表している (Plant Physiol. 128, 790-792)。受理された日付をみるとわずか3ヶ月の差であり、NOが気孔閉孔をもたらすことを発見した彼等にしてみれば「トンビにあぶらげ」の心境ではなかろうか?

蛇足をひとつ。そそっかしい筆者は麻酔に使う笑気ガスがNOだと長い間信じ込んでいた。笑気ガスはN<sub>2</sub>Oなのでお間違えのないように。賢明なる読者はそういうことはあるまいが。

(抄訳: 岩井純夫, IWAI Sumio, 鹿児島大学農学部)



## ◀文献情報▶

**KNAT1とERECTAはシロイヌナズナの花序構造を制御する。**

*KNAT1 and ERECTA regulate inflorescence architecture in Arabidopsis.*

S. J. Douglas, G. Dhuck, R. E. Denger, L. Pececanca, C. D. Riggs

Botany Development, University of Toronto, 1265 Military Trail, West Hill, Ontario M1C1A4, Canada

*The Plant Cell* 14, 547-558 (2002)

植物の構造は、主軸に対する側生器官の位置と同様に、側生器官の数や対称性を決める形態形成因子によっても規定されている。高等植物において、地上部の器官形成は茎頂分裂組織 (SAM; shoot apical meristem) と呼ばれる器官原基を作るドーム状の形態形成部の活性に依存している。SAMは周辺の不均一性と同時に放射極性、頂部—基部極性も示している。これらの非対称性はSAMの機能を支持し、器官形成を持続するのに必要であるが、シュートの形態形成と分化のパターンを制御することによって器官形成にもっと直接影響するかもしれない。最近、シュートの放射状形成と葉の表裏パターンの関係が証明され、葉の形態形成パターンがシュートで見られる放射状の非対称性の認知と理解に依存しているかもしれないことが示唆された。これらのことは、器官形成中に機能する活性オーガナイザーとしてのSAMが、早い時期の器官原基の非対称性を見積もったり、位置的に別々な発生プログラムを指示していることを示している。多くの直立した植物では、側生器官の形成は、茎と側生器官の連結点 (節) を区切る節間を形成する茎組織の伸長によって行われている。節の一方で、節間は放射状にあるように見える。SAMの周辺パターンの不均一性が、見た目に放射状に位置する節間へ、どのように変化するかは不明である。

葉や花器官のパターンに異常のある変異体は、シグナル経路への新たな考察を与えてくれる。しかし、植物の構造を論ずるときに非常に重要な位置を占める茎のパターンに関する情報は少ない。そこで、著者らはシロイヌナズナの *brevipedicellus* 変異体、5つのアレルを単離した。*brevipedicellus* 変異体は、節間と小花柄の短化、節の屈曲、下向きの花と長角果の形成を示す。*bp*の茎は発生中に曲がり、結果として、下向きの小花柄と節における花序軸の屈曲に特徴づけられる変わった構造を持つことになる。特に、遺伝的背景に *erecta*が入っている系統では、その程度が著しい。茎の屈曲は側生器官と隣接する節と小花柄の背軸領域における葉緑組織の欠損と関連がある。非葉緑組織の縞は各節から求基的に広がっており、異常を示す側生器官に給される脈管組織に沿って位置している。

map-basedクローニングと相補性検定から *KNAT1*ホメオボックス遺伝子のヌルな突然変異が、これらの多面的な表現型の原因であることが明らかになった。著者らの、シロイヌナズナの野生型において葉緑組織が近接する葉緑組織をダウンレギュレートする、という知見は、*KNAT1*と*ERECTA*が、節において非対称的に位置し、管脈構造を支持する葉緑組織のリプレッサーの働きを制限するのに必要である、と示唆している。ちなみに、*ER*遺伝子は茎頂分裂組織と器官原基で発現し、茎発生制御における細胞間シグナルネットワークに影響しているであろうレセプタープロテインキナーゼをコードしていることがわかっている。

