

# BRAIN

Bio-oriented Technology Research Advancement Institution

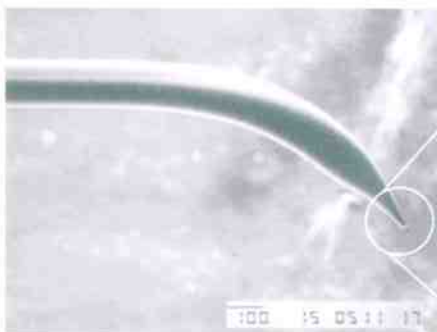
## TECHNO NEWS

〈生研機構〉

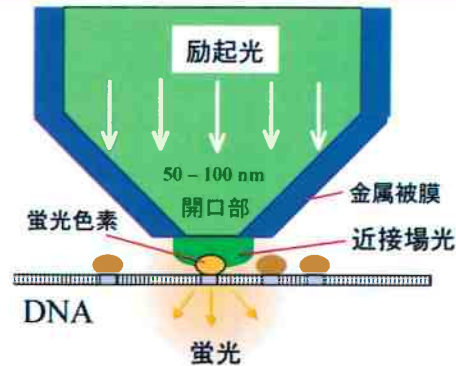
ブレインテクノニュース

# 第92号

JULY 15, 2002

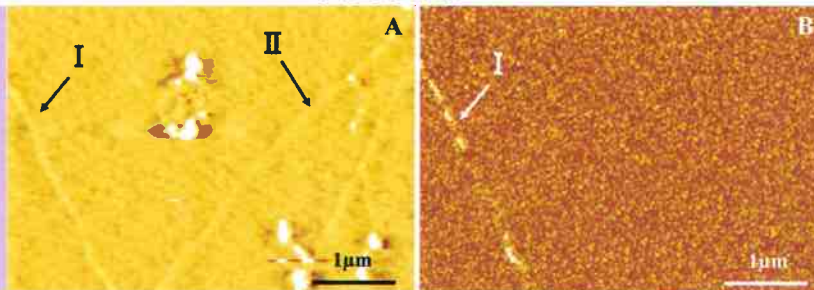


光プローブ (光ファイバー製探針)

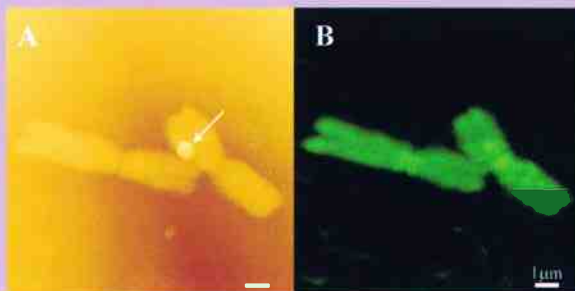


先端の断面模式図

### 走査型光プローブ原子間力顕微鏡によるナノFISH法



二本鎖DNA (I) と一本鎖DNA (II)



バンド処理した染色体

A : 形状像

B : 蛍光像

遺伝子位置のナノレベルにおける可視化に向けて

独立行政法人 食品総合研究所 大谷敏郎氏原図

## 目 次

### 総 説

- イネゲノム全塩基配列獲得とそこに隠された遺伝暗号の解読 ..... 1  
 佐々木卓治 (独立行政法人 農業生物資源研究所)

### 国内情報

- 麹菌ゲノムのドラフトシーケンス ..... 7  
 田中敏広 (独立行政法人 製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター)  
 オオムギ遺伝子に存在する一塩基多型を約4,000個発見 ..... 10  
 佐藤和広 (岡山大学資源生物科学研究所)  
 世界初の低アレルゲン・高11Sグロブリンダイズ品種「ゆめみのり」の特性 ..... 13  
 高橋浩司 (独立行政法人 農業技術研究機構作物研究所)  
 走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (SNOM/AFM) によるナノFISH法の開発 ..... 18  
 大谷敏郎 (独立行政法人 食品総合研究所)  
 魚類始原生殖細胞を利用した新たな育種技法の開発 ..... 23  
 吉崎悟朗・竹内 裕・小林輝正・伊原祥子・竹内俊郎 (東京水産大学 資源育成学科)  
 乳成分連続測定装置の開発 ..... 27  
 伊藤和彦 (北海道大学大学院農学研究科 農産物加工工学研究室)

### 地域の先端研究

- チューリップ組織培養系の開発 ..... 31  
 小泉昌広・飯村成美\*・荘司和明 (富山県農業技術センター 農業試験場生物工学課  
 \*同センター 野菜花き試験場花き課)

### 文献情報

- 改良型体外培養システムにより作出した胚盤胞の移植による子ブタの生産 ..... 35  
 K. Kikuchi et al. (Biology of Reproduction, 66, 1033-1041, 2002)  
 抄訳: 下司雅也 (独立行政法人 農業技術研究機構畜産草地研究所)  
 ラッカーゼ遺伝子を酵母に導入発現させることでフェノール性発酵阻害物質への耐性を  
 向上させる ..... 36  
 S. Larsson et al. (Applies and Environmental Microbiology, 67, 1163-1170, 2001)  
 抄訳: 家藤治幸 (独立行政法人 酒類総合研究所)  
 抗菌タンパク-オカチン ..... 37  
 T. Flores et al. (Plant Physiology, 128, 1291-1302, 2002)  
 抄訳: 岩井純夫 (鹿児島大学 農学部)  
 ASYMMETRIC LEAVES1 遺伝子によって明らかにされた、シロイヌナズナにおける  
 knox遺伝子の冗長性 ..... 38  
 M. E. Byrne et al. (Development, 129, 1957-1965, 2002)  
 抄訳: 丸尾嘉宏 (東京大学大学院 農学生命科学研究科)  
 海産微細藻類 *Cryptocodinium cohnii* によるドコサヘキサエン酸の生産 ..... 39  
 C. Ratledge et al. (Lipids, 36 (11), 1241-1246, 2001)  
 抄訳: 大栗智昭 (マルハ株式会社 中央研究所)

### 海外便り

- 仔稚魚の生残機構とそれに与える海洋環境要因の影響の解明  
 —オーストラリア ニュー・サウス・ウェールズ大学での1年間— ..... 40  
 上原伸二 (独立行政法人 水産総合研究センター中央水産研究所)

- 生研機構からのご案内 ..... 6

#### 表紙写真説明

写真・上は、走査型光プローブ原子間力顕微鏡の光プローブと先端断面模式図。  
 写真・中は、同顕微鏡によるDNAの観察で、形状像(A)では二本鎖(I)と一本鎖(II)が認められ  
 るが、蛍光像(B)では二本鎖(I)のみが認められる。写真・下は、バンド処理した染色体の表面形  
 状像(A)と蛍光像(B)で、表面が平坦にもかかわらず(A)、蛍光像(B)ではDNAの分布(濃淡)  
 が観察できる。また、矢印部分は蛍光像では認められないことからDNAを含む染色体断片でないこ  
 とが判る。詳細については国内情報18頁をご覧ください。

## ◀ 総説 ▶

# イネゲノム全塩基配列獲得と そこに隠された遺伝暗号の解読

独立行政法人 農業生物資源研究所  
佐々木 卓治

イネゲノム全塩基配列が急ピッチで進められ、2002年末には高精度概要配列が完成する見込みである。今後はイネの生理生化学的研究にこの情報をいかに利用するかが、重要になる。その際、実際に転写・翻訳されている塩基配列(遺伝子)を予め知っていることは、研究の進展に大きく影響を与える。本稿ではゲノム塩基配列解析の現状と、配列中の情報を正しく読み出す試みを述べる。

## 1. はじめに

コメは世界中で広く主食あるいは副食として利用されており、その優れた栄養バランスと手軽な調理法により今後もますますその食料としての価値は高まると思われる。一方、その栽培については、わが国のように食生活の多様化により栽培面積を減らして高品質なコメ生産を目指す方向もあれば、中国のように生産量を増すためにハイブリッド米の栽培に力をいれる、あるいは国際イネ研究所を中心とした活動に代表されるように悪環境化における生産量の確保を目指す方向もある。いずれの方向を目指すのであれ、「主食料は必ず自給する」ということを、世界規模での食料の需要と供給のバランスの維持という観点から忘れてはならない。これがイネのゲノム解析研究を推進する理由であり、大手企業が取り組み、世界中が注目している原点である。

わが国が11年前に本格的にイネゲノム解析を開始して以来、その中核となっている農業生物資源研究所・STAFF研究所は着実に重要な成果をあげてきた。多数のイネ発現遺伝子の部分塩基配列解析によるプロファイリング<sup>1)</sup>、これら発現遺伝子をマーカーに用いた高密度分子遺伝地図<sup>2)</sup>、およびこれらのマーカーを頼りにイネゲノムをDNA断片の重ね合わせとして再現した物理地図<sup>3)</sup>などは、イネゲノム構造と遺伝子機能解析に道を拓いた

SASAKI Takuji

〒305-8602 つくば市観音台2-1-2

のみならず、イネ科主要穀類ゲノム解析にまでも多大な影響を与え、現在の植物科学発展の基礎を築いたといえる。現在、究極の遺伝情報源としての全ゲノム塩基配列解読研究が進行中であり<sup>4)</sup>、まもなくその全容が明らかにされる。

次には、その配列中の遺伝情報を余すことなく読みとることが求められる。これには実験的証拠とそれに基づく理論的予測が要求され、イネにおいてもまだまだ改善されなくてはならない点の多い課題である。最近多数の遺伝子の所在を実験的に明らかにした地図が公開された<sup>5)</sup>。

本稿ではゲノム塩基配列解析の現状と、そこに存在するゲノム全体にわたる遺伝情報の解読努力がいかに行われているかを紹介する。

## 2. ゲノム塩基配列の品質保証

ゲノム塩基配列解析とは、ただ単に自動配列解析装置を運転し4種類の塩基の並び方を読みとることではない。配列データをゲノム機能解明に有効に利用するためにはその配列がゲノム上のどの位置に存在するのかが示す情報が不可欠である。この情報の獲得にはゲノム上に定めた道標(マーカー)が必要である。イネにおいてはこれまでに遺伝解析によりイネに由来する約2000個のマーカーを設置しており、これらが一義的にゲノム上の存在箇所を特定できる。つまりイネゲノムを多数

のDNA断片とし、それらの中からジグソーパズルを完成させるが如く元の位置に正しく当てはまる断片を探し出すのに必須な情報となる。ただし、この遺伝解析によるマーカーの設置にはいくつかの条件があり、これ以上増やすことは困難であった。このマーカーにより、イネゲノムの約60%を再現したジグソーパズル（物理地図とよばれる）の骨格が作成できた<sup>3)</sup>。しかし、塩基配列解析の基盤とするにはゲノムを十分再現したとはいえなかった。

そこで次に遺伝解析は行わずに、マーカーとDNA断片それぞれに相互に一致する塩基配列の存在を検出し、相当したDNA断片を上記の骨格物理地図を頼りにあてはめ、地図およびマーカーの充実を計った。用いたマーカーはイネメッセンジャーRNAを逆転写酵素により人工的にDNAとした相補DNA (cDNA) 中から任意に選んだ。これらのcDNAに特異的な3'末端の塩基配列が読まれており、この配列をプライマーとしてPCRにより増幅DNAを与える断片を探すことでたとえアミノ酸配列が類似した同族タンパク質の場合であっても、区別してゲノム上の存在箇所を定めることができる。上記の骨格地図に既にマップしたマーカーもPCRマーカー化し、合計6591プライマーを確立し、物理地図の完成度を81%に高めた<sup>5)</sup>。

これらの情報は、1) 遺伝地図と物理地図を利用して行う、表現形質に対応した遺伝子の単離を容易にする、2) 正確な位置づけを行ったDNA断片に基づいた塩基配列情報獲得を保証する、3) イネゲノム全体の発現遺伝子分布を概観する、などに大いに利用できる（図1）。特に塩基配列解析においては比類ない貢献をしている。というのは、塩基配列解析においてDNA断片を並べる方法として一般に用いられる方法は、各断片を制限酵素でさらに小断片化して電気泳動し、そのパターンを断片ごとに相互に比較して共通する小断片を探して重なりを決めていくフィンガープリント法であり、繰り返しや類似配列が多く存在するイネにおいては誤った結論を導

く確率が高い。時間がかかっても、正確に位置づけたマーカーを作出することが結局は王道となるのである。最近論文として発表されたイネ概要塩基配列<sup>7, 8)</sup>はここで述べた地図を作成せずに、いきなりゲノムDNA全体を小断片化して配列解析を行い、得られた多数の配列の重なる部分を頼りにつないでいく方法で得られたものであり、地図情報が存在しないので正しくつながれた保証はなく、また各つながり配列間の隙間は新たなライブラリーを作成して隙間を埋めるクローンを探さない限り埋めようがない（図2）。

### 3. 塩基配列に隠された暗号はどこに

ゲノム塩基配列中に隠された遺伝暗号は他種類ある。タンパク質のアミノ酸配列を規定する情報としての配列、これらの情報が生物の生活環のどの時期に利用されるかを制御する配列、RNAとして転写された後に遺伝子発現制御に関わる配列、細胞分裂時に正しく染色体再会合を指揮する配列、等々である。これらのうちまず取り組まれるのがタンパク質に翻訳される配列の存在箇所の推定である。この課題はこれまでに実験的に得られたデータから帰納的に遺伝子存在領域を示す配列上の規則を見だし、この規則から演繹的にゲノム塩基配列中に遺伝子の存在を正確に予測する目的で行われる。ただし、全生物に共通な規則は個々の生物固有の特徴にまでは及ばず、イネに関する正確な遺伝子配列情報はイネに求めなくてはならない。

われわれはイネゲノムに最適化を図った遺伝子予測プログラムを開発しつつあり、現在は既存の予測プログラムと併用している。いづれにしても完璧な予測プログラムは今後とも得られるとは考え難く、長短所を考慮しつつ、プログラムをいくつか併用した結果得られる予測遺伝子についてさらに既知のデータベースに登録されているアミノ酸配列間との類似性を調べた後に、最終的に推定遺伝子としている<sup>9, 10)</sup>。例えばイネ第1染色体では得られた43.3Mb（第1染色体の95%）の配列

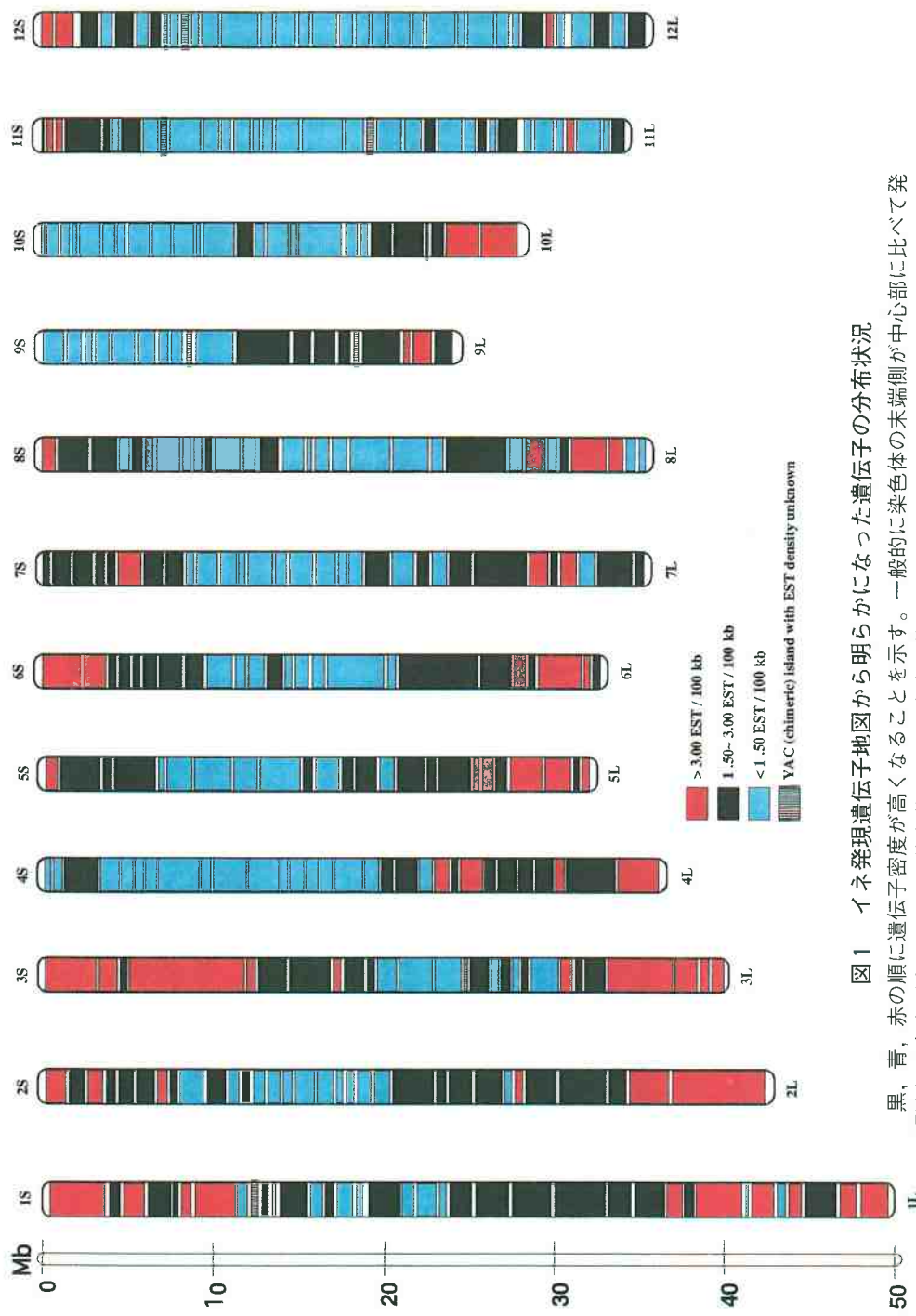


図1 イネ発現遺伝子地図から明らかになった遺伝子の分布状況

黒、青、赤の順に遺伝子密度が高くなることを示す。一般的に染色体の末端側が中心部に比べて発現遺伝子密度が高く、また、染色体によって密度に差があることがわかる。これはFISH法による結果とも一致する<sup>6)</sup>。

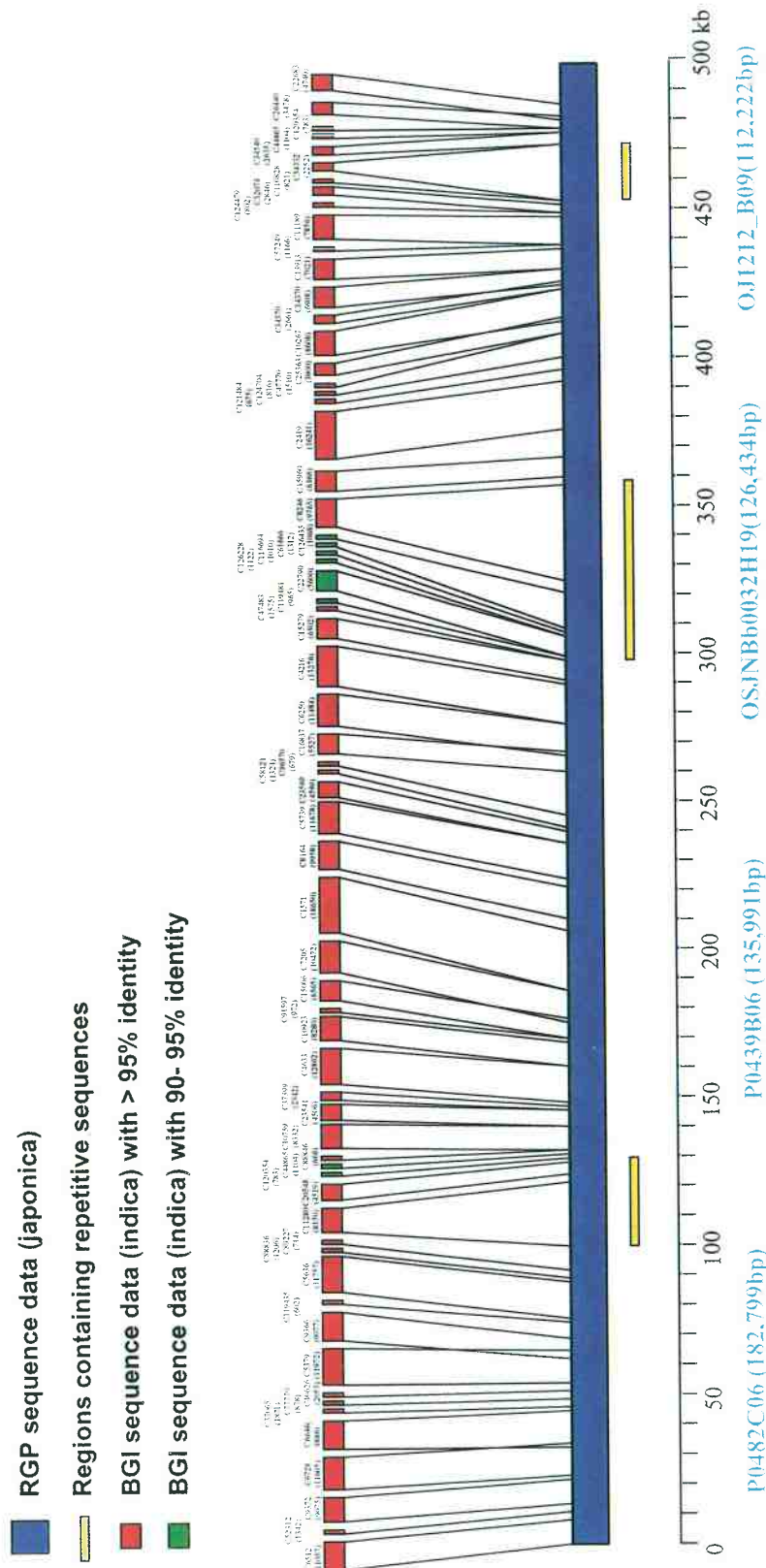


図2 正確に作成した物理地図上に並べられたDNA断片に基づく塩基配列と、地図は作成せずゲノム全体を一括して小断片化後、塩基配列解析しつなぎ合わせて得られたデータの比較図。紫色の長四角は4個のDNA断片を第1染色体上のマーカーで同定し並べた後、塩基配列を決定したものを示す。赤い多数の四角は、この正しい塩基配列を目印に位置情報を持たない塩基配列の短いつなぎ合わせを探し出して、対応すると思われる位置に配置したもの。多数の隙間が存在し、繰り返し配列が存在する領域（黄色）では相手が探し出されるものの、精度が低い（緑色）ことがわかる。

中に6756個の遺伝子を予測した。6kbに1個の密度で遺伝子が存在することとなり、従来考えられていたよりもはるかに多数の遺伝子がイネに予測される結果となった。このうち約半数は既存のデータベース中に類似のアミノ酸配列が存在しないタンパク質であった(表1)。

ある遺伝子は恒常的に、また他のある遺伝子はほんの一時期にのみ転写されることから、イネの全発現遺伝子を実験的に捕らえることは事実上不可能である。このために上記のように多数の未知遺伝子が予測されても、それらのcDNAの存在の有無を任意のクローン選出による方法では検証できず、今後これらの遺伝子のプロモーター予測とも関連させて新たな方法の開発が必要となる。

#### 4. おわりに

イネゲノムの場合に限らず、高等生物のゲノム塩基配列については「完了」あるいは「終了」という言葉が恣意的に使われることが多い。言葉の意味は本来恣意的に定義されるものではないはずだが、「終了」であれば中途半端であっても終えれば言葉としては正しく使われているので許せるとしても、「完了」は「完成して終了」することを指すのであり、イネの場合、国際イネゲノム塩基配列解析コンソーシアム以外に「完了」を目指しているチームは存在しない。イネの場合、「日本晴」の塩基配列の完全解読にこだわる理由は、1)「イネ」という他に比類ない重要な植物の遺伝情報を余すところなく獲得することは、今後イネのみでなくイネ科穀類全体のゲノム全体を見渡した基礎研究を推進し、これらの植物を科学的に理解し、迅速な品種改良を保証する、2)多様な品種が存在するイネにおいては基準となる完全解読配列が今後これら個々の品種をもちいた遺伝子の配列変異による機能の差を解明するのに必須である、などが挙げられる。個々の遺伝子研究のみでは得られない巨視的な成果が完全解読ゲノム塩基配列には期待されるのである。

表1 イネ第1染色体で予測されたタンパク質の分類表

既知タンパク質との対応分類

総予測タンパク質数	6,756
Class I (イネタンパク質と完全一致)	40
Class II (既知タンパク質全領域で高い類似)	799
Class III (既知タンパク質の50%以下の領域で類似)	1,234
Class IV (塩基配列から予測された仮想タンパク質と類似)	870
Class V (EST塩基配列とのみ一致)	213
Class VI (データベース中にスコアE-20以下で類似なし)	3,600

機能による分類 (MIPS<sup>11)</sup> による)

cellular metabolism	421
signal transduction	365
transcription	255
cell rescue, defence	215
transport facilitation	172
cellular organization	132
protein destination	108
protein synthesis	85
energy	83
cell growth	62
development	35
cellular transport	28
cellular biogenesis	16
classification not yet clear-cut	13
ionic homeostasis	9
organism specific	3
unclassified	4,754

国際コンソーシアムは現在ゲノム全体の75%を完全あるいはほぼ完全に解読しており、2002年末に「ほぼ完全解読」状態の全配列を公表する約束をしており、見通しも立っている<sup>11)</sup>。その後も国際コンソーシアムは「完全解読」にむけて努力を継続する計画である。

#### 参考文献

- 1) Yamamoto, K. & Sasaki, T. (1997) Plant Mol. Biol. 35 : 135-144
- 2) <http://rgp.dna.affrc.go.jp/publicdata/geneticmap2000/index.html>
- 3) Saji, S. et al., (2001) Genome 44 : 32-37
- 4) <http://rgp.dna.affrc.go.jp/cgi-bin/statusdb/seqcollab.pl>
- 5) Wu, J. et al., (2002) Plant Cell 14 : 525-535
- 6) Cheng, Z. et al., (2001) Genome Research 11 : 2133-2141
- 7) Yu, J. et al., (2002) Science 296 : 79-92
- 8) Goff, S. et al., (2002) Science 296 : 92-

100

9) <http://RiceGAAS.dna.affrc.go.jp/>10) <http://rgp.dna.affrc.go.jp/giot/INE.html>11) [http://mips.gsf.de/cgi-bin/proj/thal/filter\\_funcat.pl?all](http://mips.gsf.de/cgi-bin/proj/thal/filter_funcat.pl?all)

## 生研機構からのご案内

### 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。詳細は窓口へ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



## ◀国内情報▶

## 麹菌ゲノムのドラフトシーケンス

独立行政法人 製品評価技術基盤機構 バイオテクノロジーセンター  
田 中 敏 広

約55万シーケンスの解析を行い、シーケンス総延長がゲノムサイズの約6倍の塩基配列データを蓄積した。得られた非重複塩基配列の総延長は約37Mbpとなり、麹菌ESTデータを用いて約5,000個の遺伝子配列を同定し、GeneDecoderによって、新たに約6,000個以上の遺伝子を発見した。新たな遺伝子は、さまざまな酵素の生産など、バイオテクノロジー分野での利用が期待される。

## 1. はじめに

ゲノム解析により、分子レベルから生物の全体像に迫り、これを明らかにしようという試みがなされてきており、現在までに80種を超える生物のゲノム解析が報告されている。独立行政法人 製品評価技術基盤機構 (NITE) では、平成5年よりゲノム解析に取り組み、これまでに3種の好熱古細菌、2株の黄色ブドウ球菌等のゲノム解析を完了し、データはweb上で公開している。(URL <http://www.bio.nite.go.jp/>)

現在は、麹菌 (*Aspergillus oryzae*) を含めて数種の微生物のゲノム解析を平行して実施している (表1)。

麹菌は、我が国の発酵産業界で最も広く利用されている糸状菌で、古来清酒等の酒類、味噌、醤油を製造する過程で用いられ、1,000年を超す食品製造での利用の歴史から、高い安全性を有する微生物と考えられている。また、麹菌は、タンパク質や糖質等の分解酵素の分泌能力が酵母に比べて高く (酵母は最大50—100mg/l程度、麹菌で最大50g/l程度)、ヒト等の動物細胞に比べて培養コストが安くすむという利点があることから、タンパク質や酵素の大量生産や、大腸菌等では生産できない活性型真核生物タンパク質の生産宿主として注目されている。

近年、麹菌を含む *Aspergillus* 属糸状菌は、英米の研究機関や民間企業により、麹菌以外

TANAKA Toshihiro  
〒151-0066 東京都渋谷区西原2-49-10

表1 NITEにおけるゲノム解析

全ゲノム解析を終了した微生物	
嫌気性超好熱古細菌	<i>Pyrococcus horikoshii</i> OT 3
好気性超好熱古細菌	<i>Aeropyrum pernix</i> K 1
好気性好酸性好熱古細菌	<i>Sulfolobus tokodaii</i> strain 7
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌	<i>Staphylococcus aureus</i> N315
同上	<i>Staphylococcus aureus</i> MW 2
現在ゲノム解析が進行中の微生物	
コリネ型細菌	<i>Corynebacterium efficiens</i>
放線菌	<i>Streptomyces avermitilis</i>
ブドウ球菌	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
ブレヴィバチルス属細菌	<i>Brevibacillus brevis</i>

表2 *Aspergillus* 属糸状菌のゲノム解析状況

種名	実施機関
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Manchester 大学, TIGR (米国), Sanger Centre (英国) 等
<i>Aspergillus nidulans</i>	Cereon Genomics (米民間企業)
<i>Aspergillus niger</i>	Gene Alliance (欧民間企業)
<i>Aspergillus flavus</i>	Southern Regional Research Center 等 (米国)

の4種についてゲノム解析が進みつつあり、国際的にも最も注目されているゲノム解析対象のひとつである (表2)。

NITEでは、2001年夏より産学官よりなるコンソーシアムと共同で麹菌のゲノム解析に取り組み、同年末にドラフトシーケンスを完了した。

## 2. 麹菌ゲノム解析

麹菌ゲノムは、8本の染色体から構成され、全体で約35百万塩基対と推定されている<sup>1)</sup>。麹菌のゲノム解析では、まず第1段階として、ホールゲノムショットガン法によってゲノム

の概要を明らかにし、第2段階で、コスミドライブラリーやマッピング等により、完全なゲノムの構造を明らかにする予定である。

#### (1) 方法

解析には、独立行政法人 酒類総合研究所が分離したRIB40株(ATCC-42149)を用い、独立行政法人 産業技術総合研究所(AIST)の佐野と町田によって作製されたホールゲノムショットガンライブラリーを用いた。同ライブラリーは、麹菌体より液体窒素による破砕で抽出された全ゲノムDNAを機械的に剪断し、1~2 kbのDNA断片をプラスミドに挿入することによって作製された。このライブラリーをNITEにおいてdye-terminator法によりABI PRISM 3700 DNA analyzerを用いてシーケンシングし、Phred/Phrapによってアセンブルを行った。

gene finding (遺伝子の予測) は、AISTの金、長崎、熊谷、浅井によって、麹菌EST<sup>2)</sup>との比較、およびHidden Markov Model (隠れマルコフ・モデル) を利用したGene Decoder<sup>3)</sup>を用いて行われた。推定された遺伝子は、非冗長タンパク質データベース等に対するBLAST検索により遺伝子機能の推定が行われた。

#### (2) 結果

##### ・ contigの状況

ホールゲノムショットガンとして約55万シーケンスの解析を行い、シーケンス総延長が麹菌ゲノムサイズの約6倍の塩基配列データを蓄積した。得られた塩基配列をアセンブルした結果、非重複塩基配列の総延長は約37Mbpとなった。これは、電気泳動法によって想定されていたゲノムサイズより若干大きく、これまでに得られた塩基配列は、麹菌全ゲノムの95%程度以上の塩基配列を決定したと予想している。

##### ・ gene findingの状況

麹菌ESTのデータを用いて約5,000個の遺伝子配列を同定し、GeneDecoderによって、

新たに約6,000個以上の遺伝子を発見した。また、ホモロジー検索の結果、炭水化物、核酸、脂肪分解酵素など、食品産業、発酵産業、バイオマス利用、廃棄物処理などに極めて重要な加水分解酵素遺伝子群の他、約1,700個の膜タンパク質関連遺伝子、約380個の転写関連遺伝子、約70個の分泌関連遺伝子、約160個の翻訳関連遺伝子などを見いだした。

麹菌によって生産される酵素は、一般的に人に対する安全性が高いと考えられ、スクレアーゼ(核酸分解酵素)やアミラーゼ(糖質分解酵素)などが麹菌から分離され、酵素製品として利用されている。ドラフトシーケンスにより見いだされた数多くの新たな遺伝子は、さまざまな酵素の生産など、バイオテクノロジー分野での利用が期待される。

### 3. 今後の計画

我々が行ったドラフトシーケンスにより麹菌ゲノムの概要を明らかにすることができた。しかし、麹菌の発酵分野への利用やバイオテクノロジー分野での宿主としての広範な利用には、詳細なゲノム情報が重要であることから、コスミド・ライブラリーによるcontigの整列化とgap close, contigの染色体へのマッピング等、8本の染色体の完全な構造を明らかにする予定である。今後、ドラフトシーケンスによる遺伝子同定の結果等を見直し、順次データベース化してweb上で公開することを予定している。

### 4. 麹菌ゲノム解析コンソーシアムとの共同研究

NITEでは、麹菌ゲノム解析を実施するに当たり、全ゲノム解析だけではなく、ゲノム解析情報の産業利用を促進するために、日本醸造協会を代表とし、独立行政法人、大学、企業からなる産学官連携研究体である麹菌ゲノム解析コンソーシアム(表3)との共同研究を行っている。この共同研究においては、麹菌の全ゲノム解析だけでなく、遺伝子領域

の推定、麹菌全遺伝子のDNAチップの開発、遺伝子の発現に重要な麹菌転写制御に関する研究、麹菌のプロテオーム解析等について、コンソーシアムメンバーの研究予算、および同メンバーによる新規プロジェクト課題の立ち上げなどによって推進されることが計画されている。

ゲノム情報に基づくこれらの研究により麹菌の物質生産関連遺伝子群（タンパク質や糖質の分解酵素群、分泌関連遺伝子群等）等及びこれらの遺伝子のネットワークが明らかにされることにより、有用物質生産菌としての麹菌の育種・改良、高効率生産に係わる遺伝子の解明、実用化を進めることが可能となるものと期待される。

参考文献

1) Kitamoto, K., Kimura, K., Gomi, K. and Kumagai, C. (1994) Electrophoretic karyotype and gene assignment to

表3 麹菌ゲノム解析コンソーシアムの参加メンバー

独立行政法人（代表者）	
産業技術総合研究所 ・糖鎖工学研究センター（町田雅之） ・生命情報科学研究センター（浅井潔）	酒類総合研究所（秋田修） 食品総合研究所（柏木豊）
国立大学（代表者）	
東京大学（北本勝ひこ，堀内裕之） 東北大学（五味勝也，阿部敬悦）	東京農工大学（竹内道雄） 名古屋大学（小林哲夫）
企業	
アクシオヘリックス インテック・ウェア・アント・ケム・インフォマティクス キッコーマン 月桂冠	天野エンザイム 大関 協和発酵工業 ヒゲタ醤油

chromosomes of *Aspergillus oryzae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 58, 1467-1470.

2) 町田雅之，「麹菌のEST解析」，化学と生物，学会出版センター，Vol.39, No.6, 384-388  
3) 浅井潔，上野豊，(2001)「遺伝子発見のための統合ソフトウェア」，蛋白質核酸酵素，Vol.46, No.16



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  
地域の先端研究  
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  
腎臓尿細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。

## ◀国内情報▶

オオムギ遺伝子に存在する一塩基多型を  
約4,000個発見

岡山大学資源生物科学研究所

佐藤和広

オオムギの重要品種間（ビール醸造用品種と食用品種と野生オオムギ）の差を決定すると考えられる遺伝子領域の一塩基多型(SNP：後述)を大量(約4,000個)に検出した。オオムギのSNPの利用法としては、(1) ビールの効率的な発酵・醸造、(2) みそなどの発酵食品や炭水化物としての食糧生産性向上、(3) 他品種への遺伝子導入などが考えられ、産業的な応用が期待できる。

## 1. はじめに

動物や植物を対象とした遺伝子解析の研究は急速に進んでいるが、中でも一塩基多型(SNP：single nucleotide polymorphism)と呼ばれる遺伝暗号の解読が重要視されている。例えばヒトであれば、顔や体型が個々に違うように、遺伝子の塩基配列もそれぞれで異なった部位が存在する。一般にこの塩基配列の違いは「多型」と呼ばれ、疾患へのかかりやすさなどに影響を及ぼすことがあり、このため特定の一塩基の違いである「一塩基多型(SNP)」の持つ機能の解明は重要な研究対象になっている。ヒトゲノム研究からはすでに300万を超えるSNPが登録されており(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>)、抗ガン剤などの薬物の処方や製薬開発に欠かせない重要な情報として用いられつつある。

## 2. 植物におけるSNP検出

SNPは植物にも当然存在するが、その研究はヒトや動物にくらべて遅れている。シロイヌナズナについては4万近くのSNPが公開されているもの(<http://www.arabidopsis.org/Cereon/>)、他の植物種についての情報はほとんど公開されていない。しかし、イネゲノムにおけるSNPは大量に存在することが報告されており<sup>1)</sup>、トウモロコシにおいても

SATO Kazuhiro

〒710-0046 倉敷市中央2-20-1



写真 国産ビールオオムギ「はるな二条」

SNPの検出とその産業的な利用法の開発が進められている<sup>2)</sup>。

## 3. オオムギESTからのSNP検出

岡山大学資源生物科学研究所ではcDNAクローンの大量シーケンシングプロジェクトを進めており、現在までに約12万シーケンスを解析し、約1万のUnigeneを得ている。このようなcDNAクローンの配列をEST (Expressed Sequence Tag) と称する。特定の組織から遺伝子発現するために作られたmRNAを集めて、逆転写酵素でcDNA (相補DNA) にしてcDNAライブラリとし、無作為にcDNAを選んで塩基配列を決定するEST解析は、発現遺伝子の部分配列から大量の遺伝子を分類・同定することが可能である。

今回の研究では岡山大学と国立遺伝学研究所が共同研究によって解析した約93,000の

	200	210
Contig1	GCTATAGATAGAGGATAATA	
baak11j12	GCTATAGATAGAGGATAATA	
baak4c11	GCTATAGATAGAGGATAATA	
baak13b13	GCTATAGATAGAGGATAATA	
rbah37d08	GCTATAGATAGAGGATAATA	
rbah19j02	GCTATAGATAGAGGATAATA	
rbah11d14	GCTATAGATAGAGGATAATA	
rbah15j05	GCTATAGATAGAGGATAATA	

図1 遺伝子のDNA配列の中で基準配列（最上段）に一致する品種（2～4段目：C）と一致しない品種（5～8段目：G）に相違が認められる。

ESTについてSNPの検出を試みた。cDNAライブラリの作成には醸造用オオムギ「はるな二条」（写真：発芽時の芽，幼苗の葉身，止葉期の上位3葉），在来ハダカムギ「赤神力」（栄養成長期の葉身）および野生オオムギ *H. spontaneum* (OUH602)（止葉期の上位3葉）を使用した。各クローン3'および5'の両端からシーケンス解析し，遺伝子データベースを用いてクローンを分類し整列化した。さらに，コンティグ配列（遺伝子ごとに整列化した共通配列）に異なる塩基配列が含まれている際にその部位を検出するアプリケーションを作成して，それぞれの遺伝子型で異なる配列が2クローン以上ある場合に一塩基多型とした（図1）。