以上のデータは、これらの遺伝的に定義された経路を操作することによって観賞植物や作物の構造を変えることが可能であることを示唆している。

(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▶

## 血液・血管系の形態形成や病態とゼブラフィッシュの接点

Organogenesis-Heart and Blood Formation from the Zebrafish Point of View

Christeine Thisse and Leonard I. Zon

Science 295, 457-462, 2002

ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) は体長 5 cm ほどの小型熱帯魚で、成体の体表に紺色の縦縞がある事よりゼブラダニオという名前で熱帯魚愛好家に昔から親しまれてきた。分類学的にはコイ目コイ科ダニオ属に属し、コイやキンギョに近い魚である。この魚は飼育が容易で世代交代期間が 2~3 カ月と早く、簡単に入手できる。また、胚は透明で顕微鏡を用いれば小 1 日 (19 時間) の短期間で体節形成期後期まで詳細に観察できるなどの利点から、以前より発生学の材料として用いられてきた。ところが、今年 1 月末の Science 誌で Thisse らは、ゼブラフィッシュをヒトの血液・血管系疾患の原因究明の材料として利用できるかもしれないと示唆している。

ゼブラフィッシュの心臓は左右の 2 心室が分厚い筋組織で構成され、逆流を防ぐ弁を備えているので、高圧力の血行動態を生み出す事ができる。また、正確な拍動が電気生理学的に調節されているなどヒトの心臓とよく似ていると考えられる。しかし、ヒト心臓は左右それぞれに心房・心室を備え全部で 4 部屋あるけれども、ゼブラフィッシュの心臓は 2 部屋しかない点は異なっているものの、遺伝学で用いられる線虫 (*C. elegans*) やショウジョウバエ (*Drosophila*) の心臓が一室である点と比較するとゼブラフィッシュの心臓は形態的、機能的にヒトの心臓と似ていると考えられる。また、心臓の形成を司るいくつかの遺伝子の働きがゼブラフィッシュとヒトで次の様によく似ていると言うのである。

ゼブラフィッシュの *faust* と *miles apart* は

どちらも 2 つの心臓を持つ遺伝的変異株である。正常な発生は左右に離れた 2 心臓前駆器官が別々に成熟した後お互いに正中線方向に近付いて融合し完了するが、これらの変異株では心臓前駆器官が移動できない結果、2 つの心臓が別々に拍動する。遺伝子解析の結果、*faust* 変異株、或いは *miles apart* 変異株はそれぞれ、GATA 結合タンパク 5 という転写因子、或いは脂肪族受容体が欠損を受けていると解った。そこで、この受容体のノックアウトマウスを作ったところ、血管平滑筋細胞が数カ所に沈着する血管成熟不全を示し出血と浸潤による胎生致死だった。一方、正常マウスの血管は、血管平滑筋細胞が血管周囲に移動し血管を均一に取り囲みながら成熟していた。つまり、ゼブラフィッシュの *miles apart* 変異株とノックアウトマウスはどちらも循環器系細胞の移動障害を示し、この受容体遺伝子が両動物で類似の働きを司っていると示されたというのである。さて、血管平滑筋細胞の過度の移動や増殖は動脈硬化症の進行を引き起こす原因のひとつと考えられているので、近い将来、循環器系疾患の原因を探る上でゼブラフィッシュの変異株を利用できるかもしれないと述べている。

更に、Thisse らはゼブラフィッシュの血球系細胞の有用性についても言及している。ゼブラフィッシュの赤血球は有核で、ヒト赤血球が無核である点と異なっているものの、両動物の赤血球は共に GATA 1 という赤血球マーカーを発現している点で共通していて基本的に似ていると考えている。ゼブラフィッシュ *sauternes* は ALAS 2 という遺伝子欠損株だがシデロプラスト貧血症のモデルとして使えるかもしれない。また、*dracula* はポルフィリン血症のモデルになるかもしれないと述べている。ゼブラフィッシュの縞模様に魅せられたのは以前は発生学者だけだったが、最近、文学的呼称の変異株に医学・薬学界の関心が高まっている様子である。

(抄訳：玉井忠和, TAMAI Tadakazu, マルハ株式会社中央研究所)

◀海外便り▶

## マメ科植物における共生窒素固定 根粒形成機構の解析

### デンマーク・オーフス大学での在外研究

独立行政法人 農業生物資源研究所

梅原 洋 佐

#### 1. はじめに

私は2000年9月から1年5ヶ月間、デンマーク王国オーフス（Aarhus）大学構造及び分子生物学科遺伝子発現研究室において、在外研究を行なう機会を得た。初めの1年間は科学技術庁長期在外研究員としての赴任であった。

デンマークは欧州北部に位置する、人口約500万人の王国である。ユトランド半島、ジールランド島、フュン島その他の島々からなる本土と、グリーンランド及びフェロー諸島からなっている。本土の面積はほぼ九州と同じくらいである。日本におけるデンマークのイメージはアンデルセンの童話と高水準の福祉国家であるということ、酪農王国、バイキング料理とデニッシュペストリー、家具など優れたデザインを生み出す国といったところだが、科学の分野においても、研究のレベルは高く、きらりと光る独創的な成果を生み出す国である。