一塩基多型の総数は約4,000個であり，特にはるな二条とOUH602の間に存在する多型が最も多かった。また，一塩基多型は複数の系統間に認められる場合もあった。約4,000個の一塩基多型をクラスター別に整理すると，約1,300に集約できた。クラスター内に1つの一塩基多型を有するクラスターが最も多いものの，むしろ複数の一塩基多型を有するクラスターが多く，クラスター内に最大20程度の多型配列が認められた。これらの一塩基多型については，それぞれプライマーを設計してシーケンス解析し，ゲノム上の配列の再確認を進めている。

#### 4. オオムギSNPの意味

オオムギのSNPは，進化過程や長年の栽培過程で突然変異によって生じたと考えられ，

ビールの醸造特性，みそなどの食用としての生産性，植物の病気の抵抗性などの重要な形質を決定する役割を持つ。特に，SNPの発現作用は，遺伝子を構成するDNA配列中のどの位置に塩基の変化が起こるかによって異なっており，遺伝子固有の作用を調節する部分や，タンパク質の変化に関わる部分の変化が，形質の差，品種間や個体の差などを誘起する要因となっている。

ESTは遺伝子のエクソン領域の塩基配列なので，今回検出されたSNPも当然エクソン配列の差異に由来している。また，エクソン領域に存在するSNPにもアミノ酸が変化しないsilent SNP (sSNP) とアミノ酸が変化するcoding SNP (cSNP) の種類がある。また，プロモーターに存在するSNPの中にも遺伝子発現に関わるSNPが存在する可能性があり，regulatory SNP (rSNP) と呼ばれている。今回発見されたSNPは，遺伝子領域以外のgenome SNP (gSNP) は含まれおらず，アミノ酸の変化を伴わないsSNPであっても遺伝子をマップしたり検出したりするのに有用である。また，半数近い約600のクラスターにアミノ酸の変化を伴うcSNPが存在することが確認された。ちなみに，ヒトゲノムにおいてSNP総数中cSNPは0.12～0.17%であり，タンパク質の変化に影響するのは数百万のうち高々数千であると報告されている<sup>3)</sup>。ゲノム医療においては各患者に適した抗ガン剤の処方をするオーダーメイド医療などの新しい技術開発が急ピッチで進められているが，この技術に用いられるのも今回と同様，タンパク質に変化をもたらすSNPである。

#### 5. オオムギSNPの利用法

今回のオオムギのSNPは，国産ビール醸造用品種（はるな二条），麦飯やみそなどの原料となる食用品種（赤神力），およびカスピ海周辺で収集された野生オオムギの3つの品種間で見つけられた。これらの代表的な品種間で確認されたSNPは，ビール醸造や食料生産に関わる重要な形質の差異を引き起こす可



		SNP1	SNP2	性質変化
品種XのDNA配列	gac	acc aag	aac atg	
品種Xのアミノ酸配列	Asp	Thr Lys	Asn Met	
品種YのDNA配列	gac	atc aag	aat atg	
品種Yのアミノ酸配列	Asp	Ile Lys	Asn Met	
変化部分		← アミノ酸読枠 (ORF) →		

図2 SNP1のようにDNA配列の違いでアミノ酸が変化すると、作られるタンパク質が異なり、性質（例：ビールの泡もち）も変化する

能性が非常に高いほか（図2）、オオムギのDNA鑑定、品種の持つ遺伝子の種類の判定、遺伝子操作技術による細胞導入、そして、有用遺伝子を一挙に選抜する高能率な育種技術への応用などが考えられる。また、今回確認されたSNPについては、特許出願処理を行っており、我が国においては初めての植物における大量のSNPの出願となる。

SNPが注目されている理由として、これまでマップ作成やDNA鑑定に利用されてきたマーカーより圧倒的に数が多いことと、共優性を示し判別能力が高いことがあげられる。現在、多数の企業がSNPを用いた大量タイピングシステムを開発しようとしている。その手法も、標識したプライマーを用いてSNP部分を蛍光や偏光によって検出するものから、TOF/MSによって塩基の質量そのものを測定する方法、短い配列をシーケンス解析するものなど多様である。なかでもオリゴをスライドガラス上に合成するDNAチップと呼ばれる技術は数十万もの多型を一度に検出する能力があり、有用な多数のSNPが同定されれば、それらを短時間で解析することが可能となる。

## 6. おわりに

オオムギに含まれるDNA配列の総数（ゲノムサイズ）は約50億とイネの10倍以上もあるのでイネで行われているようなゲノム全配

列の解読は効率的でなく、タンパク質を合成する部分のみを解析するEST解析を中心にゲノム解析が進められている。しかし、1999年末までに公的なESTデータベース上にオオムギのシーケンスはわずか80件しかなかった。2000年から複数のオオムギESTプロジェクトが精力的に解析を進めた結果、2002年6月現在で約24万件のオオムギESTが登録されており、全生物種中7位という劇的な進展を見せている。今後、これらのリソースを用いたマイクロアレイや有用タンパク質の同定などが急速に進むと考えられる。

オオムギの遺伝子研究は、米国、ドイツ、フィンランド、英国などで公的機関が企業と連携して進めている。日本では、岡山大学資源生物科学研究所が、1940年代から我が国を代表するオオムギ遺伝子研究の拠点として世界的に認められ、多数の遺伝子資源と研究成果を蓄積している。現在、我が国のオオムギのゲノム研究は科学技術振興事業団、文部科学省科学研究費補助金などによって岡山大学を中心に進められているところである。

## 文 献

- 1) Yu J. et al. (2002) Science 296, 79-92
- 2) Rafalski A. (2002) Current Opinion in Plant Biology 5, 94-100
- 3) Venter J. C. et al. (2001) Science 291, 1304-1351

## ◀国内情報▶

## 世界初の低アレルゲン・高11Sグロブリンダイズ品種 「ゆめみのり」の特性

独立行政法人 農業技術研究機構 作物研究所 畑作物研究部  
高橋 浩 司

「ゆめみのり」は世界に先駆けて育成された低アレルゲンダイズ品種である。また、高11Sグロブリン化も図られ、ダイズには少ないとされてきた含硫アミノ酸（メチオニン、シスチン）が1.3倍に増強され栄養価の向上が図られている。本品種は低アレルゲン食品をはじめ、栄養価を強化したダイズ食品の原料としての需要が期待されることから、本品種の特性を紹介し、今後の普及の一助としたい。

### 1. はじめに

ダイズは豆腐、味噌、納豆、煮豆等の伝統食品の原料であり、わが国では欠くことのできない重要な食材である。また、ダイズから製造される分離タンパク質はソーセージやハム、水産練り製品、パンや菓子等多くの食品に添加されている。これは、ダイズタンパク質がゲル形生成、吸水性、保水性、組織形成性など様々な機能特性<sup>1)</sup>をもつためである。

一方、ダイズはアレルギーを引き起こす成分、いわゆる「アレルゲン」を含んでおり、牛乳や卵に次ぐアレルゲン食品である<sup>4)</sup>。これらによる食物アレルギーは主にアトピー性皮膚炎を引き起こすが、近年、花粉症等のアレルギー性疾患とともに増加する傾向にある。しかし、ダイズタンパク質がもつ機能特性ゆえにダイズは様々な食品に用いられ、ダイズを原料としない食品は極めて限られたものになっている。このところが特にダイズにアレルギーを発症した乳幼児の栄養問題を深刻にしている。

「ゆめみのり」はダイズタンパク質の機能特性を向上させる目的で、放射線を用いた突然変異育種により作出した高11Sグロブリンダイズであるが<sup>8, 9)</sup>、研究が進む過程で低アレルゲン性を有していることが明らかになった<sup>5, 6, 7)</sup>。そのため、低アレルゲンダイズと

TAKAHASHI Koji

〒305-8518 茨城県つくば市観音台2-1-18

しての研究が進められ、低または脱アレルゲン食品の実用化の目途が立ったことから、2001年10月に「ゆめみのり」（だいち農林117号）が命名登録された。本稿では「ゆめみのり」を育成するに至った研究の経緯と本品種の主要な特性（表1）を紹介する。

### 2. タンパク質組成の改変

東北農業試験場作物開発部大豆育種研究室（現 東北農業研究センター水田利用部大豆育種研究室）では含硫アミノ酸含量（メチオニン、シスチン）を増加させてダイズの栄養価向上を図る目的で、1970年代後半からタンパク質組成の改変研究に着手した。1990年には農業特性が実用品種に近づいた高11Sグロブリン系統を作出したが、これらの系統は7Sグロブリンの $\alpha'$ サブユニットが欠失した「毛振」と $\alpha$ 及び $\beta$ サブユニット生成量が通常より低下した「秣食豆公503」がもつ遺伝的変異を実用品種に取り込むことにより育成したものである。また、このように遺伝的変異を組み合わせることにより、7Sグロブリン生成量を低下させると、7Sグロブリン減少量を補うように11Sグロブリン量が増大することが示された<sup>2)</sup>。そのため、7Sグロブリン生成量をさらに低下させ、高11Sグロブリン化を一層図ったダイズ作出が期待された。しかし、 $\alpha$ 及び $\beta$ サブユニットの完全欠失は当時遺伝資源の中には見出されていなか

表1 「ゆめみのり」の主要特性一覧

特 性	長所 1. 蛋白質組成を改変した、低アレルゲン食品の製造に適した大豆である。 2. 含硫アミノ酸含有率が高い。 3. 粗蛋白質含有率が高い。 4. 倒伏抵抗性が強く、着莢位置も高いので機械化収穫に適する。				短所 1. タチユタカに比べてやや低収である。 2. ダイズシストセンチュウ抵抗性が弱である。 3. 通常の方法では豆腐製造が困難である。	
試 験 場 所	東北農試・育成地 普通畑標準播		東北農試・育成地 普通畑晩播		東北農試・育成地 転換畑標準播	
項目	ゆめみのり	タチユタカ (標準)	ゆめみのり	タチユタカ (標準)	ゆめみのり	タチユタカ (標準)
早晩性	中の晩	中の晩	-	-	-	-
開花期(月日)	.8.01	7.31	8.14	8.14	8.01	7.31
成熟期(月日)	10.15	10.15	10.25	10.26	10.15	10.14
主茎長(cm)	63	65	50	50	68	72
分枝数(本/株)	3.2	3.4	2.6	2.4	4.2	4
生育中の倒伏 障 害	無	無	微	無	少	少
ウイルス	無	無	無	無	無	無
子実重(kg/a)	21.4	23.9	17.8	19.5	28.7	31.4
対標準比(%)	90	100	91	100	91	100
百粒重(g)	23.4	25.4	21.9	24.6	22.7	24.7
障害粒の程 度	紫斑 褐斑 裂皮	中 無 微	少 無 無	少 無 無	中 無 無	微 無 微
最下着莢節位高(cm)	23	22.2	-	-	-	-
裂莢の難易	中	難	-	-	-	-
品質	中中	中下	中上	中中	中中	中上
粗蛋白質含有率(%)	45.3	41.4	44.1	41.3	45.7	41.8
蛋白質サブユニット	7S $\alpha$ $\alpha'$ Gly m Bd 2SK	無 無 無	有 有 無			
試験年次	平成8~12年(最下着莢節位高、裂莢の難易は平成10~12年)					
病虫害抵抗性及び加工適性						
品種および系統名			ゆめみのり		タチユタカ	
病虫害抵抗性	ダイズモザイク病		強		強	
	ダイズシストセンチュウ		弱		弱	
	立枯性病害(黒根腐病)		やや弱		-	
加工適性	低アレルゲン製品		適		-	

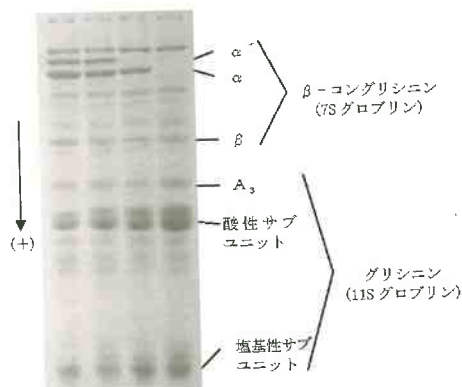


図1 「ゆめみのり」のSDS電気泳動パターン  
 レーン左から、スズタカ、タチユタカ、刈系434号、ゆめみのり

ったことから、これ以上の高11Sグロブリン化を図ることができないでいた。

そこで、1991年から始まった大型別枠研究「農林水産業における自然エネルギーの効率的利用技術に関する総合研究(新需要創出)」において、栄養価の向上に加え、11Sグロブリンがもつ機能特性を遺伝的に強化するという目的で、 $\alpha$ 及び $\beta$ サブユニットを欠失させた突然変異作出を試みることになった。その結果、「刈系434号」の気乾種子へガンマー線



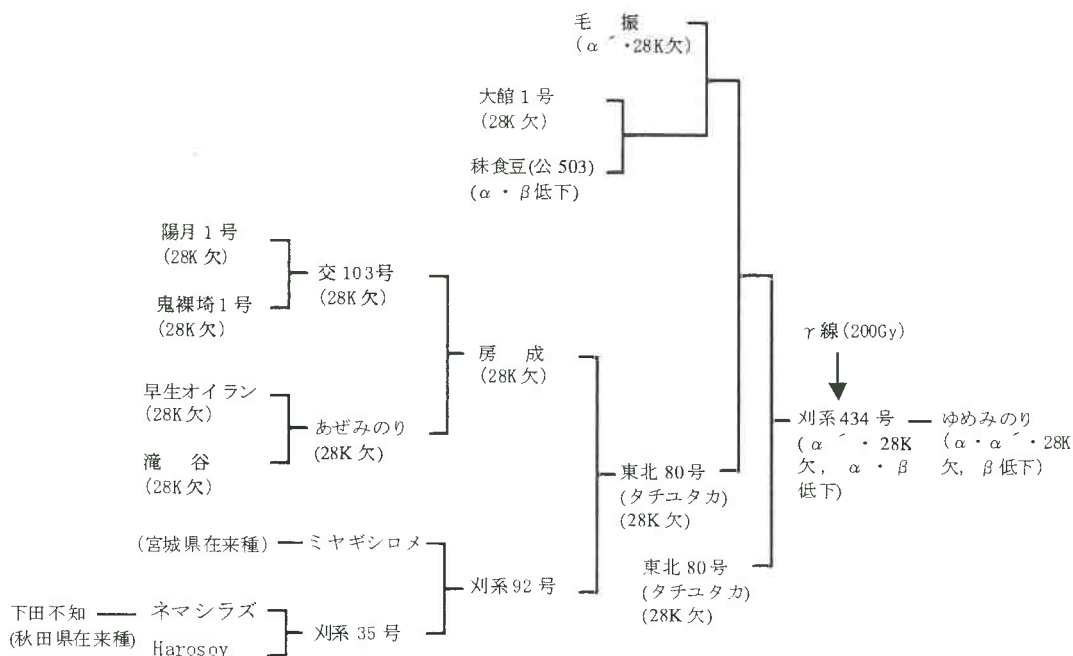


図2 「ゆめみのり」の系譜

を照射したその後代 (M<sub>2</sub>種子) から、7Sグロブリン α' サブユニットの欠失に加えて、α サブユニットが欠失した二重欠失種子を見出し (図1, 図2), これまで以上に高11Sグロブリン化が図られたダイズを作出することに成功した<sup>8)</sup>。

### 3. 低アレルギー性の発見

ダイズの主要アレルギーとしてGly m Bd 30K, Gly m Bd 28K, 7Sグロブリン α サブユニットが同定され<sup>3)</sup>, 当初, 「ゆめみのり」はこれらのアレルギーのうち, 7Sグロブリン α サブユニットのみをもたないダイズと思われた。しかし, 高11Sグロブリンダイズとしての研究を進める中で, 7Sグロブリン α サブユニットと α' サブユニットが同時に欠失していることが, ダイズ分離タンパク質から最大のアレルギーGly m Bd 30Kを物理化学的手法で除去するのに都合が良いことが明らかとなり, このことが「ゆめみのり」において確認された<sup>6)</sup>。その後, 残るもう一つのアレルギーGly m Bd 28Kも「ゆめみのり」には含まれないことが明らかになった<sup>7)</sup>。すなわち, 「ゆめみのり」は2つの主要アレルギーである7Sグロブリン α サブユニットと

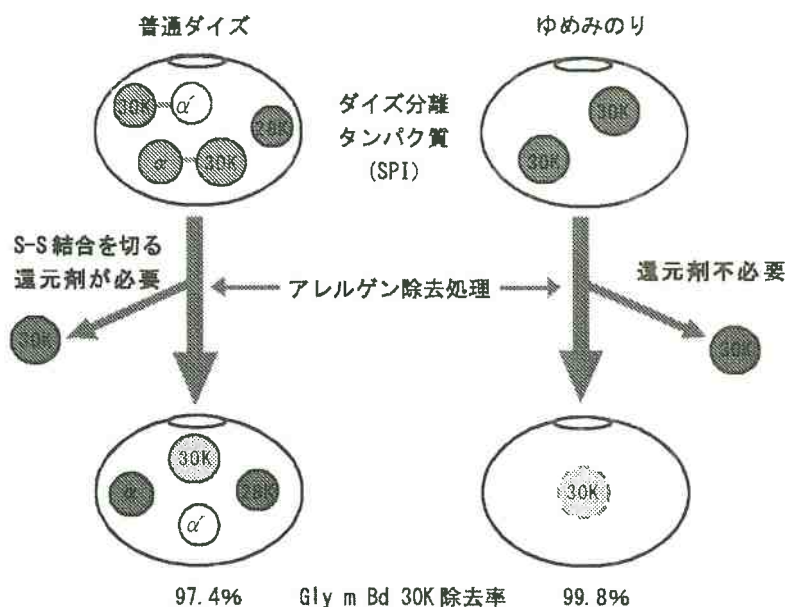


図3 「ゆめみのり」におけるダイズ分離タンパク質の低アレルギー化 (模式図)

●は主要アレルギーを示す。

Gly m Bd 28Kを遺伝的に欠失し, さらにダイズ分離タンパク質からはGly m Bd 30Kを非常に効率よく除去することが可能な低アレルギーダイズであることが明らかになった (図3)。

表2 タンパク質組成および11S/7S比

品種名	粗蛋白質含有率 (%)	7S			11S	その他	11S/7S比
		$\alpha$ (%)	$\alpha$ (%)	$\beta$ (%)	(%)	(%)	
ゆめみのり	47.9±0.8	0.0±0.0	0.0±0.0	3.3±0.4	27.6±0.9	16.9±0.9	8.41±1.1
刈系434号	45.6±1.2	0.0±0.0	2.7±0.2	2.6±0.2	23.2±1.4	17.2±0.9	4.43±0.2
スズユタカ	40.0±0.7	3.5±1.0	4.0±0.8	4.4±0.4	14.1±1.0	14.0±1.8	1.21±0.2
タチナガハ	40.9±0.8	4.3±0.6	4.9±0.4	3.0±0.2	14.9±0.6	13.7±0.7	1.23±0.1
タチユタカ	42.2±1.3	4.2±0.5	4.8±0.5	3.3±0.2	18.0±1.7	11.9±0.9	1.46±0.1

- 注. ① 窒素蛋白質換算係数は6.25。  
 ② 蛋白質組成はSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)により分離したものを、デンストグラフを用いて分析。SDS-PAGEにより得られた全バンドを全蛋白質と仮定した。  
 ③ 各5個体について分析。

#### 4. 低(脱)アレルギーダイズ食品の開発

低または脱アレルギーダイズ食品の開発は京都大学の小川正教授を中心に進められた。食品としては豆腐様食品及び煮豆様食品等が検討されている。

このうち煮豆様食品は、蒸煮ダイズに酵素処理を施してアレルギーを分解し、昆布味をつけるなどによって製造した。得られた煮豆様食品は通常の煮豆と比較して軟らかくなったものの特に違和感はなく、食品として十分利用可能であることが示された。そこで、この煮豆様食品についてダイズアレルギー患者を被験者としたチャレンジテストが実施された。その結果、被験者となった17名のダイズアレルギー患者のうち8割以上が低アレルギー化煮豆様食品を食べても症状の悪化はみられず、また、担当した医師による評価でも7割以上の医師が「有用」と判断した。さらに、患者における食味を評価する官能試験でも「良い」とする判定が多かった。これらの評価は「ゆめみのり」を用いた低アレルギー化煮豆様食品の有用性を示したものである。

#### 5. 高11Sグロブリン性

高11Sグロブリン化は本研究の当初からの目標であるが、「ゆめみのり」では7Sグロブリン $\alpha$ 及び $\alpha'$ サブユニットを同時に欠失させることで実現している。すなわち、「ゆめみのり」の粗タンパク質含有率は元系統であ

表3 子実のアミノ酸組成

アミノ酸	ゆめみのり	普通大豆 (I. O. M.)
スレオニン	50	39
チロシン	29	40
フェニルアラニン	56	59
シスチン	20	13
メチオニン	14	13
バリン	56	50
イソロイシン	50	51
ロイシン	82	85
リジン	68	64
トリプトファン	21	11
ヒスチジン	30	26
アスパラギン	129	134
セリン	56	60
グルタミン	189	239
プロリン	58	58
グリシン	47	44
アラニン	54	42
アルギニン	85	83

注. ① 単位はmg/g蛋白質。

② 「ゆめみのり」は1994年産。

る刈系434号の45.6%より高くなる傾向にあり(47.9%)、11Sグロブリン量としては23.2%から27.6%に増加し、11S/7S比としては刈系434号の4.43から8.41と高くなった(表2)。

また、高11Sグロブリン化で期待していたタンパク質当たりの含硫アミノ酸量の増加は、普通ダイズ(I.O.M.)に対してシスチンで1.5倍、メチオニンで1.1倍になっており(表3)、ダイズでは比較的少ないとされてきた含硫アミノ酸が強化された。これはダイズアレルギーに感作し、栄養的に問題が生じている幼児に対して、「ゆめみのり」を原料と

した低アレルギー化煮豆様食品や豆腐様食品が栄養問題解消には非常に有効である可能性を示している。

高11Sグロブリンダイズ利用の点からは、ダイズ分離タンパク質を介した利用がいくつか提案されている。例えば、古くなったダイズ原料で油揚げを製造すると伸びが悪くなるが、こういった劣化原料に「ゆめみのり」から製造したダイズ分離タンパク質を少し添加することで大幅に改善できることが実験的に確かめられている。逆に、高11Sグロブリン化したことで、通常行われている豆腐製造方法での豆乳抽出率が極端に低くなったり、凝固性が劣る場合もあり、一般的な豆腐用としては不適と判断される例が多かった。

## 6. おわりに

「ゆめみのり」の栽培計画が秋田県で進められている。しかし、「ゆめみのり」の栽培にあたっては、本品種が特殊な成分組成をもつという特徴から、その他のダイズ品種あるいは交雑可能な野生ダイズ（ツルマメ）とは厳密に隔離して栽培する必要がある。これは混種あるいは普通ダイズや野生ダイズとの自然交雑が発生すると、本品種が特徴としている低アレルギー性が維持できなくなるからである。したがって、混種や交雑を検査する手法や体制を整備するとともに、混ざり発生を想定した低アレルギーダイズとしての基準、混種割合が高くなり低アレルギーダイズとして利用できなくなった場合の代替利用法の確立を急ぐ必要がある。

また、ダイズアレルギーをもつ人が「ゆめみのり」を用いた低アレルギー化食品を利用

するためには、専門医の診断の上で利用することが重要である。「ゆめみのり」は低アレルギーダイズとは言え、最大のアレルギーGly m Bd 30Kはもちろん、アレルギーとなり得る成分は他にも数多く存在している。

他方、最大のアレルギーGly m Bd 30Kをもたないダイズの作出が強く望まれている。本アレルギーをもたないダイズが見出されれば、「ゆめみのり」以上にダイズを食べることができる患者の増加が見込まれ、より利用価値は高くなる。Gly m Bd 30K欠失ダイズの作出が急がれる。

## 引用文献

- 1) 青木宏 (1983), 新たんぱく食品の知識 (渡辺篤二監修), 第1版, 83-117, 幸書房, 東京
- 2) Ogawa, T. et al (1989), Japan. J. Breed., 39, 137-147
- 3) Ogawa, T. et al (1991), J. Nutr. Sci. Vitaminol., 37, 555-565
- 4) 小川正 (1998), ダイズのヘルシーテクノロジー (河村幸雄・大久保一良編), 21-57, 光琳, 東京
- 5) Ogawa, T. et al (2000), J. Nutr. Sci. Vitaminol., 46, 271-279
- 6) Samoto, M. et al (1996), Biosci. Biotech. Biochem., 60, 1911-19131
- 7) Samoto, M. et al (1997), Biosci. Biotech. Biochem., 61, 2148-2150
- 8) Takahashi, K. et al (1994), Breeding Science, 44, 65-66
- 9) Takahashi, K. et al (1996), Breeding Science, 46, 251-255

## ◀国内情報▶

## 走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (SNOM/AFM) によるナノFISH法の開発 —ナノレベルでの遺伝子位置の可視化に向けて—

独立行政法人 食品総合研究所  
大谷 敏 郎

従来DNAや染色体上の遺伝子の位置は、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) 法により蛍光顕微鏡を用いて観察していたが、光学限界のため実用的な分解能は  $1\ \mu\text{m}$  程度に制限されていた。蛍光色素の位置をナノレベルで検出可能な走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (SNOM/AFM) を応用することで、分解能を飛躍的に向上させた「ナノFISH法」の開発が期待できる。

### 1. はじめに

走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (Scanning Near-field Optical/Atomic Force Microscope) は、原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscope, AFM) の発展型として開発が進められているナノレベルでの可視化装置である。AFMの動作原理は従来の光学顕微鏡や電子顕微鏡とまったく異なるが、試料の形状を高分解能で可視化できるということで、「顕微鏡」として取り扱われている。AFMは1985年に発明されて以来、急速な発展を遂げている。すでに材料科学の分野では、固体表面や薄膜表面の分子配列などナノスケールの構造解析手法として多用されている。

通常の電子顕微鏡が真空中で観察する必要があるのに対し、AFMは電子顕微鏡以上の分解能を大気中または液体中で得られる。構造をいわゆる「生」のまま測定できるので、今後、生体試料の高分解能測定の重要な手法になると期待されている<sup>1,2)</sup>。SNOM/AFMは、このAFMの原理を元に、さらに測定対象物の蛍光など光の情報も計測可能にする新しい顕微鏡である。

### 2. AFMの原理と特徴

AFMは、鋭い探針で物体表面の近傍をな  
OHTANI Toshirou  
〒305-8642 つくば市観音台2-1-12

ぞり、その凹凸を記録し、コンピュータ上でそのデータを画像に再構成するのを動作原理としている。探針は通常半導体製造技術で作られたシリコン製の高さ $10\ \mu\text{m}$ 程度、先端径が $20\text{nm}$ 以下の特殊なものを使用する。現在のところ、実用的な最高の分解能は、大気中で高さ方向 $0.1\text{nm}$  ( $1\ \text{\AA}$ ) 程度、平面方向 $0.5\text{nm}$ 程度、溶液中ではその十倍程度である。

基本的にAFMは物体表面の凹凸を測定しているが、凹凸の測定と同時に物体表面の弾性や粘性の分布を測定したり、探針表面を化学的に、あるいは抗体等で修飾し、物体表面との特異的な結合力を測定することなども可能で、さまざまな応用が考えられている。

### 3. SNOM/AFMの特徴と原理

SNOM/AFMは、AFMの特徴に加え、探針を光ファイバーに置き換えて、光の情報を計測できるようにした顕微鏡である。走査型光プローブ原子間力顕微鏡の他、文字通り走査型近接場光原子間力顕微鏡と訳されることもある。

図1にSNOM/AFMの探針と動作原理を示した。探針は光ファイバーを鋭く尖らせ、先端を曲げることでAFM用とほぼ同じように凹凸を計測できる (図1 A)。この光ファイバー製の探針は「光プローブ」と呼ばれ、外側をアルミニウムなどの金属でコーティングすることでレーザー光を絞ることが可能にな

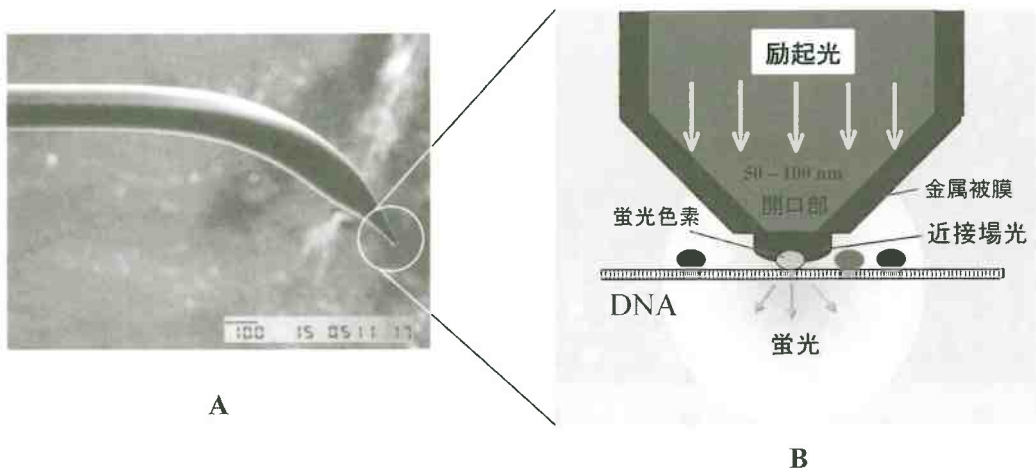


図1 走査型光プローブ原子間力顕微鏡 (SNOM/AFM) の探針と原理

A: 光プローブ (光ファイバー製の探針) の外観。

B: 光プローブ先端部分の断面模式図。先端の50~100nm程度の開口部から出る近接場光で蛍光色素を励起する。蛍光は下部に置いたレンズで集光する。いわば50~100nm程度のスポット照明で物体を見ていることに相当する。

る。

光プローブの先端には50nm程度の開口があり、開口付近に発生する近接場光と呼ばれる特殊な光を使って、試料に標識した蛍光色素を励起する (図1B)。これまでも、標識した蛍光色素を蛍光顕微鏡で観察可能であったが、分解能は光学限界のため数百nmから1 $\mu$ m程度に限られていた。しかしながらSNOM/AFMでは、50nm程度の開口を利用して、励起光をあたかもスポットライトのように絞って走査することが可能なため、分解能が飛躍的に向上し、ナノレベルの分解能で蛍光色素の標識位置を検出できる可能性がある。

このようにSNOM/AFMは、AFMによる凹凸の情報に加え、光の分解能以下での蛍光標識の位置計測や分光データの取得など、多くの重要な情報を得ることができるものと期待されている。

#### 4. 次世代のゲノム解析とナノFISH法

##### (1) 次世代のゲノム解析の方向

生物の遺伝子発現制御には、DNAの塩基配列のみならず遺伝子の修飾、不活化、染色体や核の構成などいくつもの複雑な過程が存在することが知られている。それらのいずれ

もDNAの3次元配置と深く関与すると考えられるので、これらの立体情報を解析することで遺伝子の発現制御機構が本質的に解決されることが期待されている。近い将来、これまで得られたDNAの塩基配列情報に立脚し、遺伝子の高次構造 (立体構造) と関係づけてゲノムの発現制御メカニズムが解明される時代が訪れることが予想される。しかしながら、ゲノムの複雑な立体構造を直接解析する研究手法は、立体構造の解析が生化学的手法と従来の顕微鏡学的な観察手法の中間的な領域であることから、極めて限られているのが現状である。

前述のように、AFMはこの生化学的手法と顕微鏡学的な観察手法を結ぶ新たな観察、計測、操作手法として期待できる。既に次世代のゲノム研究の一部として、各種のAFMや光ピンセット、半導体製造技術等を用いて、染色体の構造と機能を解明する研究プロジェクトも開始されている。

##### (2) 従来のFISH法

ゲノムの機能と構造を解明する方法の一つとして、個々の染色体上の遺伝子の座乗位置を正確に測定することが求められている。従来から、染色体上の遺伝子の位置を蛍光色素で標識し、光学顕微鏡を使ってその位置を顕

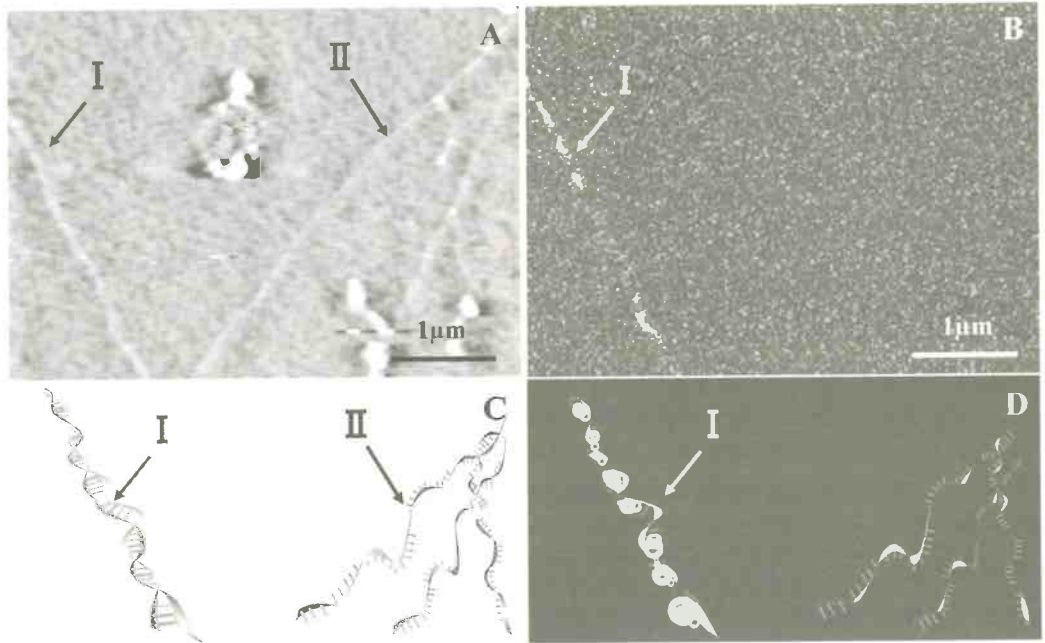


図2 走査型光プローブ原子間顕微鏡 (SNOM/AFM) による一本鎖DNAと二本鎖DNAの識別

A : DNAの形状像。DNA(I)の高さは0.25nm, DNA(II)は0.14nmで、幅もDNA(I)の方が広い。B : 同時に取得した蛍光像。DNA(I)のみ蛍光像が観察可能。C, D : A, Bの模式図。DNAを染色した蛍光色素 (YOYO-1) は二本鎖DNAにのみ結合。したがって、蛍光を観察できるDNA(I)は二本鎖、蛍光を観察できないDNA(II)は一本鎖と推定できる。

A 形状像	B 蛍光像
C Aの模式図	D Bの模式図

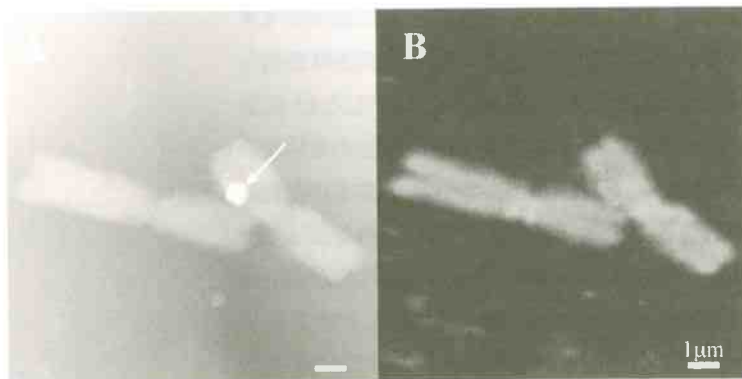


図3 バンド処理した染色体の同時に取得した形状像と蛍光像

A : 表面形状像, 観察範囲;  $10 \times 10 \mu\text{m}$ , 高さ; 500nm

B : 蛍光像, 観察範囲;  $10 \times 10 \mu\text{m}$ , 強度; 600mV

↓ 矢印の部位は形状像のみで観察されることから, DNAを含む染色体の断片ではないと推察できる。

察する蛍光in situハイブリダイゼーション (Fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 法が用いられている。遺伝子の存在と大まかな位置を測定する方法として利用されているが, 光学顕微鏡を使用するため分解能が制限されている。一方, SNOM/AFMは光の波長以下の分解能での測定が期待できるので, 光学顕微鏡に比べより詳細な遺伝子の位置測定

の実現可能性がある。

### (3) ナノFISH法

ゲノム上の遺伝子の位置測定は, 究極的にはDNA鎖上の遺伝子の位置測定ということになる。DNA上の遺伝子を蛍光色素で標識し, SNOM/AFMを使ってナノメートルレベルの分解能で検出し, 光学的限界を超えた超高解像度での可視化の実現を目指しているのが「ナノFISH」法である。具体的には, 目標遺伝子部位を蛍光標識したDNA断片を, 基板上に伸長・固定し, SNOM/AFMにより蛍光像を取り込み解析する。検出感度としては数十塩基程度の鎖長を, 空間分解能 (2点間の距離の識別) としては百nm程度 (約300塩基相当) 以下で遺伝子が検出可能と考えられる。

### (4) ナノFISH法の染色体解析への応用

染色体は古くから光学顕微鏡で観察されてきたため, 構造はすでに良く分かっているかのように誤解されている。しかしながら, 細か

い構造はほとんど分かっておらず、特に数十nmから数百nmの高次構造についてはいくつかの仮説が提出されているにすぎない。光学顕微鏡で観察するには小さすぎ、電子顕微鏡での観察では前処理によって試料の構造が失われている恐れがあるためである。そこで、ナノFISH法を染色体に応用し、高分解能で遺伝子の位置を観察することで、構造と機能を解明できる可能性がある。

## 5. SNOM/AFMによる生体試料の ナノ計測

ナノFISH法の実現に向けて、まずSNOM/AFMでDNAや染色体を観察できることが必要である。AFMやSNOM/AFMでの観察では、装置が高感度であるため、ナノメートルレベルの夾雑物でも検出してしまい、ノイズとなって本来の情報を埋もれさせてしまう可能性がある。そこで試料の調整方法の検討が重要になる。また、蛍光色素による標識方法、光ファイバー製探針自体の構造、探針の制御法、探針により励起された蛍光の検出法など様々な技術的な課題がある。

### (1) 1本鎖DNAと2本鎖DNAの識別

これまでSNOM/AFMでDNAファイバーの形状(凹凸)像と蛍光像を同時に観察した例はなかったが、今回初めてその同時観察に成功した。

図2はDNAファイバーをSNOM/AFMで計測した結果である<sup>3)</sup>。DNAを蛍光色素(YOYO-1)で標識した後マイカ基板上に伸長し、同じ場所の形状像(A)と蛍光像(B)を同時に取得することができた。図2AのDNA(I)の幅は72nm, DNA(II)は45nmであった。DNAの幅はSNOM/AFMの探針の先端径が大きいため、本来より幅が大きく計測されたが、DNA(I)のはDNA(II)に比べ約2倍であることが分かった。一方、図2Bの蛍光像では、DNA(I)の像しか検出できなかった。今回の蛍光標識に用いたYOYO-1は二本鎖DNAのみを標識し、一本鎖DNAは

標識しないとされている(図2C, D)。DNAの幅が約2倍で高さにも差があること、YOYO-1の染色に差があることから、DNA(I)は二本鎖、DNA(II)は一本鎖であることが明らかになった。従来のAFMでは大きさの情報のみから二本鎖か一本鎖を推定していたが、SNOM/AFMでは光学情報が加わることで、このようにより正確に判断することが可能になった。

### (2) 染色体表面構造のSNOM/AFM観察

図3に染色体のSNOM/AFMによる観察例を示した<sup>4)</sup>。染色体試料は、45%酢酸中で調製し、バンド処理の後DNAを蛍光色素で標識した。染色体においても、SNOM/AFMにより表面形状と蛍光像の同時観察が可能になった。図3に示したように、表面形状(高さ)と蛍光強度の増減が、場所によっては必ずしも一致しないことがわかった。例えば、セントロメア付近は立体的に低い(図3A)が、蛍光像では蛍光強度が強かった(図3B)。また、腕部においては高さがほぼ一定にもかかわらず、蛍光像にバンド状の強弱が観察され、DNAの密度が一様でないと考えられた。また、図3Aの矢印部分に示した部位は、図3Bでは観察されない。形状像で観察され、蛍光像で観察されないことから、この場合はDNAを含む染色体の断片でないことが示唆される。