オーフス（Aarhus）はコペンハーゲンに次ぐデンマーク第2の都市で、ユトランド半島中部の東岸にある。人口は26万人。オーフス大学を初めとした学校、研究所群と企業が集まっている。街はこじんまりとしているが、一通りのものはそろっていて暮らしやすい。近郊には王室の夏の離宮があり、森や海も近くて、美しい街である。

オーフス大学は1928年創立の総合大学である。芸術学、医学、社会科学、神学、理学の5学部と付属の博物館、植物園等から構成さ

UMEHARA Yosuke

〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2



写真1 オーフス大学サイエンスパークの建物。

れ、約2万人の学生が在籍している。当初は私立の大学として出発したが、1970年から国立大学として運営されている。理科系の分野では、物理学、化学、医学、分子生物学、数学等で世界的な研究が行われていて、ノーベル賞受賞者も出している。日本語学科もある。

私の赴任した研究室はサイエンスパークと呼ばれるエリアの一画にあった。サイエンスパークは大学と民間の研究者の交流を促進し、新しい産業を育成する目的で設立され、産学の研究者に研究のための建物と基本的なインフラを提供している。現在、バイオテクノロジーやIT関連の民間会社約60社が本パークに入居し、550名が勤務している。赴任先の研究室においても、何名かの研究者は企業と契約して研究を行っていた（写真1）。

## 2. 研究室

在外研究を行ったオーフス大学遺伝子発現研究室は植物と微生物の相互作用を分子生物学的、分子遺伝学的に解析することをテーマにしている。マメ科植物と根粒菌の共生窒素固定、テンサイの線虫抵抗性遺伝子及びその相同遺伝子のシロイヌナズナでの機能等について研究しており、植物側の根粒形成制御因子としては初めてとなるNin遺伝子のクローニングや、レグヘモグロビンプロモータの制御に関わる転写因子の研究、テンサイ線虫抵抗性遺伝子のポジショナルクローニング等の成果を上げている。

研究室は教授1名、助教授3名、それ以外のティーチングスタッフが3名、ポスドクが私も含めて5名、技術員が4名、デンマーク人の大学院の学生が5名、国外からの交換留学生が3名といった構成だった。研究室内は大きく2つのグループに分かれていたが、設備や試薬など、ポス以外はすべて共同で使う体制になっていた。ポスドク4名と交換留学生が外国人で、ほとんどが南欧と東欧の出身者であった。デンマーク人はほとんどの人が英語を流暢に話すため、英語ができれば意志疎通に不自由することはない。予算は国内のものEUのプロジェクトで賄われていたが、国内のものは欧州内の反組換え植物の機運なども影響して近年削減傾向にあるとのことで、EUのプロジェクトを主力にしている印象だった。

私が赴任したJens Stougaard博士のグループはミヤコグサ (*Lotus japonicus*) をマメ科のモデル植物とすることを提唱し、Acトランスポゾンのタギングシステムを開発して、植物側の根粒形成制御因子としては初めてNin (nodule inception) 遺伝子をクローン化することに成功した。また、ミヤコグサの根粒形成異常の変異体を多数単離し、分子遺伝学的手法により、共生窒素固定成立の分子機構を植物の側から解明することを目指している、この分野では先導的なグループである。

## 3. 在外研究

マメ科植物と土壌細菌である根粒菌との共生窒素固定は、地球上の窒素循環に重要な役割を果たしている。土壌に新たに供給される自然界由来の窒素化合物は、その9割近くが生物による空中の窒素分子の固定によるものであり、中でもマメ科植物と根粒菌の共生窒素固定は、効率が最も高く、最も寄与が大きい。

根粒菌とその宿主であるマメ科植物は、植物の側から分泌されるフラボノイド等の誘因物質と根粒菌側のNodファクターによってお互いを認識する。Nodファクターを受容した根毛は変形して、根粒菌を迎え入れる。根粒菌は感染糸を通して、植物体内に侵入し、細胞が分裂して形成された根粒原基内に取り込まれる。細胞内に入った根粒菌は細胞膜由来の膜に包まれたバクテロイドと呼ばれる器官へと分化し、窒素固定活性を発現する。