## 6. おわりに

これまでの検討を元に、現在マイカ基板上に展開したλDNAにおいて、蛍光標識した15塩基の領域をSNOM/AFMで直接検出することに成功している。また、蛍光色素一分子を検出することにも成功している。これらの結果は論文として審査中であるが、ナノFISH法がSNOM/AFMによって実現可能であることを示す初めての例になろう。

ナノFISH法を汎用的な技術とするには、SNOM/AFMの改良はもちろん、目的とする遺伝子にほぼ確実に蛍光標識する方法、

DNAの場合は分子レベルで平坦なマイカ基板などの上の特定の位置に正確に伸長固定する方法、染色体の場合は立体形状を保ったまま蛍光色素で標識する方法などのさらなる研究が必要と考えられる。

DNAにおけるナノFISH法が確立することにより、DNAの特定遺伝子領域を切断、移動、回収などが可能になり、近い将来DNAの操作法、すなわち「ナノサージェリー法」の確立も可能になるだろう。

謝 辞

本研究の一部は、生研機構基礎研究推進事

業において推進されているものである。

文 献

- 1) Ohtani, T. et al (2000), *Starch/Stärke*, 52, 150-153
- 2) Yoshino, T. et al (2000), *J. Electron Microscopy*, 49, 483-486
- 3) Kim, J. M. et al (2001), *Anal. Chem.*, 73, 5984-91
- 4) Yoshino, T. et al (2002), *J. Electron Microsc.*, 51, 199-203



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ーフグとゼブラフィッシュを中心にしてー .....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」の特性ー従来用途向け育種への新たな視点の導入ー .....中谷 誠

人工シャペロンによる変性タンパク質の活性化ータンパク質リフォールド手法の開発ー .....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

ーアメリカ・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。



## ◀国内情報▶

## 魚類始原生殖細胞を利用した 新たな育種技法の開発

東京水産大学・資源育成学科

吉崎 悟朗・竹内 裕・小林 輝正・伊原 祥子・竹内 俊郎

ニジマス個体内で生きた始原生殖細胞を可視化し、これらの細胞を単離・精製する方法、さらに一端*in vitro*に取り出した細胞を宿主個体に移植して、再び生殖系列に戻す方法の開発に成功した。本稿ではこれらの技術開発の現状を紹介するとともに、始原生殖細胞の凍結保存による魚類遺伝子資源の保存法、あるいは始原生殖細胞を異種宿主に移植し、卵・精子を産生させる新たな育種技法の可能性について紹介する。

### 1. はじめに

近年、水圏環境の悪化や乱獲により、多くの魚種の資源量が減少しており、絶滅の危機に瀕している種も少なくない。もし、これらの種が絶滅する前に、個体に再生可能な細胞を取り出して凍結保存し、必要時に個体に改変できれば、魚類遺伝子資源の保存に大きく貢献できよう。魚類では精子の凍結保存は可能になっているものの、卵あるいは受精卵の凍結保存技術が確立していないため、遺伝子資源を保存する唯一の方法は個体を継代飼育することである。凍結保存した精子から雄性発生により個体を作成することも原理的には可能であるが、その成功率は極めて低いうえ、母性遺伝する遺伝子の保存が不可能である。一方、天然資源を補充するため、親魚から得た受精卵を人為管理下で歩留まりの良い稚魚にまで飼育した後、天然の水圏に放流する、いわゆる“栽培漁業”も盛んに行われている。最近ではマグロ類の栽培漁業を目指し、マグロ稚魚の生産（種苗生産）も試みられている。しかし、マグロはその体重が数百キロにも達するため、親魚の養成には巨大なイケスが必要になるうえ、成熟までに要する期間も長く、親魚の維持管理に莫大な手間と費用を必要と

YOSHIZAKI Goro, TAKEUCHI Yutaka,  
KOBAYASHI Terumasa, IHARA Shoko,  
TAKEUCHI Toshio  
〒108-8477 港区港南4-5-7

する。もし、サバにマグロの卵や精子を作り出す幹細胞を移植することで、このサバがマグロの卵や精子を産生できるようになれば、小さな水槽で小型のサバからマグロの受精卵を得ることができよう。このような技術が実用化すればマグロの種苗生産を飛躍的に簡略化できると期待される。ここで述べた2つのアイデア、すなわち個体に再生可能な細胞の凍結保存や、異種の配偶子を産生する親魚の作出が、最近の著者らの研究により現実のものになりつつある。そこで、本稿では著者らが行っている魚類の始原生殖細胞を利用した新たな魚類育種技法の進展について概説する。

### 2. 魚類の始原生殖細胞

始原生殖細胞とは性が分化する以前の生殖細胞のことで、雄では精原細胞、精母細胞、精細胞を経て精子へ、雌では卵原細胞、卵母細胞を経て卵へと分化する細胞である。言い換えれば、始原生殖細胞とは成熟、受精を介して個体に改変することが可能な細胞である。すなわち、前節で述べた凍結保存に用いる“個体に再生可能な細胞”や、異種個体に移植する“卵や精子を作り出す幹細胞”の候補としてこの始原生殖細胞は最も適していると考えられる。このように始原生殖細胞は非常にユニークな特徴を有するものの、魚類においては孵化前後の仔稚魚のみが有する細胞で、1尾当たりの始原生殖細胞数も数十個程

度とその数も極めて限られている。

### 3. ニジマス始原生殖細胞の可視化

前節までに述べたように生きた始原生殖細胞を個体から単離できれば、様々な発生工学的技術に応用することが可能である。しかし、著者らが研究を開始した当初、魚類の生きた始原生殖細胞を同定するためのマーカーは皆無であった。そこで、ショウジョウバエからヒトまでの幅広い動物種にわたり、生殖細胞系列で特異的に発現していることが知られている *vasa* 遺伝子に注目した。魚類における *vasa* 遺伝子の機能は明らかではないが、ショウジョウバエでは生殖細胞における mRNA の翻訳に関与する RNA ヘリカーゼ活

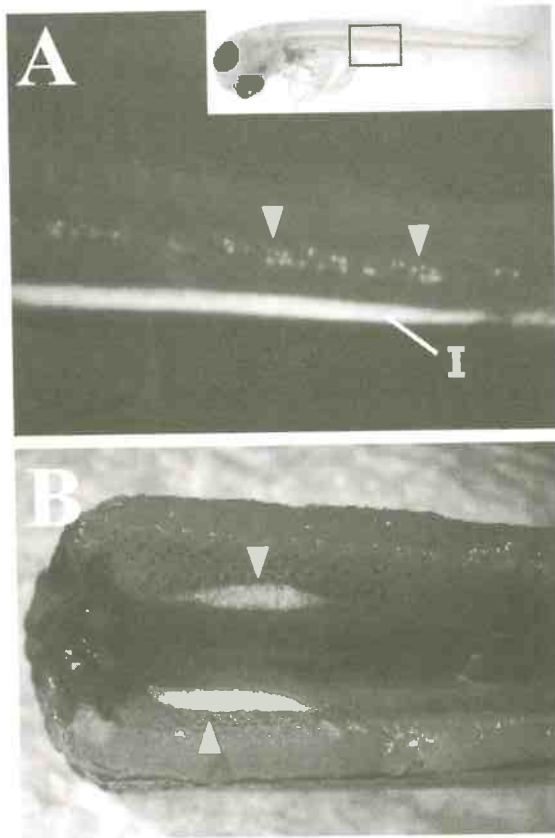


図1 *vasa*-GFP遺伝子を導入したニジマス(F1)の蛍光観察像。

A: 孵化稚魚の始原生殖細胞(矢頭)においてGFP遺伝子が特異的に発現し、緑色蛍光を発している(右上端の写真内黒枠部の拡大図)。Iは自家蛍光を発している消化管。B: 受精後6ヶ月の雌個体。卵巣(矢頭)内の卵原細胞、卵母細胞が特異的に緑色蛍光を発している。

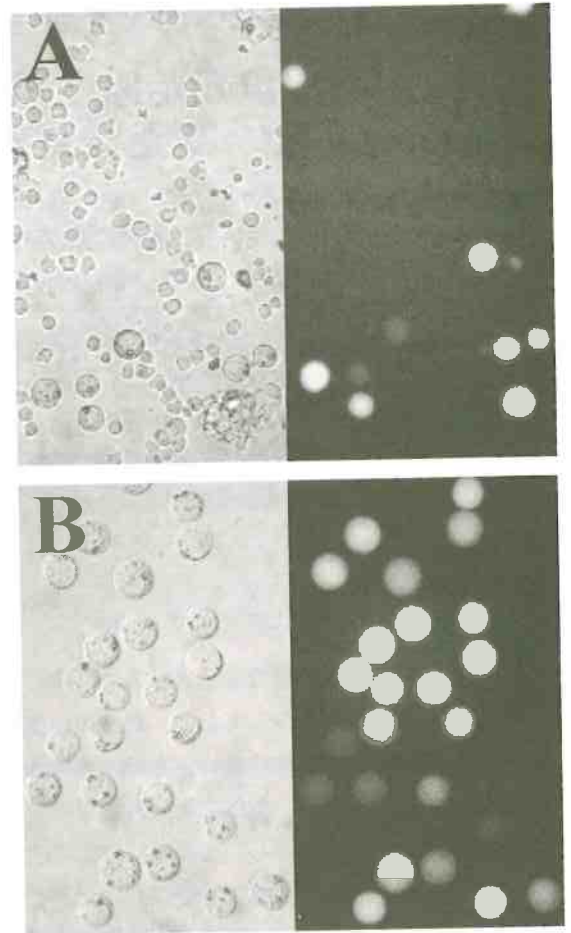


図2 ニジマス始原生殖細胞の単離・精製  
A: 孵化稚魚の生殖隆起をトリプシン処理し、体細胞と始原生殖細胞を解離した像。B: セルソーターにより精製した始原生殖細胞。全ての細胞が蛍光を発している(左: 明視野像, 右: 蛍光像)。

性を有するといわれている<sup>1)</sup>。まず、著者らはニジマスの *vasa* cDNA をクローニングし、その発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法で解析した。その結果、本遺伝子は仔稚魚期のニジマスでも始原生殖細胞において特異的に発現していることが明らかとなった<sup>2, 3)</sup>。この結果は、*vasa* 遺伝子の転写調節領域は始原生殖細胞においてのみ活性化され、*vasa* mRNA の転写を促していること示している。そこで著者らは、*vasa* 遺伝子の転写調節領域をクローニングし、これにオワンクラゲ由来の緑色蛍光タンパク質 (green fluorescent protein; GFP) の遺伝子を接続してニジマスへ導入した。すなわち、始原生殖細胞において *vasa* 遺伝子由来の転写調節領域が特異的に活性化され GFP を産生すること

で、始原生殖細胞が特異的に緑色蛍光を発することを期待したわけである。得られた遺伝子導入ニジマス稚魚は、予想通り全ての始原生殖細胞が強い緑色蛍光を発しており（図1A）、生きた魚類個体の中で生きた始原生殖細胞を可視化することに世界で初めて成功した<sup>4)</sup>。この緑色蛍光は始原生殖細胞に限らず、内在性 *vasa* 遺伝子の発現パターンと同様、卵原細胞、精原細胞、さらには卵母細胞においても認められた（図1B）<sup>5)</sup>。

#### 4. ニジマス始原生殖細胞の単離

次に著者らは、セルソーターを用いて緑色

蛍光を発している始原生殖細胞と、蛍光を発していない生殖隆起（未熟な生殖腺原基）の体細胞とを蛍光強度を指標にして分取することを試みた。セルソーターを用いた細胞の分取においては、供試する細胞懸濁液中における目的細胞（この場合は始原生殖細胞）の濃度が高ければ高いほど、高回収率が期待できる。そこで、ニジマス稚魚全体をサンプルとして用いるのではなく、孵化稚魚から始原生殖細胞を含む生殖隆起のみを大量に回収した。通常、孵化稚魚の生殖隆起を単離するのは非常に困難であるが、ニジマス孵化稚魚は全長1.5cm程度と他の魚種と比較して極めて大きいため、実体顕微鏡下で解剖が可能であ

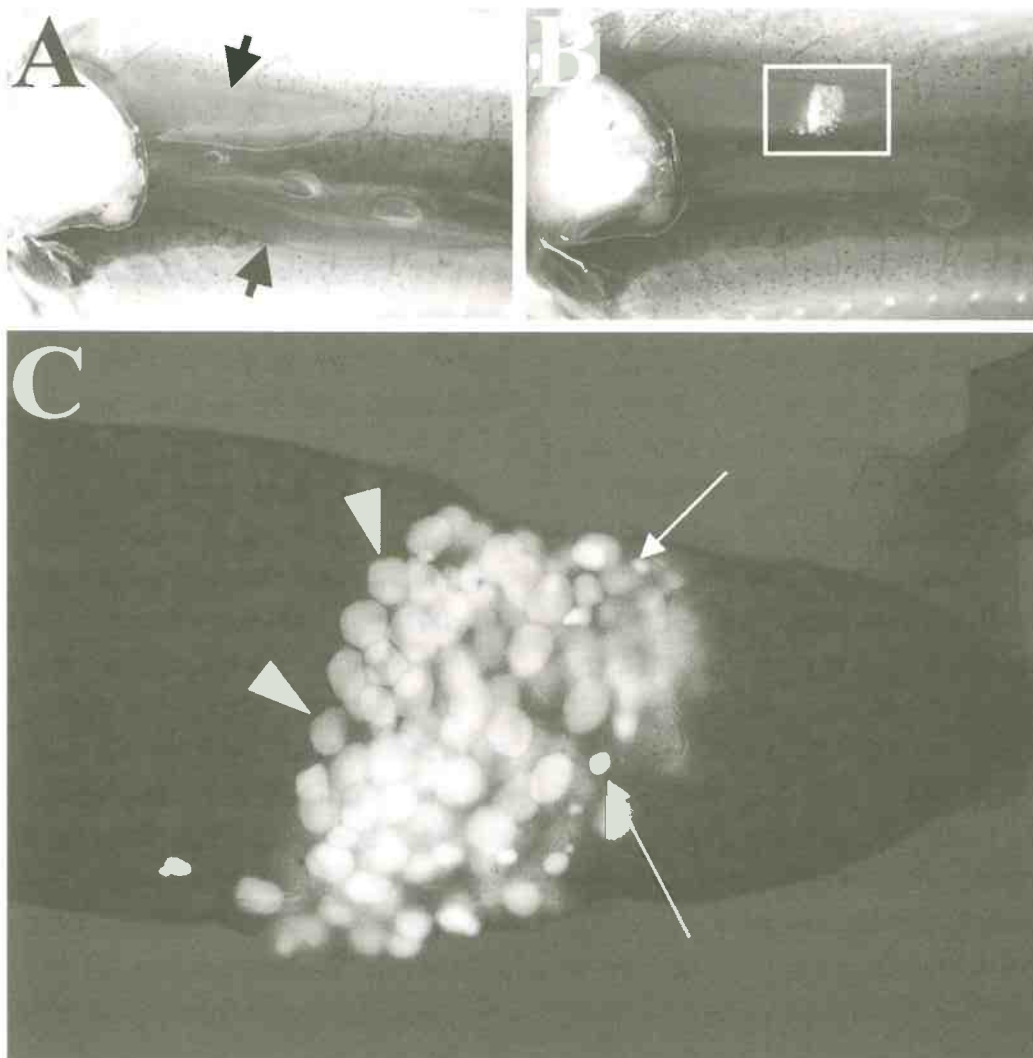


図3 始原生殖細胞を移植して6ヶ月間経過した宿主ニジマスの開腹像  
*vasa*-GFP遺伝子の導入により蛍光標識した約10個の始原生殖細胞を、野生型孵化稚魚の腹腔内に移植した。A：明視野像。矢印は卵巣。B：Aの蛍光観察像。Cは白枠の拡大図。蛍光標識された移植始原生殖細胞に由来する多数の卵原細胞（矢印）や卵母細胞（矢頭）が確認できる。

る。さらに、生殖隆起内に含まれる始原生殖細胞は緑色蛍光を発しているため、実体蛍光顕微鏡を用いると緑色蛍光を目印にして容易に生殖隆起を単離することができた。得られた生殖隆起はトリプシン溶液で単一細胞にまで解離し、セルソーターに供試した。蛍光強度解析により、強い蛍光を発している細胞集団が認められたので、この集団を分取した結果、得られた細胞は顆粒を多く含む大型の円形細胞であり、大型の核を有するという始原生殖細胞の形態的特徴を良く示していた(図2)<sup>5)</sup>。なお、生殖細胞マーカーである *vasa* 遺伝子は単離した蛍光陽性の細胞集団のみで発現していたうえ、生殖隆起を構成する体細胞マーカーの mRNA は全く検出されなかったことから、本法で回収した蛍光陽性細胞が間違いなく始原生殖細胞であること、さらにこの細胞集団に体細胞はほとんど混入していないことが確認された。また、予備的な実験ながら、これらの始原生殖細胞を抗凍結剤存在下で凍結保存できることも確認済みである。

### 5. 始原生殖細胞の宿主への移植

始原生殖細胞を卵・精子に改変するためには、宿主個体に移植して、その生殖腺内で成熟させる必要がある。著者らは孵化前後の稚魚から単離した始原生殖細胞を、孵化後2週間以内のニジマス稚魚の腹腔内に移植すると、始原生殖細胞が生殖隆起に移動し、生殖隆起に取り込まれること、さらに生殖隆起に取り込まれた始原生殖細胞は増殖した後、減数分裂を開始し、宿主の生殖細胞と同調して成熟が進むことを確認した(図3)。移植した始原生殖細胞が宿主の腹腔内でどのような機構により生殖隆起に移動するかは現在のところ明らかではないが、生殖隆起から分泌される何らかの物質により誘引されているものと考えられる。また、この移植技法は少なくとも同属の異種間でも成立する。実際にヤマメの孵化稚魚に移植したニジマスの始原生殖細胞が宿主生殖腺内に取り込まれ、増殖する

ことを確認している(竹内ら、未発表)。

### 6. 今後の展望

これまでの研究により1) 始原生殖細胞を生きた個体内で可視化する方法、2) 単離・精製する方法、3) 宿主個体に移植して再び生殖系列に戻す方法の確立に成功した。これらの技術開発により、絶滅危惧種や有用品種の始原生殖細胞を単離・凍結後、近縁種や別系統の宿主生殖腺内で卵や精子を作らせ、個体を再生する技術、あるいは単離した始原生殖細胞を、不妊化した異種宿主に移植することで、異種の卵・精子を作る親魚の作出も現実のものとなりつつある。また、このような一連の操作が可能な動物種は現在のところニジマスのみであるため、本実験系は水産への応用のみならず、生殖医療や畜産分野の発生物学にも有用な情報を提供することができよう。さらに、始原生殖細胞の *in vitro* 培養技法が確立すれば、これらの細胞をES細胞同様に扱うことが可能であり、“幹細胞を介した遺伝子導入技法”を利用した魚類育種や遺伝子ノックアウト技法の確立(詳細は文献6参照)に大きく貢献できると期待される。

### 文 献

- 1) Raz, E. (2000), *Genome Biol.*, 1, 1017.1-1017.6.
- 2) Yoshizaki, G. et al (2000), *Mol. Reprod. Develop.*, 55, 364-371.
- 3) Takeuchi, Y. et al (2002), in *Aquatic Genomics* (Aoki, T. and Shimizu, N., Eds), Springer Verlag, Heidelberg, Germany (in press).
- 4) Yoshizaki, G. et al (2000), *Int. J. Dev. Biol.*, 44, 323-326.
- 5) Takeuchi, Y. et al (2002), *Biol. Reprod.*, (in press).
- 6) 吉崎悟朗ら(2002), 海洋と生物, 24, 100-106.

## ◀国内情報▶

## 乳成分連続測定装置の開発

北海道大学大学院農学研究科 農産物加工工学研究室

伊藤 和彦

乳牛の生体情報、特に牛乳の成分値と体細胞数を連続的に測定する装置の開発を試みた。測定原理は近赤外分光法である。開発した装置を用いて、気泡を含み脈動状態で流れる牛乳中の乳脂肪、乳タンパク質、乳糖及び体細胞数を高い精度で測定することが可能であることを確認した。本装置を利用して乳牛個別の飼養条件（給餌条件）と乳成分との関係を知る事によって大規模酪農において精密飼養管理が可能になるものと予測される。

## 1. はじめに

日本の酪農を取り巻く変化として目立つのは一戸当たりの飼養頭数の増加である。特に北海道では一戸当たりの飼養頭数は過去25年間で4倍弱の増加を示し、現在、一戸当たりの平均飼養頭数は85頭を超え、ヨーロッパの水準を上回っている。今後は乳量の増加とともに乳質（乳脂肪、乳タンパク質、乳糖）の改善が急務となっている。このため、乳牛の品種改良を行い、泌乳能力の向上に努めるとともに能力を引き出すための飼養管理技術の向上が待たれる。

大規模酪農家の飼養管理技術は群管理を前提にして開発されてきたが、今後はより精密な管理を行う個体管理技術を組み込む必要がある。この場合、乳牛個別の生体情報を得る必要がある。生体情報として、乳成分の経時変化を正確に入手する必要がある。しかし、これに対応する技術・方法は確立されていない。また、酪農家の関心事に乳房炎を発症している乳牛の早期発見方法を確立することがある。この方法が確立すれば大きな経済的損失を回避できる。そこで乳牛個体の搾乳中の乳成分及び牛乳中の体細胞数を連続的に測定する装置の開発を試みた。

## 2. 実験方法

装置の概要を説明する。測定原理は近赤外線拡散透過法を用いた。開発のポイントは搾乳機から脈動状態で出てくる気泡を含む牛乳の流れを定常状態に保ち、気泡を除去する測定部を開発することである。測定部を二種類開発した。図1に初期型測定部の平面図を示した。牛乳は連続的に測定室に供給され、測定室をオーバーフローしバケットへ流れ出る。測定部の生乳体積は約700mLである。測定室は白色テフロン製である。牛乳に照射されたハロゲンランプの拡散透過光が光ファイバーにより分光器へ導かれる。ハロゲンランプと光ファイバーの光軸は同一水平面上にあり、かつ直交している。

分析計の測定波長範囲は600~1050nmであり、1nmごとにスペクトルの測定を行った。スペクトルの測定では、測定室に牛乳がない時（空気がある時）の拡散透過光をレファレンス（基準）とした。次に装置の実用化を目的として小型の改良型測定部を開発した。測定部は円柱状をなし、測定部の牛乳体積を230mLとし、本測定部全体の体積を初期型の3分の1程度に減少させた。両測定部の特徴は、オーバーフロー用の筒を用いて牛乳の液面を一定にしつつ試料の流動状態を定常化させ、試料部において気泡を除去する方法を採用したことである。

測定方法について説明する。図2に搾乳時

ITO Kazuhiko

〒060-8589 札幌市北区北9条西9丁目

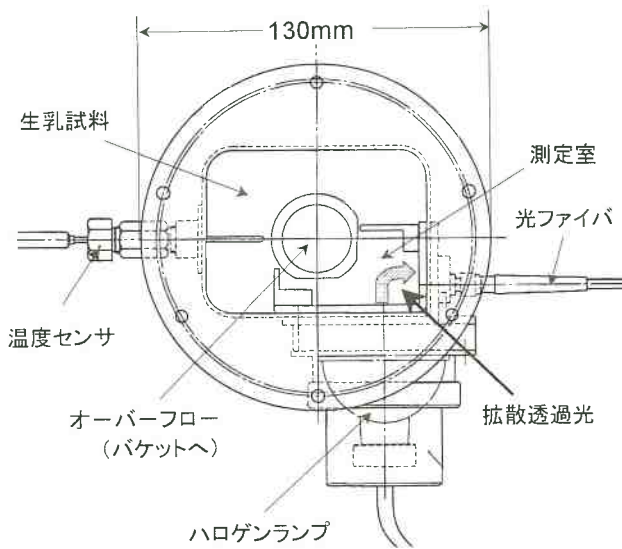


図1 初期型測定部の平面図

搾乳機から流出した生乳は測定部に接線方向から供給され、測定部に一旦留まり、中心部に設置されているオーバーフロー（円筒）から排出される。この間に生乳中の比較的大きい気泡が除去される。

における測定のプロフローチャートを示した。ミルカで搾乳された牛乳は近赤外分析計測定部へ送られる。測定部を通過した牛乳は乳量計、サンプラを通過しバケットへ送られる。スペクトルの測定は15秒毎に行い、乳量は1分毎に測定した。

基準分析試料は、搾乳開始から1分間毎に集積した試料をそれぞれ採取した。搾乳終了後にバケットの牛乳を攪拌し、搾乳1回分全体の平均試料を採取した。測定は北海道大学構内の牛舎において、1999年9月28日から2000年7月28日までの期間に、約2週間に一度、夕方と朝の搾乳時に行った。測定回数は乳牛2頭、夕方と朝の搾乳を合計して55回である。搾乳中に採取した基準分析試料数は乳牛2頭、夕方と朝の搾乳を合計して359点であった。

乳成分の測定にはFoss Electric社製Milkoscan S54-Aを用いた。あらかじめ化学分析した牛乳によりMilkoscanの測定値を校正し、これを基準分析値とした。体細胞数の測定にはFoss Electric社製Fossomatic 5000を用いた。

キャリブレーションの作成と検証方法につ

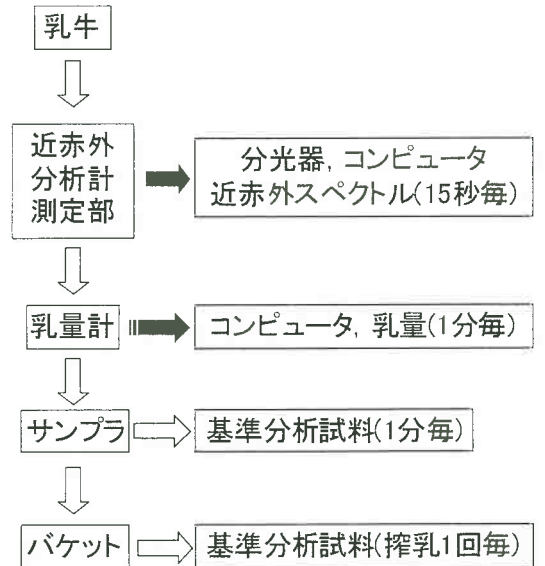


図2 搾乳時における測定フローチャート

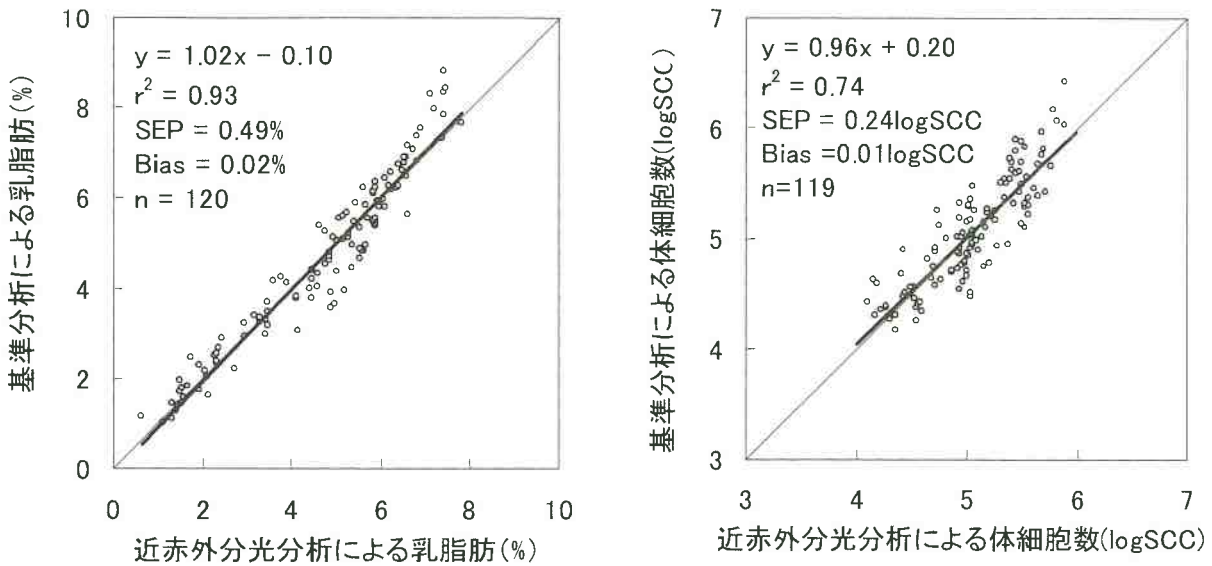
いて説明する。15秒毎に測定した近赤外拡散透過スペクトル4つを平均し、1分間のスペクトルとした。キャリブレーションは1分毎のスペクトルと基準分析値からPartial Least Squares (PLS) 回帰分析法で作成した。スペクトルのスムージングや微分などの前処理は行わず、原スペクトルをキャリブレーションの作成に用いた。試料数359点のうち239点でキャリブレーションを作成し、残りの120点で測定精度の検証を行った。なお、体細胞数は基準分析値を常用対数値 (logSCC) に変換し、キャリブレーションを作成した。

### 3. 結果と考察

図3に乳成分の一例として取り上げた乳脂肪と体細胞数のキャリブレーションを示した。各成分に対する測定精度を検証した結果以下のことが分かった。

測定した乳脂肪の範囲は1.01%~8.81%であった。乳脂肪の測定精度は決定係数 ( $r^2$ ) が0.93, 測定値の標準誤差 (SEP) が0.49%であり、良い精度であった。乳タンパク質と乳糖の測定精度は、乳脂肪と比較すると $r^2$ がやや低いが、SEPが小さいので実用上十分に良い精度であった。

測定した体細胞数の範囲は1.5万/mL (logSCC = 4.18) ~ 268.5万/mL (logSCC = 6.43)



乳脂肪

体細胞数

図3 乳脂肪と体細胞のキャリブレーション

であった。体細胞数の測定精度は $r^2$ が0.74, SEPが0.24 log SCCであった。この測定精度は、例えば、試作した近赤外分析計 ( $r^2=0.74$ ) を用いて、体細胞数が少なく乳質の良い牛乳と、体細胞数が多く乳質の良くない牛乳とに供試試料を2分類した場合、正しく分類できる確率は約83%であることを意味している。また、供試試料を3分類した場合、正しく分類できる確率は約70%となる。したがって、試作した近赤外分析計は搾乳時に体細胞数により乳質をリアルタイムに検知するには、実用上十分な精度があると考えられる。

写真1に改良型測定部、乳量計等を組み込んだ測定装置を用いて牛舎内で乳成分等を測定している様子を示した。

図4に朝・夕に行った搾乳時における乳脂肪率の変化の一例を示した。本図から、乳脂肪率は搾乳開始時に低く、搾乳が進行すると増加することが分かった。乳脂肪率の経時変化は搾乳牛間の個体差が大きく、分娩後の経過日数および飼養条件(舎飼いまたは放牧)によっても変化することを明らかにした。

4. おわりに

開発した装置を使用し、乳牛ごとの資料を積み上げることによって、最適飼養条件を個

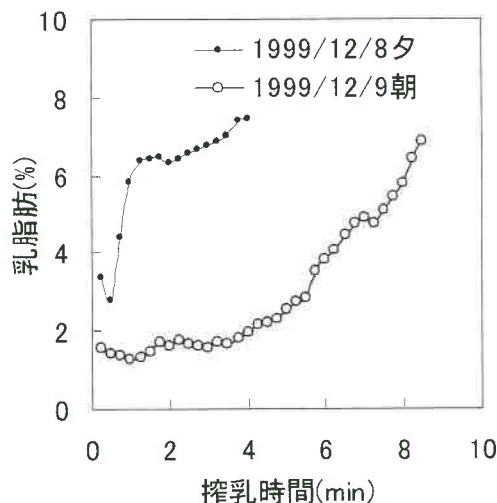


図4 搾乳中の乳脂肪変化

搾乳開始時刻：16時00分(夕)、8時30分(朝)



写真1 改良型測定部を用いた装置による測定  
北大構内の牛舎での測定(4頭の搾乳牛を対象とする)

体ごとに設定することが可能になり、体細胞数の推移を検討することによって乳房炎の予知も可能になると考えられる。最近実施した実験の結果を考察した結果、牛乳中の尿素体窒素量の推定が可能であることを確認している。今後は学外において多くの乳牛を対象とした計測を行い、汎用性の高いキャリブレーションを作成し、実用化を目指している。実用化の初段階として搾乳ロボットへの利用の可能性が高いと考えられる。

尚、特許申請を行っていた本装置に対して平成13年12月に特許庁から特許査定を受けた。

謝 辞

本研究は平成8～12年度の間に生物系特定産業技術研究推進機構によって実施された

「近赤外分光法を基軸とする乳牛生体情報のオンラインモニタリング手法の開発」の一部として実施した。ここに記して謝意を表します。

文 献

- 1) ツェンコヴァ ルミアナら (2000), 農業機械学会第59回年会, 303-304
- 2) 川村周三ら (2001), 農業機械学会第60回年会, 83-84
- 3) 夏賀元康ら (1998), 農業機械学会第57回年会, 293-294
- 4) 杉船大亮ら (2001), 農業機械学会第60回年会, 85-86
- 5) 于 長華ら (1999), 農業機械学会第59回年会, 307-308



ブレイン テクノニュースの  
バックナンバーご案内

第 91 号

2002 (平成14) 年 5 月 15 日 発行

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 ……………高橋秀之  
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……………熊谷勝男・小峯健一・貝健三・浅井健一・黒石智誠・小峯優美子  
稲発酵粗飼料用の水稻新品種「クサホナミ」の育成 ……………根本 博  
酵母が生産するバイオサーファクタントー界面の花形役者, 省エネからガン治療まで……………北本 大  
中山間地域対応自脱型コンバインの開発……………杉山隆夫  
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 ……………深山陽子・橋本和仁  
文献情報  
核移植クローン技術による  $\alpha$ -1, Galactosyl-trans-

feraseノックアウトブタの作製 …(抄訳: 横尾正樹)  
蛋白質分解におけるX-Propyl Dipeptidyl AminopeptidaseとNon-Specific Amino-Peptidaseの相乗作用 ……………(抄訳: 西村新吾)  
NOはABAのシグナル伝達物質?  
Yes or No? ……………(抄訳: 岩井純夫)  
KNATIとERECTAはシロイヌナズナの花序構造を制御する……………(抄訳: 春原英彦)  
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……………(抄訳: 玉井忠和)  
海外便り  
マメ科植物における共生窒素固定根粒機構の解析ーデンマーク・オーフス大学での在外研究ー……………梅原洋佐  
生研機構からのご案内  
○融資制度のご案内。



## ◀地域の先端研究▶

## チューリップ組織培養系の開発

富山県農業技術センター 農業試験場 生物工学課

\*同センター 野菜花き試験場 花き課

小泉 昌広・飯村 成美\*・荘司 和明

富山県では昭和22年からチューリップの育種に取り組んでいるが、チューリップの新品種育成には、20年以上の年月を必要とする。そこで、この育成期間を短縮するために組織培養による球根増殖技術の開発に取り組んだ。チューリップの組織培養は困難であるとされてきたが、今回富山県育成品種などについて組織培養が可能となった。りん片からの増殖培養系を利用することで、培地上で球根の大量増殖を行うことが可能である。

## 1. はじめに

富山県はチューリップ球根の国内における生産量の約50%を生産している。また、県内産地で栽培されている品種の約25%は県で育成した品種で占められている。富山県におけるチューリップ育種は昭和22年に始まり、昭和26年からは農水省指定試験事業のチューリップ育種指定試験地として続けられ、これまでに22品種が育成されている。

しかしながら、チューリップはほ場栽培において球根増殖率が低く、球根肥大も遅いため、品種育成には長い年月が必要である。一つの新品種ができるには、交配を行ってから球根養成に5～7年以上、初開花後の球根増殖に10年以上のほ場栽培が必要であり、特性調査を終えて育成が完了するまでに合計20年以上の年月を要する。チューリップは同一ほ場における連作ができないため、一年毎に球根の植え付けと掘り取りを繰り返すことが必要で、その栽培労力は育成期間全体を通して大変な量である。それに加えて、ほ場栽培で球根を増殖する場合、ウイルス病の感染や球根腐敗病などの病害に侵される危険性が大きい。

一方、同じ球根花きでもユリなどでは、組織培養による球根の大量増殖が可能であり、

KOIZUMI Masahiro, IIMURA Narumi,

SHOJI Kazuaki

〒939-8153 富山市吉岡1124-1

チューリップに比べると半分以下の期間で品種育成を行うことができる。チューリップ育種の現場では、現在新品種育成にかかっている年数を大幅に短縮するために、組織培養による球根増殖系が長年切望されていた。

## 2. チューリップの組織培養

これまでチューリップの組織培養については、不定芽から直接シュートを經由して小球根を形成させる方法<sup>1)</sup>や、近年ではカルス培養を利用した増殖法についていくつかの報告がなされている<sup>2, 3, 4)</sup>が、ユリなどのように実用的な球根増殖技術としての利用にはまだ至っていない。また、チューリップ球根では花茎組織の培養効率がよく、主な培養材料として用いられてきたが、1球からとれる材料に限られるため増殖目的に利用することは難しい。

そこで、多くの材料がとれて、最も利用しやすい球根りん片を材料とした培養再分化系を開発し、組織培養による球根増殖技術の確立を目的として、平成6年からチューリップの培養系開発の研究に取り組み始めた。また、1球から多くとれる組織材料として、根の先端組織からの培養系についてもその開発に取り組んだ。

チューリップのりん片培養を始めた当初、培養初期の段階でほとんどの組織片が褐変死してしまい、うまくいかないという結果が続

いた。しかしながら、その中でも唯一「アペルドーン」という品種は褐変死する割合が少なく、培養を続けることが可能であった。

それからは、主にこの品種を材料として培養系の開発を進め、カルス形成からシュート伸長を経て球根形成に至る一連の培養系の条件設定を行っていった。そうして、「アペルドーン」のりん片を材料として、高い効率での培養が可能となり、培地上での球根増殖が可能になった<sup>5)</sup>。

しかし、「アペルドーン」で設定した培養条件を用いても、他の品種については依然として培養の初期の段階での褐変死が多く、培養効率はなかなか上がらなかった。そこでさらに、富山県育成の品種を中心に培養初期のカルス誘導条件について検討を続け、培養系

表1 富山県育成品種のカルス誘導培養における最適ホルモン濃度

		BA(mg/l)		
		0.2	1	2
2,4-D (mg/l)	0.2			初桜
	1	白雪姫	黄小町	白雲
	2	紅輝		春乙女
ピクロラム (mg/l)	1		夢の紫 恋茜	

それぞれの最適区に品種名を記した。

の改良を続けた。その結果、野生種なども含めた20品種あまりについて、りん片を材料とした培養が可能となった。次にその培養系の主な手順について説明する。

### 3. りん片からの球根増殖培養法

りん片を材料として、カルス誘導から子球根形成までの培養の過程は以下の通りである(図1, 2)。

#### (1) カルス誘導

次亜塩素酸ナトリウム水溶液で殺菌したチューリップの球根から厚さ1~1.5mmのりん片切片を切り出し、カルス誘導培地に置床する。球周10cmの球根からは約300個の切片を切り出すことができる。カルス誘導の最適培地条件は品種によって異なるため、事前に品種毎に植物ホルモン濃度の組み合わせなどについて検討し、最適化を行っておくことが必要である(表1)。培養は20℃、暗黒下で行い、1か月毎に継代培養を行う。約3か月間の培養でりん片切片上にカルスが形成される(図1, 2)。