この過程における根粒菌側の分子機構はかなり解析されたが、植物側はこれからの課題である。これまで解析に使われてきたダイズ、エンドウ等は、ゲノムサイズが大きく構造が複雑である、形質転換がうまくいかない等、研究をする上で不利な点があるので、近年、分子遺伝学的解析を行う材料として2種類の植物が提案された。一つは無限型の根粒をつけるタルウマゴヤシ、もう一つが有限型の根粒をつけるミヤコグサである。

在外研究のテーマはこのミヤコグサからトランスポゾンタギングによって初めて根粒形成制御因子として単離されたNin (nodule inception) 遺伝子とその相同遺伝子の発現解析であった。プロモーターGUS形質転換植物及び、リアルタイムPCR等を利用し、根粒菌やNodファクターに対する応答の様式や、根粒形成に関与すると考えられている植物ホルモンや硝酸に対する応答性、器官特異性等を調査した。その結果、根粒形成のごく初期から発現が誘導されること、オーキシンにより誘導がかかること、Nin遺伝子は根粒特異的だが、他の2種の相同遺伝子はより構



成的な発見を行うこと等が明らかとなった。

#### 4. デンマークで印象に残ったこと

デンマークは小さな子供連れの家族には暮らしやすい国である。言語はデンマーク語であるが、子供と一部のお年寄り以外はほとんどの人が流暢に英語を話すので、英語ができれば日常生活にあまり不自由することはない。物価は欧州の他の国に比べると高いそうだが、日本に比べると食料品などは安めである。オーフスは治安は良く、夜中に女性が一人歩きしても大丈夫。高福祉国家の評判通り、医療費はかからないし、道、駅、建物など基本的にバリアフリーである。バスや列車にはベビーカーや自転車を持ち込むための空間が設置され、子連れでどこにでも出かけていくことができる。町の人もとても親切であった。デンマークは税金が非常に高く（所得税は収入の約50%、間接税は25%）、ほとんどの家庭が共働きなので、子育てを社会で支援する体制がよく整備されている。全体に労働時間が短いので、男性もよく家事をして子供の面倒を見るようである（写真2）。研究室でも助教授（男）が子供が産まれたあと3ヶ月間育児休暇をとっていた。

もう一つ印象的だったのは話すことを非常に重視することである。研究室の学生さんに娘ができて、つけたのがラテン語で「よい言葉をはなす」という意味の名前。日本に静さ



写真2 乳母車を押す父

街でよく見かけた光景。石畳に負けないように車輪が大きい。畳んで車に乗せることができるし、バスや電車にはこのまま乗ることができる。治安がよいので、赤ちゃんを外の乳母車に残して両親が店で食事をするなどということもデンマークならでは。

んはいても、はなすという意味の名前の女性はいないのではないか。西洋では自分の意見をはっきり言うことが日本より重視されているということは聞いていたが、それが名前にまで反映されていると文化の違いを感じさせられた。

#### 5. おわりに

日本とは異なる風土の地で、研究を行い、生活ができたことは、学ぶことが多く、非常によい経験であった。このような機会を与えていただいた科学技術庁、農林水産省技術会議事務局、農業生物資源研究所の方々にこの場を借りて御礼申し上げます。

## 融資制度のご案内

### 制度の概要

融資対象である試験研究の成功度を5段階評価し、成功度が低くなった場合には貸付利率を低減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。