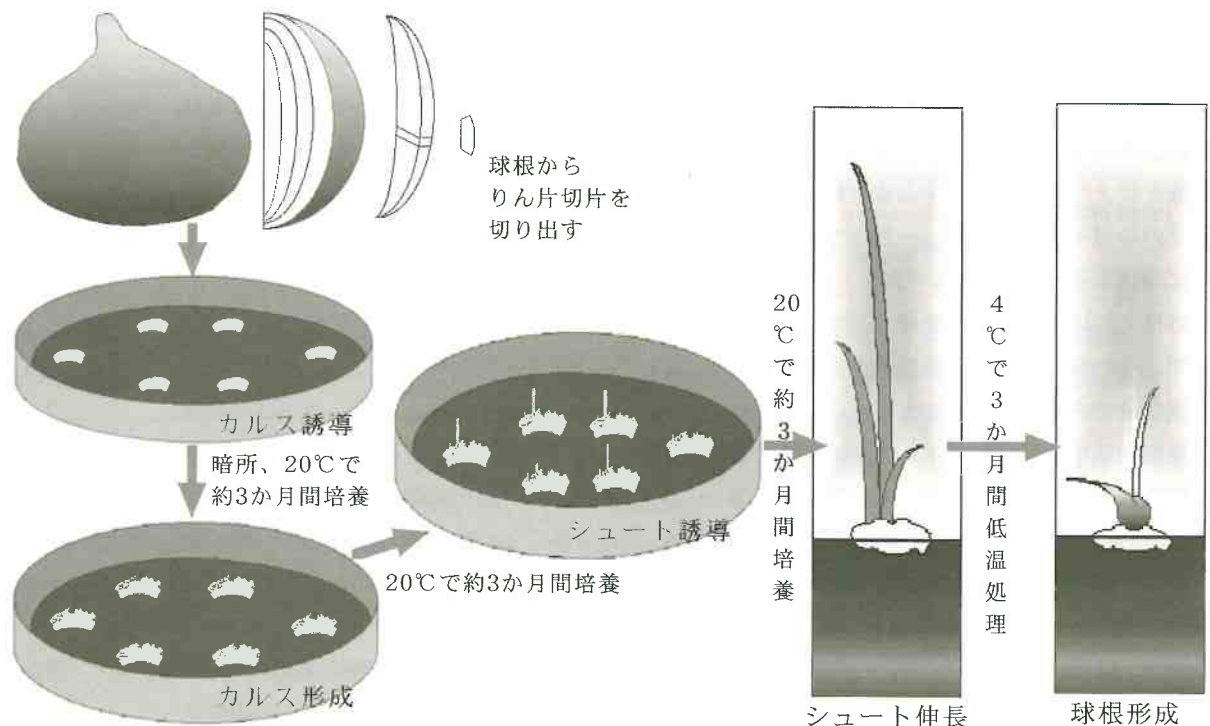


図1 チューリップ球根からの組織培養過程

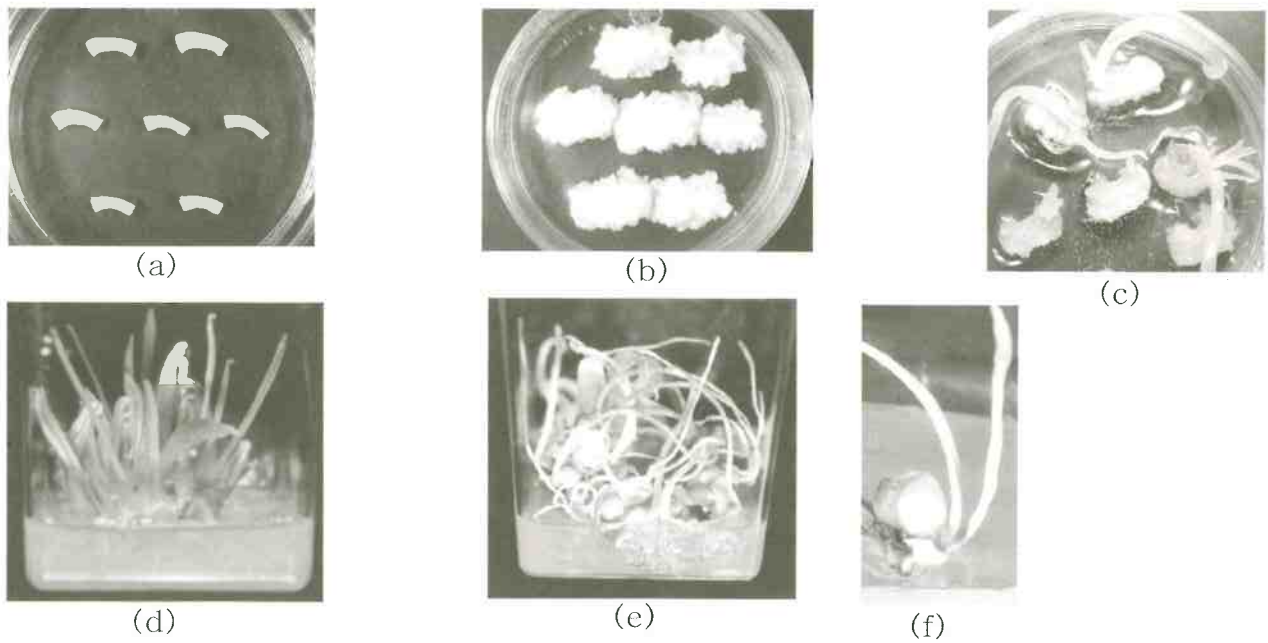


図2 組織培養によるチューリップりん片組織からの球根形成

(a)：培養直後の切片、(b)：培養3か月目のカルス、(c)：培養6か月目のシュート、(d)：培養9か月目のシュート、(e)、(f)：培養1年目の新しく形成された球根。

(2) シュート誘導

カルスが形成された切片をシュート誘導培地に移し、20℃、16時間照明、8時間暗黒条件下で培養する。約3か月間の培養でシュートが形成される。

び20℃、16時間照明、8時間暗黒条件下で培養するとシュートの基部に子球が形成されてくる。さらに培養を続け、シュートが枯れ上がると外皮で包まれた球根ができあがる。形成された球根の直径は7～12mm程度である。

(3) 子球誘導

シュートが3cm程度に伸長したところで、4℃、3ヶ月間の低温処理を行う。その後、再

(4) 球根養成

チューリップの球根は通常は場栽培の場合1年で3～5球に分球するが、培養系を用い

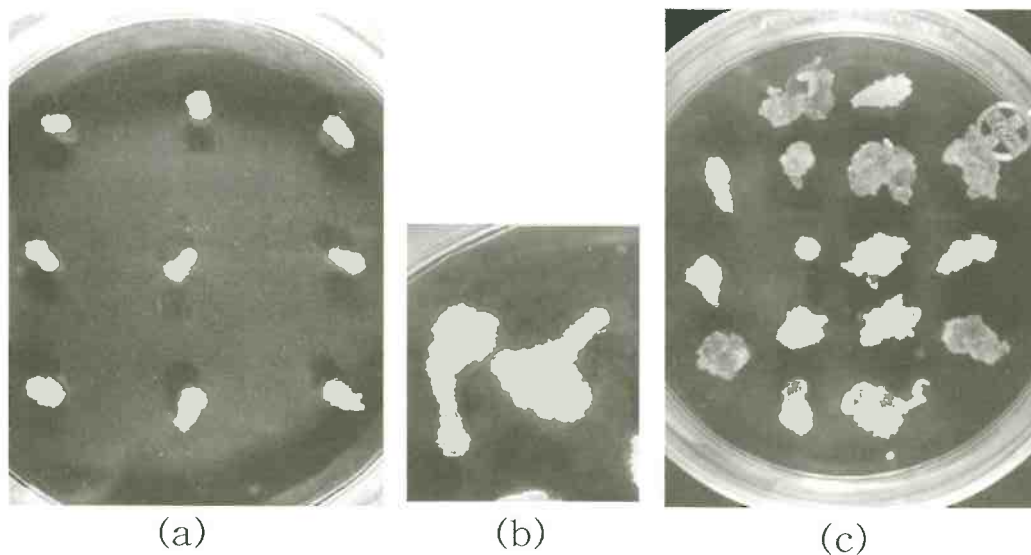


図3 チューリップの根の先端組織からの培養

(a)：培養2か月目、(b)：培養3か月目のカルス、(c)：培養5か月目のシュート誘導。

ることで、球周10cmの球根1球から1年で200球以上の小球根へと増殖することが可能である。形成された子球は鉢上げ後、引き続きほ場で開花まで約3年間の球根養成を行う必要がある。

#### 4. 根の先端組織からの再分化系

組織科学的染色法を用いて細胞活性を測定したところ、根の先端部分が花茎やりん片よりも強い活性を示すという結果が得られ、根についても培養材料として利用できる可能性が示された。根も1球から多くの材料がとれるという利点がある。そこで、「アペルドーン」の根端組織を材料として培養系の検討を行った結果、弱光下で誘導されたカルス様の緑球体からシュートの形成が確認された<sup>6)</sup>。引き続き、培養系の改良を続けた結果、富山県育成品種5品種についても根を材料として、カルスを經由したシュート形成が高率で行えるようになった(図3)。培養に用いる根は球根から無菌的に発根させたもので、長さ0.3cmに切断して材料に用いた場合、先端部から1.5cmまでの部分が培養可能であった。

#### 5. おわりに

こうした培養系は球根増殖期間の短縮に活用でき、今後、チューリップ育種における新品種育成期間の大幅な短縮が期待される。育成期間が短縮されるということは、育種の効率化が図られ、栽培にかかる労力の大幅な削減につながる。さらに、増殖栽培にかかる労力が軽減される分、より多くの交配組み合わせが可能になり、これまでより多様な品種の育成が可能になると考えられる。

また、交配から品種発表までの期間が短縮されれば、今後は、これまでより時代のニーズに即した品種育成が可能になってくるだろ

う。交配から品種ができるまでに20年以上を要するこれまでの育成スケジュールでは、発表時の需要を想定した育種目標を設定して育種を進めることは非常に困難であった。それ故に、育種目標の設定などについては個々の研究者のセンスに頼るところが大きかったわけだが、今後は、マーケットリサーチなどによる動向予測から、発表時の消費者ニーズや市場傾向をより現実的に考慮に入れた品種育成も可能となってくると考えられる。

一方、これまでになかったチューリップの培養再分化系が利用できるようになったことによって、これまで交配や自然変異によってのみ行われてきたチューリップ育種に対して、遺伝子導入などの遺伝子工学的手法を取り入れていける可能性がでてきた。こうした培養系を遺伝子工学的育種へと応用していけば、長い歴史のあるこれまでのチューリップの交配育種で未だ実現されていないような、青いチューリップなどの全く新しい品種の誕生が期待される場所である。今後はこうした培養系をもとに、チューリップの遺伝子組み換え体作成技術の開発に向けて研究を進めていきたいと考えている。

#### 文 献

- 1) 西内義男(1976), 園芸学会誌, 45, 59-64
- 2) Famelaer et al (1996), Plant cell, Tissue and Organ Culture 47, 51-58
- 3) Gude and Dijkema (1997), Acta Horticulturae, 430, 275-280
- 4) Kuijpers et al (1997), Acta Horticulturae, 430, 321-324
- 5) 飯村成美ら(2000), 園学雑, 69, 別2, 432
- 6) 荘司和明(1999), 育種学研究, 1, 別2, 274

## ◀文献情報▶

## 改良型体外培養システムにより作出した胚盤胞の移植による子ブタの生産

Successful piglet production after transfer of blastocysts produced by a modified in vitro system

Kazuhiro Kikuchi<sup>1</sup>, Akira Onishi,<sup>1</sup> Naomi Kashiwazaki<sup>2</sup>, Masaki Iwamoto<sup>3</sup>, Junko Noguchi<sup>1</sup>, Hiroyuki Kaneko<sup>1</sup>, Tomiji Akita<sup>4</sup>, and Takashi Nagai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Agrobiological Sciences, <sup>2</sup>Azabu University, <sup>3</sup>Prime Tech Ltd., <sup>4</sup>National Institute of Livestock and Grassland Science

*Biology of Reproduction*, 66, 1033-1041 (2002)

ブタ胚の体外成熟・受精・培養において、胚盤胞への発生率の低さとその品質の低さが問題となっている。本論文で著者らは、良質なブタ胚盤胞を得るための体外培養方法と得られた胚盤胞の産子への発生能について検討した。ブタ卵丘細胞卵子複合体を5%あるいは20%酸素下で体外成熟後、体外受精を行い、1) Day 0 (体外受精日)～6までグルコース加IVC培地、2) Day 0～2までグルコース加IVC培地、Day 2～6までピルビン酸・乳酸加IVC培地、3) Day 0～2までピルビン酸・乳酸加IVC培地、Day 2～6までグルコース加IVC培地、4) Day 0～6までピルビン酸・乳酸加IVC培地、を用いて5%酸素下で発生培養を行った。Day 6における胚盤胞への発生率には、成熟培養中の酸素分圧の影響は認められなかったが、総細胞数でみた胚盤胞の品質は、20%酸素下より5%酸素下で成熟培養した場合のほうが良好であった。また、Day 0～2までピルビン酸・乳酸加IVC培地、Day 2～6までグルコース加IVC培地で培養した場合、他の試験区に比べて胚盤胞への発生率が高く、しかも細胞数も多かった。次に、ブタ卵管上皮細胞をピルビン酸・乳酸加IVC培地を用いて2日間培養して

得た培養上清(順化培地)が、胚盤胞への発生率に及ぼす影響について検討した。Day 0～2まで順化培地、その後グルコース加IVC培地で4日間培養して得られた胚盤胞の細胞数は、Day 0～2までピルビン酸・乳酸加IVC培地で培養した場合よりも有意に多かった。最後に、5%酸素下で成熟培養後、順化培地を用いた発生培養により得た胚盤胞の移植試験を行った。Day 5の拡張胚盤胞を1頭の受胎ブタに50個移植したところ8頭の子ブタが、Day 6の拡張胚盤胞を2頭の受胎ブタに移植したところ11頭の子ブタが得られた。以上の結果から、良質のブタ胚盤胞が得られる改良型体外培養システムの利用により、効率的な子ブタ生産システムの構築が可能となる。

体外成熟・受精・培養によって得られたブタ胚盤胞の移植による産子を得る試みは数多く行われてきたが、産子が得られたという報告はこれまでほとんどなかった。一方、本論文においては、移植した3頭全てが妊娠、しかも計19頭の子ブタを得ている。また、本体外培養システムにより得られた胚盤胞の細胞数は、生体由来胚盤胞の細胞数に匹敵するものであった。クローンブタや遺伝子組換えブタの研究を進めるうえで、体外で効率的に良質のブタ胚盤胞を得ること、また得られた胚盤胞が効率良く産子となることが不可欠であり、本論文はこれらの研究を押し進めるうえで非常に有用な情報である。

(抄訳：下司雅也, GESHI Masaya, 独立行政法人農業技術研究機構畜産草地研究所)

## ◀文献情報▶

## ラッカーゼ遺伝子を酵母に導入発現させることでフェノール性発酵阻害物質への耐性を向上させる

Development of a *Saccharomyces cerevisiae* strain with enhanced resistance to phenolic fermentation inhibitors in lignocellulose hydrolysates by heterologous expression of laccase.

Simona Larsson, Pierre Cassland, and Leif J. Jonsson

Department of Applied Microbiology, Lund University, Sweden

*Applies and Environmental Microbiology* 67, 1163-1170 (2001)

ラッカーゼは、わが国日本の伝統工芸品である漆の生成で重要な働きをする酸化酵素である。漆液中の主成分であるウルシオールは、漆液に含まれているラッカーゼの作用を受け、重合反応を繰り返すことによって乾燥し、強靱で優美な塗膜を形成する。一般の塗料では水分やシンナーなどの溶剤を蒸発させることによって乾燥するが、漆はそれとは全く機構の異なる、酵素的な塗膜形成による。

酵素学的には、ラッカーゼは銅イオンを含んだ青色の酵素であり、酸素分子を利用することでフェノール化合物をラジカル化させる酵素である。ラジカル化された分子は不安定であることより次々と重合が進み、結果として低分子のフェノール化合物が除去される。

ここ数年、ラッカーゼは環境保全の面から急速に注目されるようになった。ダイオキシン、PCBやビスフェノールAなどその分解除去が困難であると思われていた芳香族系難分解物質をラッカーゼが消失させることが相継いで報告されるようになったのである。

さて、木材を構成するリグノセルロースは再生可能な原料であり、それを加水分解することで発酵可能な糖を得、出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* により環境にやさしい

燃料エタノールを生産することが可能である。しかしセルロースやヘミセルロースの加水分解により糖を得るさい、フェノール化合物など発酵阻害物質が生成し、*S. cerevisiae* によるエタノール発酵を阻害することが問題となる。近年の研究で、固木、軟木の加水分解物を糸状菌 *Trametes versicolor* ラッカーゼで処理することで、酵母によるエタノール発酵が促進することが示された。そこで本報文において Larsson らは、ラッカーゼ遺伝子を *S. cerevisiae* に導入し発現させることで、酵母のフェノール化合物耐性能力（本実験では Coniferyl Aldehyde を使用）を向上させ、発酵を促進させることを試みたものである。

結果、ラッカーゼ遺伝子を導入していない酵母は 1.2mM Coniferyl Aldehyde 存在下で増殖せず、グルコースの消費さらにエタノールの生成が全く見られないのに対して、ラッカーゼ遺伝子を導入発現させた酵母では、同条件において、まず Coniferyl Aldehyde の減少が起り、続いてグルコース消費、菌体の増加、そしてエタノールの生成が観察された。40hr 後には Coniferyl Aldehyde はほぼ完全に消失し、22% 濃度グルコースは 45hr 後には消費され、10% のエタノールを生成させることができた。

本報文ではラッカーゼ遺伝子を酵母に発現させることで、酵母にフェノール化合物など発酵阻害物質に対する耐性、除去作用を与えることを試みたものだが、今後ラッカーゼは環境保全の面でいろいろな応用ができると期待される。

(抄訳：家藤治幸, IEFUJI Haruyuki, 独立行政法人酒類総合研究所)

## ◀文献情報▶

## 抗菌タンパク-オカチン

Ocatin. A Novel Tuber Storage Protein from the Andean Tuber Crop Oca with Antibacterial and Antifungal Activities.