### 融資対象者

民間企業、農林漁業団体、公益法人。ただし特別融資は資本金10億円未満の研究開発型企業。

### 対象試験研究

生物系特定産業技術に関する応用研究段階または事業化に結びつく可能性の高い試験研究で、試験研究期間は5年以内です。

### 融資限度額

研究期間中の各年度ごとに、対象試験研究費の7割を限度としてご融資いたします。

### 貸付対象経費

試験研究に必要な施設設備費・試験ほ場造成費・物品費・材料費・労務費・外注費など。

### 貸付条件

#### (1) 貸付方法

試験研究終了までの間、支出済み経費に対して貸付

#### (2) 基準利率

貸付時点の財政融資資金貸付金利に相当する率（平成14年3月末現在1.6%）

#### (3) 償還期間・方法

試験研究終了後10年以内。原則として元金均等年2回分割償還

#### (4) 負担金

貸付金の試験研究期間中の利息相当額を、低減後の利率または減免後の元本で算出し、「負担金」として試験研究終了後に分割償還

#### (5) 担保・保証人

原則として必要

#### (6) 売上納付金契約

試験研究の成果を事業化した場合、その売上高の一定割合を納付していただきます。（特別融資制度のみ）

### 本資金のメリット

- ◎ 研究開発のリスク軽減のために、試験研究の成功度合いに応じて、利率を低減（低減率は最大100%）、または元本を減免（減免率は最大50%）します。

一般融資の場合：適用利率＝基準利率×成功度（1, 0.75, 0.5, 0.25, 0のいずれかの数値）

特別融資の場合：返済元本＝貸付金額の1/2＋貸付金額の1/2×成功度

- ◎ 最長15年の長期・低利（固定制）の資金です。
- ◎ 研究によって得られた特許権等、研究成果はすべて融資先企業に帰属します。

平成14年度募集を開始しています。詳細は窓口にお気軽にお問合わせ下さい。

生研機構 融資課 〒105-0001 東京都港区虎ノ門3-18-19 虎ノ門マリビル10F  
TEL 03-3459-6565 FAX 03-3459-6566 E-mail yushi@tokyo.brain.go.jp

#### 編集後記

- ◆薫風の5月、ブレインテクノニュース第91号をお届けします。本号の表紙には、このほど開発されたホールクロープサイレージ用水稲品種「クサホナミ」の写真を、根本博氏（独立行政法人 農業技術研究機構作物研究所）のご厚意により掲載しました。また、裏表紙には、中山間地振興対策の一環として当機構が担当している農業機械開発実用化研究の成果の一つである「中山間地域対応自脱型コンバイン」（写真提供：生研機構生産システム研究部 杉山隆夫氏）を紹介しました。
- ◆本号の総説は、乳牛の業病とも言える「乳房炎」について、なかでも防御の困難な潜在型乳房炎の診断を中心に高橋秀之氏（独立行政法人 農業技術研究機構動物衛生研究所）に紹介して頂いた。また関連した国内情報としては、熊谷勝男氏ら（㈱ティール研究所）により、独自の免疫理論に立脚した乳房炎防除剤の開発研究を紹介して頂いた。
- ◆そのほかの国内情報は、国内の飼料イネ生産の基幹品種として期待される「クサホナミ」について根本 博氏（前掲）、食品ほ

か多岐分野での利用が考えられる酵母の産出するバイオサーファクタントについて北本 大氏（独立行政法人 産業技術総合研究所環境調和技術研究部門）、中山間地域対応自脱型コンバインの開発について杉山隆夫氏（前掲）、地域の先端研究として、酸化チタンによる養液栽培の培養液の浄化・殺菌法を深山陽子氏（神奈川県農業総合研究所）・橋本和仁氏（東京大学先端科学技術研究センター）らに、さらに海外便りとして梅原洋佐氏（独立行政法人 農業生物資源研究所）にデンマーク・オーフス大学での「マメ科植物における共生窒素固定根粒形成機構の解析」を、また文献情報では横尾正樹氏（東北大学大学院）、西村新吾氏（カルピス株式会社基盤技術研究所）、岩井純夫氏（鹿児島大学農学部）、春原英彦氏（東京大学大学院）、玉井忠和氏（マルハ㈱中央研究所）にそれぞれご紹介頂いた。お忙しい中をご執筆下さった研究者各位に、改めて深謝申し上げます。

- ◆次号の総説では、イネゲノム解析を巡る最新の動向を紹介して頂く予定です。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91号）

平成14年5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

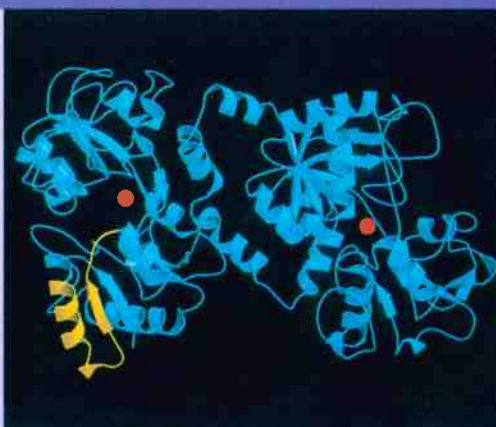




## 『中山間地域対応自脱型コンバイン』の開発

生研機構 杉山隆夫氏原図（詳細は、本誌国内情報17頁参照）

ウシラクトフェリンの  
分子構造



黄色部：ラクトフェリン

赤色円：鉄イオン

（詳細は、国内情報5頁参照）