T. Flores, A. Alapa-Gireon, M. Flores-Diaz, and H. E. Flores

*Plant Physiology*, 128, 1291-1302 (2002)

Andes root and tuber cropという言葉をご存知だろうか？ アンデスの高地，高度1000mから4500mの亜熱帯から低温地帯までの旧大陸起源の作物が生育しないような荒地でも耕作可能でアンデスの高地で細々と栽培されている作物のことを指す。マウカ，マカ，ヤーコン，マシヨ，アフィパ，オカなどがそれにあたる。今日はオカについての話題である。

オカ (*Oxalis tuberosa*) は，低温にも強く，他の作物が育たないようなやせた土地でも耕作が可能なところから，FAOの調査によれば，エクアドル，ペルー，ボリビアの高地で1500万人の人が，メキシコ，ニュージーランドでは200万人の人が利用している。栄養価はバレイショに勝るとも劣らず，とりわけ必須アミノ酸含量が高い (Hodge 1959) とされている。貯蔵器官，塊茎には総タンパク質の40—60%，24—67mg/g (乾物) もの，分子量18 kDの貯蔵タンパク (ocatinと命名) が集積している。オカチンは塊茎の生育とともに髄，表皮に集積し3.5ヶ月で最大に達し，以後減衰する。発芽とともに急激に減少することから，発芽の際の栄養補給源として利用されていることがわかる (実験するまでもないでしょうと言われると実も蓋もないが)。

貯蔵タンパクには成長のための栄養貯蔵物質として働くばかりでなく，他の機能も併せ持つことが知られている。例えば，サツマイモの貯蔵タンパク，スポラミンは，抗プロテアーゼ活性を持ち昆虫の摂食阻害効果を示す。バレイショのパタチンにはホスホリパーゼ活性があり，幼虫に対して生育阻害効果がある。じゃ，オカチンにも何らかの生理活性

があるのではなかろうかと抗菌活性を測ってみた。そうすると，萎凋病菌，立ち枯れ病菌などに対して抗菌作用を示した。また，このタンパクのcDNAをクローニングし塩基配列を決定既知のタンパクと比較したところ，植物病原菌の侵入により植物で誘起される抗菌タンパク，BetV1/PR-10/MLPとアミノ酸レベルで約40%の相同性を示し，保存性の高い部位では全く同一であった。オカチンはこのタンパクと同一ファミリーに属し，同一の作用機作により抗菌性を示すのであろうと推定される。

オカチン遺伝子組換え体が十分な病害抵抗性を示すかということが，今後の研究の焦点の一つになるであろうが (抗菌活性がそれほど高くないのが気になるが)。アンデスでは実際に食用に供されているということから安全性の面での心配は余りなさそうであるし，興味をもたれるむきもあるかもしれないと紹介した次第である。

(抄訳：岩井純夫，IWAI Sumio，鹿児島大学農学部)

## ◀文献情報▶

## ASYMMETRIC LEAVES1 遺伝子によって明らかにされた、シロイヌナズナにおける *knox* 遺伝子の冗長性

ASYMMETRIC LEAVES1 reveals *knox* gene redundancy in Arabidopsis

Mary E. Byrne, Joseph Simorowski and Robert A. Martienssen

Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York

*Development* 129, 1957-1965 (2002)

*knox* 遺伝子はトウモロコシの *knotted1* 遺伝子に対するホモロジーによって定義される、ホメオボックスを持つ転写因子であり、メリステムの維持及び分化に大きく関わる。シロイヌナズナにおける *knox* Class1 遺伝子は *STM* (*SHOOT MERISTEMLESS*), *KNAT1*, *KNAT2*, *KNAT6* から構成されている。

*stm* 変異体の強いアレルでは、茎頂分裂組織 (shoot apical meristem; SAM) を欠失し、基部で子葉が融合し、栄養成長のシュートをもたない。また弱いアレルについては胚発生後不完全な分裂組織様組織ができ数枚葉を分化した後、不定芽形成を繰り返し叢生となる。一方 myb ドメイン転写因子をコードするシロイヌナズナの *ASI* (*ASYMMETRIC LEAVES1*) における突然変異は奇形の葉をもつ植物体となる。筆者らは以前の論文で、*as1 stm* 二重変異体が栄養成長期においては、*as1* と同じ表現型を示し、生殖成長の花や花序では、花器官数の減少や側生のシュートの分化など *as1* と異なる異常を示すことを示した。さらに、*stm* 変異体の胚において *ASI* の発現が頂部領域で広がっていることから、栄養成長期の SAM における *STM* に取って代わるファクターが存在することと、生殖成長における *STM* の更なる役割を提唱した。

そこでこの論文において筆者らは *as1 stm*

二重変異体において *STM* に取って代わる遺伝子を探るために、*as1 stm* 二重変異体に EMS 変異処理し、*stm* 様の表現型をスクリーニングした。このスクリーニングで得られた変異体は、シーケンスから *KNAT1* 遺伝子における変異体と同定された (*KNAT1* は以前から知られる *BP* 遺伝子座と一致することが報告されている)。確認のため別の *bp* 変異体アレルを用い *bp as1 stm* 三重変異体を作ったところ、栄養成長において *stm* 様の表現型が得られた。つまり、*ASI* の非存在下の胚発生や栄養成長においては *KNAT1* と *STM* は冗長的であると考えられる。

また筆者らは *as1* と似た表現型を示す *as2* 変異体についても、*knox* 遺伝子との関係を調べるため、*stm* との二重変異体の解析や発現パターン解析を行い、*AS2* も *ASI* と同じヒエラルキーで機能していることを示している。

*as1 bp* と *as2 bp* の両二重変異体はシュートや花について additive な表現型を示す。*KNAT1* は *as1* と *as2* 変異体で異所的に発現しているが、どちらの表現型にも必要ではないことが示唆されている。

一方別の *knox* 遺伝子である *KNAT2* については、*Ds* トランスポゾンが第3イントロンに挿入された *knat2 gene trap* 挿入アレルが見つかり、この植物体からは full length の *KNAT2* 転写物は検出されなかった。また *as1* と *as2* の両変異体における *KNAT2 gene trap reporter* による GUS 発現が SAM から葉の基部にかけて広がっていたが、このアレルは単体あるいは、*as1/as2* との組み合わせでも表現型に影響は見られず、*KNAT2* の発現異常がこれらの表現型には必要ないことを示唆している。以上のことから *KNAT2* は *ASI* によって制御されるが、*as1* 変異体の表現型に対して有意には貢献しないことを示した。

(抄訳：丸尾嘉宏, MARUO Yoshihiro, 東京大学大学院 農学生命科学研究科)



## ◀文献情報▶

海産微細藻類 *Cryptocodinium cohnii* によるド  
コサヘキサエン酸の生産

Production of Docosahexaenoic Acid by  
*Cryptocodinium cohnii* Grown in a pH-  
Auxostat Culture with Acetic Acid as  
Principal Carbon Source

Colin Ratledge, K. Kanagachandran, Alistair  
J. Anderson, David J. Grantham, and Janet  
C. Stephenson

*Lipids*, 36 (11) : 1241-1246 (2001)

ドコサヘキサエン酸 (DHA) は、血中コレステロール低下作用や抗炎症作用など様々な生理作用が知られ、日本では健康食品や乳児用調製粉乳をはじめ各種の食品に添加されている。近年、欧米においても調製粉乳やサプリメントとしての需要が増加している。DHAは、鮭、鰹などを原料として抽出、精製したものが主に利用されているが、微細藻類によるDHAの商業生産も行われている。米のマーテック社は、海産渦鞭毛藻類の *Cryptocodinium cohnii* (*C.cohnii*) を大量培養し、藻体内に蓄積されるDHA含有油をサプリメント (製品名: Neuromins) として、または調製粉乳添加用原料として供給している。*C.cohnii* による生産は、原料資源の影響を受けず安定した供給が望めること、DHA以外の高度不飽和脂肪酸含量が少ないことが利点として上げられる。また、*C.cohnii* は、光合成能がなく従属栄養的に増殖し、比較的容易に大量培養が可能な点も商業生産に適していた点である。

本報では、*C.cohnii* 培養中のpHコントロールを酢酸を用いて行った場合のDHA生産能を検討した。培養の際の第一炭素源はグルコースより酢酸の方が利用しやすいことが予想された。しかし、一般的に、炭素源として有機酸 (アルカリの添加により至適pHに調整) あるいは有機酸塩で微生物を培養した場合、pHの上昇が起こる。*C.cohnii* において

も酢酸ナトリウムを炭素源とした場合、pHが上昇し藻体量が少なかった。そこで、著者らは、pH-オーキソスタットによる培養系を利用した。具体的には、開始時の酢酸ナトリウム量を減らし、炭素源の連続的な供給とpH上昇の抑制を酢酸の添加により行った。ATCCには45株の *C.cohnii* があるが、その中の6株について検討した結果、ATCC 30772が最も成績が良かった。ATCC 30772は、98~144時間の培養で乾燥重量20~30g/Lの藻体を得られ、全脂肪酸の40%がDHAであり、90%以上のDHAは中性脂質に含まれた。36mg/L/hのDHAが生産され、98時間の培養で3g/Lを超えた。グルコースを炭素源とする場合の2倍以上のDHAを蓄積した。

微生物による油脂の生産は、糸状菌の *Mortierella* 属や *Mucor* 属による  $\gamma$ -リノレン酸や同じく *Mortierella* 属によるアラキドン酸の工業化が知られている。今後も、DHAのような機能性を有した油脂の効率よい微生物生産の検討が期待される。*C.cohnii* は (微細) 藻類であることから、生産された油は vegetable oil として認識されている向きもあり (植物油と表現するにはやや抵抗があるが)、ベジタリアンも利用しやすい。ベジタリアンだけでなく、動物からの抽出油はその原料によっては利用できない場合もある。海外では、既に微生物生産油脂の食品としての利用が広がりつつあり、今後さらに、安全性等の情報の蓄積が進めば、やがて日本においても主流になるかもしれない。

(抄訳: 大栗智昭, OOGURI Tomoaki, マルハ株式会社中央研究所)

◀海外便り▶

## 仔稚魚の生残機構と それに与える海洋環境要因の影響の解明

—オーストラリア ニュー・サウス・ウェールズ大学での1年間—

独立行政法人 水産総合研究センター 中央水産研究所  
上 原 伸 二

### 1. はじめに

2000年9月から2001年9月まで、オーストラリアのニュー・サウス・ウェールズ大学(UNSW)に科学技術庁長期在外研究員として滞在する機会を得た。UNSWはニュー・サウス・ウェールズ州の州都シドニーの郊外に位置する9学部75学科からなる総合大学である。市内中心部および空港まではともにバスで20分程度、また近くにはクージー・ビーチやセンテナル・パークなどがあり、便利且つ快適な環境である。学生数は約3万5千人で、なんと留学生はその2割を占めている。シドニー自体が民族のつぼと化していることもあり、確かにキャンパスではアジア系の学生が多くみられ、オーストラリアのマルチカルチャリズムの一端がうかがえる。筆者が滞在を開始したのはちょうどオリンピックの始まる前で、学内の体育館やプールが各国の練習場所になっており、否応無しにも雰囲気は盛り上がっていた。また、大学が面するアンザック・パレードがマラソンのコースに設定されており、沿道でオリンピック観戦が出来るというおまけ付きであった。ただし良いことばかりではなく、オリンピック休暇をとる職員が多くて、学内の事務機能が滞ってしまい、職員登録や電子メールアドレスの発行が遅れてしまったことも確かである。余談ではあるが、オーストラリアといえれば待たせることも待つことも気にならないというお国柄で、オリンピック期間中の交通機関が正常に動くかどうかに関心の的であった。結果的に

UEHARA Shinji

〒780-8010 高知市棧橋通6-1-21

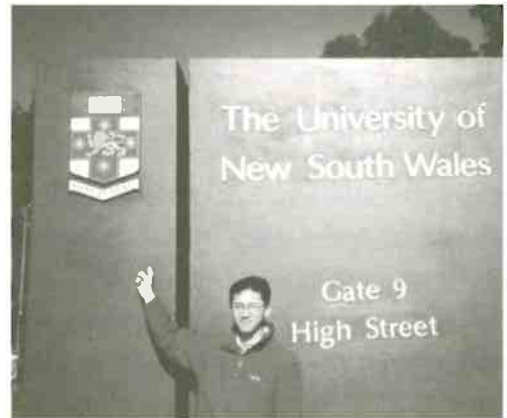


写真1 ニュー・サウス・ウェールズ大学のゲート

はトラブルもなく成功裏に終わり、新聞に“俺達やれば出来るじゃないか!”といった論調の記事が載っていたのが印象に残っている。

筆者が在外研究を行ったのは生命科学部生物学科である。学内の組織再編は頻繁に行われるようで、現在は理学部生物地球環境科学科と呼ばれている。生物学科では生理学、生態学を主とした8分野に19人の教官がおり、複数の教官により研究指導が行われている。教官以外に客員研究員が14人、ポスドク研究員が4人、事務職3人、技官が19人である。受け入れ先研究者であるイアン・サザーズ博士のグループは海産魚類の初期生活史だけでなくプランクトン、二枚貝類など海洋生物の生態を広く取り扱っている。

### 2. 在外研究について

自律的な更新資源である水産資源を持続的に利用するためには、資源変動の主要な要因

である加入変動機構を解明し、それに見合った合理的な資源管理技術を体系化する必要がある。加入量は様々な海洋条件のもとで仔稚魚の生残過程を経て決定されている。在外研究では、成長の速いものほど生き残りが良いという近年の研究成果に基づき、仔稚魚の生残機構を成長や栄養状態を指標として解析することを目的とした。

取り組んだのは2つの課題で、1つはオーストラリア産マイワシ仔魚の成長を耳石輪紋間隔により判定し、オーストラリア東岸に顕著な海洋イベントとの関連を明らかにするというものである。耳石とは内耳に形成される炭酸カルシウム系の物質で、1日に1本輪紋が形成され、輪紋間隔が体成長の良し悪しとともに変化することが知られている。オーストラリア東岸の沿岸海洋環境を特徴付けるものとして不定期な湧昇現象と連続的なシドニー沖合での汚水放出が挙げられる。いずれも栄養塩を供給し海域の生産力を高めていると考えられ、仔魚の成長／生残が生産力と関連しているとの仮説をもとに研究を進めた。解析の結果、湧昇域は他海域よりも日齢—体長関係が良いことが明らかになったのだが、サンプリングを行った日の直前2日間の成長率を逆算すると、むしろ湧昇現象が起こると成長が悪くなるという現象が見られた。海洋イベントの時空間スケールにより生物の反応が異なることが示唆されるもので、興味深い結果である。

取り組んだもう1つの課題は、成長（栄養状態）の指標としての核酸比（RNA：DNA比）、脳細胞の細胞周期（CCA）の特性と日周リズムを明らかにするというものである。核酸比はタンパク質合成能から、CCAは脳細胞におけるDNA合成期にある細胞の割合からそれぞれ栄養状態を判定するものである。これについてはニュー・サウス・ウェールズ州水産研究所ポート・スティーブンス漁業センターおよびオーストラリア国立大学の研究者との共同研究として実施した。オーストラリア産マダイ仔魚を材料とした飼育実験を行ったところ、飢餓の影響が指標に現れる

日数はそれぞれ異なり、核酸比で3日、CCAで2日であることが明らかとなった。いずれも飢餓状態に敏感な指標ではあるが、CCAのほうが核酸比よりも敏感である。ただし、核酸比とCCAの相関は低く、この原因の解明は今後の課題といえよう。また、4時間間隔で行ったサンプリングから、核酸比に日周リズムが現れることが明らかとなった。先の課題を現場応用型とすれば、この課題は指標の特性を明らかにする基盤型といえる課題である。日本においては現場応用型の研究に取り組んでいるのだが、基盤型研究を行うことが出来たのは今後の研究を進展させる上で貴重な機会であった。

### 3. オーストラリアの研究環境

オーストラリアには37の大学がある。このうち、研究に重点を置く8大学がグループ・オブ・エイトという組織を構成している。UNSWの他、シドニー大学、メルボルン大学、オーストラリア国立大学などが含まれている。このグループ・オブ・エイトにより国内大学による研究の70%が成されており、研究費も3分の1を占めている。3分の1という研究費の比率は、行われている研究の割合からすれば決して多くないのだが、平等性の観点から政府の科学研究費を他の大学にも再配分するという政策がとられることにより、研究費の確保がより難しくなり、ひいては国



写真2 オーストラリア名物のバーベキュー。泊まり込みの野外実習ではバーベキューが夕食となる。

の科学レベルの低下を招くという懸念がグループ・オブ・エイトにはあるようである。二次産業があまり発達していないオーストラリアでは、産業界の持つ研究費が少なく、研究費を国に依存する割合が高く、日本以上に科学政策が研究基盤を左右していると思われる。

筆者の専門である水産海洋学に関してはどうであろうか。オーストラリアにおける水産業は日本に比べるべくもなく小規模なものである。豪州連邦科学産業研究所（CSIRO）の所有する調査船はわずか2隻で、最近のニュースではどうやら1隻に減ってしまうらしい。カナダ、ノルウェー、アイスランドといった水産大国での研究経験を持つサザーズ博士と話していても、オーストラリアの水産海洋学に関する研究基盤が弱いことが悩みの種であることがよくわかる。にもかかわらず、筆者が滞在中に感じたことは研究の活性が高いということである。前述したが、教官一人あたりの技官数が一人と研究サポート体制がしっかりしている。図書館では主要雑誌は全てオンライン・ジャーナル登録をしており、研究室からパソコンを通じて必要な論文をダウンロードすることができる。また、ヨーロッパ諸国、アメリカ、カナダ、オーストラリア等の間では研究者の動きは流動的であり、

不定期にひらかれるセミナーを通じて活発に議論が行われていた。UNSWでは3年に1度（！）6ヶ月のサバティカル休暇が認められており、訪問する研究者も多ければ、出ていく機会も多いという状況にある。もともと、豪ドルが弱くて経済的な理由でサバティカルの権利を行使できない場合も多いとのことであるが。

#### 4. おわりに

オーストラリアに行くことになったのはひょんなきっかけであった。カナダ・ダルハウジー大学のクリス・タガット博士に在外研究の打診をしたところ、彼も同時期にシドニーでサバティカル休暇をとるので、一緒にどうかということであった。シドニー滞在中、タガット博士とは別のテーマで共同研究を行う機会を得た。シドニーは人口450万人の大都会とはいえ、近郊には豊富な自然が残っており、おおらかな環境のもと、日本では得ることのできない時間を持つことができたのは大変貴重な体験となった。最後にこのような機会を与えていただいた科学技術庁（当時）、農林水産省の方々に、この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

#### 編集後記

- ◆7月15日はむかしの「盃蘭盆会（うらぼんえ）」に当たりますが、ブレインテクノニュース第92号をお届けします。
- ◆本号の総説では、佐々木卓治氏（独立行政法人農業生物資源研究所）にイネゲノムに関するホットな情報を提供していただきました。いま世界では、人・動植物のすべての遺伝子が資本化指向の様相にありますが、佐々木氏の「主食料は必ず自給する」ということを、世界規模での食料の需要と供給のバランスの維持という観点から忘れてはならない。これがイネのゲノム解析研究を推進する理由であり、「原点である。」という提言は、たいへん重要だと思います。
- ◆本号の表紙では、大谷敏郎氏（独立行政法人食品総合研究所）に、走査型光プローブ原子間力顕微鏡によるナノFISH法、すなわち遺伝子位置のナノレベルにおける可視化を国内情報と共に、裏表紙では、小泉昌広氏（富山県農業技術センター農業試験場）らによるチューリップりん片培養による球根増殖を、地域の先端研究と共に紹介していただいた。
- ◆そのほかの国内情報は、麹菌ゲノムのドラフトシーケンスを田中敏広氏（独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンター）に、オオムギ遺伝子に存在す

る一塩基多型を約4,000個発見を佐藤和広氏（岡山大学資源生物科学研究所）に、世界初の低アレルゲン・高11Sグロブリンダイズ品種「ゆめみのり」の特性を高橋浩司氏（独立行政法人農業技術研究機構作物研究所）に、魚類始原生殖細胞を利用した新たな育種技法の開発を吉崎悟朗氏（東京水産大学資源育成学科）らに、乳成分連続測定装置の開発を伊藤和彦氏（北海道大学大学院農学研究科農産物加工工学研究室）に、さらに海外便りとして上原伸二氏（独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所）にオーストラリアニュー・サウス・ウェールズ大学での「仔稚魚の生残機構とそれに与える海洋環境要因の影響の解明」を、また文献情報では下司雅也氏（独立行政法人農業技術研究機構畜産草地研究所）、家藤治幸氏（独立行政法人酒類総合研究所）、岩井純夫氏（鹿児島大学農学部）、丸尾嘉宏氏（東京大学大学院農学生命科学研究科）、大栗智昭氏（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、改めて御礼申しあげます。

- ◆次号の総説では、バイオガス研究を紹介して頂く予定です。ご期待下さい。

（畠山記）

#### 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92号）

平成14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 虎ノ門マリンビル10F

TEL. 03-3459-6565 FAX. 03-3459-6566

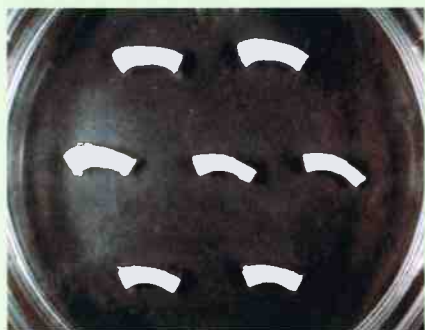
e-mail kikaku@tokyo.brain.go.jp

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

## チューリップのりん片培養による球根増殖

富山県農業技術センター農業試験場 小泉昌広・荘司和明

同 上 野菜花き試験場 飯村成美



培養直後の切片



培養2か月目のカルス



培養1年目の新球根形成



培養6か月目のシュート



培養9か月目のシュート

詳細については地域の先端研究31頁をご覧ください。